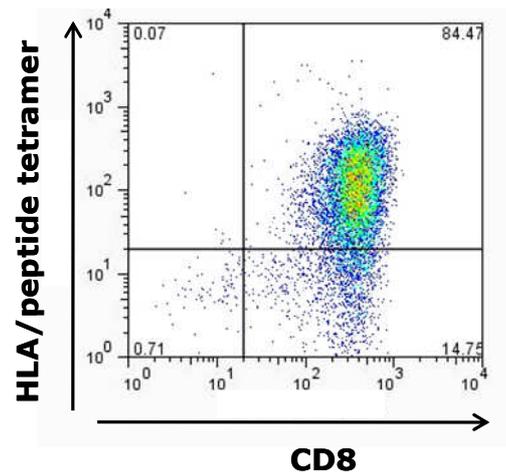
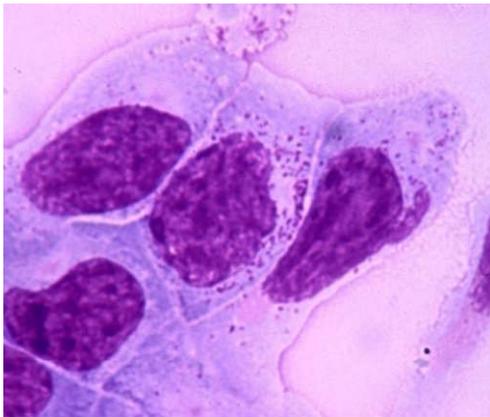


造血器腫瘍免疫療法研究会
Newsletter
Vol.2



平成23年2月

Society of Immunotherapy for Hematological Malignancy Newsletter (Vol. 2)

— 目 次 —

1. 「第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会を終えて」
安川 正貴 (愛媛大学大学院医学系・生体統御内科学分野)・・・3
2. 「第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会印象記」
中島 博子 (大阪大学大学院医学系研究科・癌免疫学(大塚製薬)共同研究講座)・・・4
3. 「第2回造血器腫瘍免疫療法研究会に参加して」
成田 美和子 (新潟大学医学部保健学科・検査技術科学専攻・基礎生体情報学)・・・5
4. 「第2回造血器腫瘍免疫療法研究会に参加して」
渡邊 一絵・田路 真悟 (医学生物学研究所・がん免疫プロジェクト)・・・6
5. 「がん免疫療法」を取りまくギャップ
影山 慎一 (三重大学大学院 遺伝子・免疫細胞治療学)・・・7
6. 「がん免疫療法の地平線」
門脇 則光 (京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学)・・・8
7. 「本格的な“実用化”を視野に入れた研究段階に到達した WT1 ペプチドワクチン研究」
岡 芳弘 (大阪大学大学院医学系研究科・呼吸器・免疫アレルギー内科学)・・・9
8. 「Weekly マルク」
村田 誠 (名古屋大学医学部附属病院・血液内科)・・・11
9. SIHMA ジャーナルクラブ
「細胞表面に合成ナノ粒子を結合させた治療用細胞の作製」その1
尾崎修治 (徳島大学病院・輸血部)・・・12
「表面に合成ナノ粒子を結合した治療用細胞の設計と作製」その2
近藤 恭夫 (金沢大学附属病院 高密度無菌治療部/血液内科)・・・14
「FAP- α を発現させたストローマ細胞による抗腫瘍免疫の抑制」
西田 徹也 (名古屋大学医学部附属病院・血液内科)・・・16
10. 「第3回造血器腫瘍免疫療法研究会のご案内」
第3回総会会長／九州大学病院 先端分子細胞治療科・谷 憲三郎・・・18
11. 編集後記・・・19

第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会を終えて

安川 正貴（愛媛大学大学院医学系・生体統御内科学分野）

第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会は、平成22年8月28日と29日の二日間にわたって、四国松山の道後温泉で開催されました。記録的な猛暑の中、100名近い会員が参加され、応募いただいた演題数は第1回学術集会を上回る34演題で、二日間熱い議論が交わされました。参加された皆様は、大きな学会とは一味違った満足感を味わえたのではないのでしょうか。

基礎腫瘍免疫学の目覚ましい進歩によって、免疫監視機構は、がん細胞と正常細胞を明確に区別できることが明らかとなりました。また、分子標的薬や抗体療法が進歩する中で、悪性腫瘍、とりわけ造血器腫瘍の治療効果を向上するためには、免疫学的視点に立った治療法開発が欠かせないことも再認識されつつあります。このような背景のもと、腫瘍免疫の基礎研究発展ならびに血液疾患に対する免疫療法の開発を目指して、2009年にこの研究会が発足いたしました。

本研究会の特色の一つは、一般演題のみを対象に、討論時間をたっぷり取ってとことん議論しようという点です。今回も、発表が終わると同時に、質問者がマイクの前に列をなすという光景が見られ、この研究会のアクティビティーの高さが感じられました。もう一つの特徴は、基礎研究者と臨床医が同じテーマを様々な視点から議論できることです。基礎免疫学を専門にしている先生方の鋭い視点からのアドバイスは、我々臨床家にとっては刺激的で大変有意義なものです。これからも、基礎と臨床との連携を推進したいと考えています。また、若手研究者の参加が多く、どの演題もハイレベルな内容で大変頼もしく思いました。この領域の今後の発展を大いに期待したいと思います。

本研究会はまだ歩み始めた若い研究会です。会員を増やして規模を大きくしてゆく努力も必要と思いますが、ご参加いただきました柴田昭先生のお言葉どおり、小規模でもいいからこの研究会の趣旨を見失うことなく、仲間が集い熱く討論できる場を提供し、親睦を深めつつ、内容をより濃縮してゆくことが大切であると思っております。

最後になりましたが、ご参加いただきました会員の皆様ならびに開催にあたりご支援いただきました方々に厚くお礼を申し上げます。谷憲三朗会長のもと開催される第3回学術集会で皆様と再会できることを楽しみにしております。◆

第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会印象記

中島 博子（大阪大学大学院医学系研究科・癌免疫学（大塚製薬）共同研究講座）

猛暑の松山で開かれた第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会に参加させて頂きました。上空から瀬戸内の美しい島々を眺めながら、四国に上陸。初めての愛媛・松山の地を踏んだのでした。学会会場は既に、外の暑さに負けない討論の熱気に包まれていました。発表内容は基礎から臨床まで多岐にわたり、非常に興味深いものばかりでした。中でも高知大学・宇高恵子先生の『CTLが腫瘍内で抗腫瘍効果を発揮するには、腫瘍特異的Thが重要な役割を果たす』、というご発表に感銘を受けました。私は杉山治夫教授の下で、WT1ペプチドワクチンの抗腫瘍効果を更に高める研究をしておりますが、今後の研究について大きなヒントを頂きました。また、抗腫瘍免疫・トランスレーショナルリサーチのセッションでは、ペプチドワクチン、樹状細胞ワクチン、遺伝子療法、抗体療法といった免疫療法の現状について最新の情報を得る事ができ、免疫療法のめざましい進歩を実感しました。次回の学術集会ではどんな研究成果が発表されるのかと今から楽しみです。

安川正貴教授の会長講演では先生の研究の歴史を拝聴でき、伝説のTAC-1をはじめたくさんのCTL cloneを次々と誘導される秘密を垣間みた気がしました。安川教授、藤原先生をはじめ、愛媛大学大学院・生体統御内科学のみなさまのご尽力のおかげで、学術集会は非常にスムーズに進行されました。この場を借りてみなさまに深謝申し上げます。

学術集会参加の楽しみはもちろん、最先端の知見に接し知的好奇心を満たす事ですが、その土地の美味しいものを頂き、文化に触れる事も大きな楽しみのひとつです。懇親会では、愛媛ならではの新鮮なお魚をはじめとする美味しいお料理と共に、参加された先生方との会話というごちそうも堪能しました。乾杯のご挨拶を頂いた柴田昭先生のお言葉にもありましたように、大きすぎない規模のこの研究会だからこそ、学会会場でも懇親会会場でも非常に密で活発な討論が展開されたと思います。翌朝は早起きし、臺のたったマドンナ気分で、夏目漱石も浸かったであろう日本三大古湯のひとつの道後温泉も満喫できました。秋山兄弟や正岡子規が、坂の上の雲を目指すように一心に己の目的に向かって突き進んだように、私も研究に邁進して行きたいと改めて決意した学術集会でした。◆

第2回造血器腫瘍免疫療法研究会総会に参加して

成田 美和子（新潟大学医学部保健学科・検査技術科学専攻・基礎生体情報学）

3回目の松山でもまた充実した勉強ができました

造血器腫瘍免疫療法に関する研究会には、前身の血液免疫フォーラムの時代から参加させて頂き勉強して参りました。今回も、新しい技術と斬新な発想で進められた成果をお聞きすることができ、有意義な2日間でした。

多数の臨床には直接関与することが難しい職場ですが、主に樹状細胞とがんペプチドワクチン療法の2つを高橋益廣先生の研究室の同僚と少しずつ研究しています。この研究室での免疫療法との10年の関わりをご報告致します。単球由来または白血病細胞由来樹状細胞を用いたCTLの誘導について検討しつつ、1999年から2001年にかけて、本大学の脳外科と第一外科と共同で腫瘍細胞 lysate、SART-1 あるいは MAGE-3 ペプチドをパルスした単球由来樹状細胞を用いた樹状細胞療法を行いました。PR および SD の症例も経験しましたが、さらに有効な治療方法の工夫と効果判定方法の開発が課題であろうという形で総括・報告し臨床検討は終了致しました。その後、単球由来樹状細胞に対するがん抗原 mRNA (WT1 と SART1) の導入を開始し *in vitro* での確実な CTL 誘導を確認し始めたころ、ヒト plasmacytoid DC の同定も簡便にできるようになり2例の pDC leukemia を経験しました。2006年の血液免疫フォーラムでは pDCL に関して、2007年は T 細胞療法に関する報告をしております。pDCL の1例から細胞株を樹立し、国内外の研究室からもこの細胞株を利用した結果の連絡を少しずつ聞いております。本学会でまたご報告できるよう仕事を進めたいと思っております。WT1 は前述のように mRNA 導入のころから親しんできた抗原です。今年も、昨年に引き続き、大阪大学の臨床研究に参加させて頂いた結果を報告しました。ワクチン投与した2例の方は、中止後1年半を過ぎた現在も投与中同様の frequency で見事に CTL が検出され臨床効果も持続しています。私たちの研究室の「夢」は、がんを治療するワクチンだけではなく、感染症ワクチンのようにがんの発症を防ぐ手段の発展や、検討技術の開発に貢献できるデータを積み上げることです。

新潟県は北陸地方にも甲信越地方にも含まれていることを苦にしない自己主張の少ない県ですが、気の長さは全国一かもしれません。私自身は広島生まれですが、新潟の気質でこれからもこの研究会で勉強させて頂きたいと思っております。本学会の益々の発展を心より祈念致します。◆

第2回 造血器腫瘍免疫療法研究会に参加して

渡邊一絵 田路真悟 (MBL (株) 医学生物学研究所 がん免疫プロジェクト)

2002年以降、弊社は米国 Beckman Coulter (BC) 社より MHC Tetramer 試薬の日本国内における独占的製造・販売権を得てテトラマー試薬を提供しております。この8年間、多くの先生方のご協力や叱咤激励を賜りながら、徐々に製品数を増やす事ができ、今ではBC社にも引けを取らない製品数をそろえるまでに至っております。この場をお借りして、諸先生方に厚く御礼申し上げます。

発売当初と比較しますと、テトラマー試薬に対する要求は大きく変遷しております。誘導した CTL との反応性が確認できれば良いというレベルから、今日では世界的ながん免疫療法の広がりと共に、ロット間差、保証期限の設定等、より診断薬に近い基準での性能保証が求められております。テトラマー試薬の品質検定として、試薬が高純度の均質なテトラマー一体であることは HPLC 解析にて確認しておりますが、このことが必ずしも CTL との反応性を保証していることにはならないため、CTL との反応性をもってテトラマー試薬を検定できる事が喫緊の課題と考えております。弊社では MLPC 法にて誘導した CTL ラインを用いて、製品検定や問合せ時の検定を行っておりますが、ロット間差などの連続性が求められる検定を行うためには、常に一定の反応性を保った CTL ラインの確保が必須であり、現時点では皆様のご期待に必ずしも沿えていない状況です。しかしながら、日本国内でも次々とがん免疫療法の臨床試験が開始され、安定した反応性が保証されたテトラマー試薬の需要が高まっております。弊社では、既に多くの先生方が行われているように、TCR の遺伝子を培養細胞で再構築させてテトラマー試薬の検定細胞に用いる試みを開始しております。また、HVS (Herpesvirus samiri) を利用した CTL の不死化にも着手しようと考えておりましたが、ウィルス産生細胞株が輸出不可能であるとの連絡を ATCC より受けており、残念ながら実現の目処は立っておりません。しかし、年々増えておりますがん免疫療法の臨床試験に微力ながら貢献するためにも、テトラマー試薬の CTL での反応性確認は重要事項と位置付けております。検定に必要な CTL ラインを確保できるよう、今後も試行錯誤を続けていきたいと考えておりますので、御助言等頂けましたら幸いです。

私たちの研究所および製造施設は長野県伊那市にございます。南アルプスと中央アルプスに挟まれ、普段は海のない環境におりますので、松山までの道中は瀬戸内海を間近に見ることができ、心躍る思いでした。そして、本研究会に参加させて頂き、国内外におけるがん免疫分野の最先端で御活躍されている諸先生方のお話を拝聴する事で、がん免疫療法に対する期待の大きさを確認すると共に、弊社がメーカーとしてなすべき事を再確認させて頂く良い機会となりました。今後も諸先生方のご助言を賜りながら、がん免疫療法の発展に尽くすことができれば幸いです。◆

「がん免疫療法」を取りまくギャップ

影山 慎一 (三重大学大学院 遺伝子・免疫細胞治療学)

2010年 はがんワクチン治療などの免疫療法が注目され進歩した1年でした。米国では事実上史上初のがんワクチンが承認され、また CTLA-4 抗体療法の第Ⅲ相比較試験結果が公表されるなど、腫瘍免疫に関心をもつ研究者、医療者にとってはようやく日の当たる舞台に登場という気分になったと思います。しかし、これまでのがんワクチン治療の研究において特に薬剤開発という点から、いくつか感じる「ギャップ」があります。

がん免疫療法にしる、治療手段の有効性の評価なしに、治療法の確立はないわけですが、歴史的に先輩筋に当たる抗がん剤の評価法を真似て、効果の評価がされてきました。いわゆる「腫瘍が縮小すること」をさしあたりの有効性の物差しとして評価しようとしています。これががん免疫療法に当てはめると疑陰性（アンダー・エスティメーション）になってしまいます。事実上初の前立腺がん治療用がんワクチンである「プロベンジ」では、無進行期間が延長せず、全生存期間の延長というギャップがみられました。これが、治療開始と効果発現までの「時間的ギャップ」によるものとして、説明がはっきりつけられます。このことから、現在ではこのギャップを想定して有効性を評価しようと大きく舵がきられています。

「プロベンジ」の第Ⅰ／Ⅱ相試験結果の学会発表は、1998年の ASCO で、細胞調整施設の整備など試験準備に時間がかかっているはずですから、1995年以前の開発意志（米国デンドレオン社）の決定と考えられます。そのころは、腫瘍抗原ペプチド同定からペプチドワクチンが始まったころ「がんワクチン黎明期」であり、2010年承認までの15年までの間に腫瘍免疫の進歩は著しく、樹状細胞の調整法や活性化、投与方法などのプロベンジ開発時と、現在ではあまりに大きく変化しています。医薬品を承認に結びつけるには、いかに時間がかかり、開発開始時と承認時の科学知識のギャップが大きく、もし現在で再開発するのであれば、別のものでもよかったと思うくらいです。それでも、米国では承認後、需要が多く、年間1400億円の売上になると予測され、細胞調整施設を増設予定と聞きます。いかに身体に優しい新しい治療を求める医療者、患者さんが多いことかです。

「身体に優しいがん治療薬」という意味で患者さんからの期待が大きいのですが、抗がん剤治療を専門にする医師の認識には、実に大きなギャップがあります。がん免疫療法と称する高額な自費診療を求める自分の患者さんの姿をみて、「免疫療法」という名前にアレルギーを示す臨床医も多くみられます。免疫療法を科学的に評価して、最終ゴールである医薬品承認を得ることのみが、免疫療法の認知を得る方法と確信するしかないでしょう。◆

がん免疫療法の地平線

門脇 則光 (京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学)

免疫学の進歩により、「副作用なく効くがん免疫療法」が手の届くところまで来ていると思われる。腫瘍抗原、自然免疫、樹状細胞、獲得免疫、トレランス、腫瘍巢の免疫環境など、がん免疫療法で重要な一連の事柄についての研究が進み、これらを適切に組み合わせ、対象患者を適切に選択すれば、有効性を示すことができると思われる。「と思われる」と書くのは、論文や学会発表で仄聞すると非常に効く例があり、それを種にして拡大すれば理論的には効くはずという想定に基づくからで、人間自分で体験しないと実感として湧きにくい。私たちのAMLに対する臨床試験では、公平に見て、「免疫反応があった症例では効いたように見えなくもない」というぐらいの臨床効果で、非常に効いた患者さんを自分たちで目の当たりにした先生は、免疫療法の可能性を一層強く実感しておられると思う。

がんという手ごわい病気をほとんど副作用なく抑えるという夢の治療法が実現する過程の中で、今はどの地点にあるのか。多くの研究者が、「自分が片をつけたい」「自分の目が黒いうちに片をつけたい」と思って、自分が得意とする切り口からアプローチして、群盲（失礼！！ もちろん私も含まれます）象をなでるという感じでがんに立ち向かっている。さらに進んだ先生は、「包括的がん免疫療法」という形で、複数の手段を併用して決着をつけようという前臨床研究を進めている。そして、人類が自分たちの地球を破滅させない限り、がん免疫療法の努力は永遠に続けられるだろう。

翻って自分のことを考えると、私自身はヒトの樹状細胞を軸として基礎研究と臨床研究を続けており、これを背景とした親和性、および実際的な観点から研究のスタンスを形作っている。こうした中、がん免疫療法の進歩という大テーマの中でどのような役割が果たせるだろうか。まず高い確率で手中にしうるのは、免疫学および周辺の学問領域から生物学的に重要な事象を抽出して、それが自分の研究領域に適用できるかを考え、今後の医学、医療の発展に役立つかどうかを視野に入れて、基礎的な成果を出すことである。その成果を、あるいは他の研究者が見いだした重要な発見を、意味のある臨床試験として具体化することは、相当高いハードルがあることを自分の経験からも実感している。この一大事業は、まさに多くの研究者が有機的に協力しなければなし得ない。そのためにこそ、この「造血器腫瘍免疫療法研究会」が存在する。そして、私自身は、「自分の目が黒いうちに」がん免疫療法ががん治療の重要な一翼を担うようになると確信している。日本血液学会でも、今はマイナーな免疫の領域が大きく飛躍することに向かって、またがん免疫療法に重要な貢献をする研究を目指して、「免疫によるがんの制御」という大きなテーマの捨て石となるべく、今後も努力したい。そのためには、今日のこの仕事を着実に成し遂げていかなければならない。真理は現実のただ中にある。◆

本格的な“実用化”を視野に入れた研究段階に到達した WT1 ペプチドワクチン研究

岡 芳弘 (大阪大学大学院医学系研究科・呼吸器・免疫アレルギー内科学)

現在までに多くのがん抗原が同定され、それを標的としたがん免疫療法の研究がなされてきました。我々が研究・開発してきました WT1 ペプチドワクチンもそのひとつです。せっかくの機会ですので、その WT1 ペプチドワクチン研究の現況を踏まえて、“私見”として、今後の進むべき臨床研究を考察したいと思います。

WT1 遺伝子はがん細胞の機能維持に重要な働きを持っているため WT1 タンパクをがん免疫療法の標的にすれば immunological escape が生じにくいと考えられます。また、それは多くの種類の悪性腫瘍に発現しており、したがって、WT1 ペプチドワクチンは多くの悪性腫瘍に対して応用できます。さらに、最近、WT1 が白血病幹細胞に発現していることを示唆する結果が発表され、これらは、WT1 のがん免疫療法の標的としての優越性・有利さを示すものであり、実際、2009 年の Clin.Cancer Res. の Cheever らの論文では、WT1 はもっとも有望ながん抗原としてランクされました。

現在、私の所属する大阪大学をはじめとしていくつかの施設で WT1 ペプチドワクチン治療がなされています。「今までの臨床試験の結果から考えて、WT1 ペプチドワクチンに治療ポテンシャルがあると思いますか？yes か no で答えて下さい」と問われましたら、yes と答えます。それは、がんの自然経過では非常に起こりにくい良好な経過（白血病細胞の減少や固形がんの退縮・病勢安定化など）が、WT1 ペプチドワクチンの投与によりある頻度で誘導されたと考えるのが妥当だからです。Randomized study はなされてなくても、実感・感触として、あるいは、ワクチン投与による免疫応答と臨床反応の相関や、さらには、過去の他の治療の生存曲線との比較などから、まず確かなものであると考えます。海外のものも含めて臨床効果を示す論文も蓄積されつつあります。このように、WT1 ペプチドワクチンは治療ポテンシャルを持つと考えるのが自然である段階に到達しました。臨床試験で投与し有効症例を得ていますのである意味では“実用化”されていますが、さらに臨床的有用性・実用性を確かにするための、本格的な“実用化”を視野に入れた研究に進むべき時期が来たと考えます。

今後、ワクチンの有効性をより明確に証明するための randomized study がなされるのが望ましいでしょう。しかしながら、それと同じくらい実用性をさらに高めるのに重要なことは、どういう疾患のどういう時期に？、あるいは、ワクチン単独か何かと併用か？、などに関して従来通り探索的・パイロット的に臨床研究を進めていくことだと思います。そしてまたそれは、研究者にとってエキサイティングなことです。進行期の場合は、他の薬剤との併用が重要なポイントとなると思われます。ワクチン単独が適しているのは、当然のことながら、MRD の時期での投与です。MRD の時期には、手術後、化学療法後、放射線療法後だ

けでなく、造血幹細胞移植（HSCT）後も含まれます。HSCT 後になお再発ハイリスクの患者にワクチンを加えて再発率を下げるができるかは重要なテーマであると考えます。さらに論を進めます。前述のように、ワクチン投与によりある割合で「臨床反応ありと思われる症例」を得られたことは、がん免疫の研究を進めていく上でふたつの意味で非常に重要であると考えます。第1は、当然のことながら、WT1 ペプチドワクチンは臨床効果を誘導できるという感触・実感をつかめたことで、ふたつ目は、ワクチン投与から臨床反応に到る過程を患者検体を用いて免疫学的・分子生物学的に研究できることです。臨床反応ありとなしの症例を比較することにより、さらに深いがん免疫メカニズムの解析ができるかもしれません。

このように、さらに進んだ臨床試験を構築し WT1 ペプチドワクチンの実用性を検証するとともに、得られた臨床検体の解析からがん免疫機構のさらなる解明につなげたいと思います。臨床や基礎の種々の分野で活躍されている会員の皆様方と有用な共同研究を活発にさせていただき、ともに発展していきたいと熱望します。どうぞよろしく御願い致します。◆

Weekly マルク

村田 誠 (名古屋大学医学部附属病院・血液内科)

本研究会学術集會に初めて参加させて頂きました。若手研究者からは、時に素朴な質問、時に鋭い質問が投げかけられ、一方指導者からは、発表者のその後の研究の発展に役立つような建設的なコメントが多く寄せられ、大変勉強になりました。また基礎からも臨床からも互いに惜しみなく情報提供がなされ、ともすると懐疑的に見られる免疫療法を他の分野の先生に医学・医療の両面から受容して頂けるよう、皆さんで邁進されているのが強く伝わってきました。

さて、学生時代、友人や部活の先輩後輩らと毎日日が暮れてそして日が明けるまで遊びほうけていた私が、免疫学という神聖なるものに初めて触れたのは、講義でもなく実習でもなく、実臨床に入ってからでした。私は研修医時代を名古屋第一赤十字病院で過ごし、縁あってそのまま同病院血液内科に進みました。初めて担当させて頂いた骨髄移植患者さんは急性白血病第一再発期(末梢血中芽球 99%)で、何回目かの再寛解導入化学療法を行い、その白血球減少期からそのまま強力な移植前治療を施し、同胞ドナーからの移植を行いました。移植後一旦は寛解に入ったものの、1ヶ月を過ぎた頃再発しました。移植初心者の私はただ呆然とするばかりでしたが、当時部長の小寺良尚先生(現在、愛知医科大学)は「まあ、村田君、免疫抑制剤を早めに、しかしゆっくりと減らしていきなさい」と、いつもと変わらぬ落ち着いた口調で指導をして下さいました。それからの2ヶ月間、抗がん剤を一切投与することなく、免疫抑制剤を早めに減量していき、そして小寺先生の言葉をその場で十分理解できなかった私は毎週骨髄穿刺を行い、すると骨髄中50%を超えていた白血病芽球はやがて週を追う毎に減少し、途中重篤な合併症なく、ついに5%未満(寛解)に到達するのを目の当たりにすることが出来ました。誤解のないよう申し上げますと、このweekly マルクは、この患者さんが入院中(約8ヶ月間)、土日も祭日も、途中迎えたお正月も5月の連休も含めて、とにかく一日たりとも欠かすことなく回診し、その結果築かれた患者主治医間の強い信頼関係を背景とした患者さんの同意に基づいたものであり、決して主治医が脅迫的に行ったものではありません。そして、この強烈なアロ免疫体験が今日まで忘れられずにいます。

先に述べましたが、癌に対する免疫療法は時に懐疑的に見られます。そんな見方を吹っ飛ばすような症例ではありますが、私はこう理解しています。大量の抗がん剤と全身放射線照射で構成された超強力な移植前治療で腫瘍量を一旦減らしたことが成功に欠かせなかった、そしてそれでも残存した即ち多剤耐性かつ放射線耐性を獲得した腫瘍に対して最後に免疫療法が効果を発揮したと。つまり、それぞれの治療法が得意とする局面は異なり、従って登場させる局面を間違えると有効なはずの治療法も無効に終わる。このことは、新規治療法を開発することと同等に大事なことだと思います。

最後に、この第二回学術集會を企画、運営、統括された安川正貴先生、また事前の準備から当日のお世話まで細かな心配りをされた藤原弘先生を始め、愛媛大学大学院生体統御内科学の先生に厚く御礼申し上げます。有り難うございました。◆

「細胞表面に合成ナノ粒子を結合させた治療用細胞の作製」その 1

尾崎修治 (徳島大学病院・輸血部)

出典：Nature Medicine 16(9):1035-1041, 2010

著者：Matthias T Stephan, et al

タイトル：Therapeutic cell engineering with surface-conjugated synthetic nanoparticles

【背景】

造血幹細胞移植や膵島移植，腫瘍特異的 T 細胞療法，iPS 細胞を用いた再生医療などの細胞療法は，難治性疾患を克服する唯一の治療法として期待されている。しかしながら，これらの細胞療法の大きな欠点の 1 つは，移植した細胞の生存能力や機能が急速に低下することであり，移植細胞を生体内で維持するために何らかの薬剤の投与を必要とすることも多い。本論文では，T 細胞や造血幹細胞などの治療用細胞の表面に薬剤を詰め込んだナノ粒子を結合させることで，細胞療法の効果が増強することを示した。

【方法・直径】

100-300nm のリポソームなどの合成ナノ粒子にマレイミド基を有する脂質を発現させ，細胞表面の遊離チオール基との間で共有結合させた。合成ナノ粒子を結合させた細胞の機能および生体内分布を検討した。メラノーマの全身転移マウスモデルを用い，腫瘍特異的 Pmel-1 CD8+ T 細胞に IL-15 と IL-21 を含むナノ粒子を結合させ，その抗腫瘍効果を評価した。造血幹細胞移植マウスモデルでは，造血幹細胞に glycogen synthase kinase-3 β (GSK-3 β) 阻害剤である TWS119 (造血幹細胞の再増殖の *in vivo* 調節因子) を含むナノ粒子を結合させ，造血回復能について評価した。

【結果】

ナノ粒子は細胞内にインターナライズされることなく，治療用細胞の表面に安定して結合していた。細胞あたり 100 個までのナノ粒子の結合自体は T 細胞を活性化することなく，T 細胞の細胞障害活性やサイトカイン分泌，免疫シナプス形成，*in vivo* における腫瘍への遊走能などの機能に及ぼす影響もなかった。メラノーマの養子 T 細胞療法のマウスモデルでは，Pmel-1 細胞療法単独や IL-15 と IL-21 の全身投与を行った群の抗腫瘍効果は乏しかったが，この方法で同量の IL-15 と IL-21 を Pmel-1 細胞へ結合させ，擬似的自己分泌刺激を持続的に与えた群では，抗腫瘍効果が著しく増強され，すべてのマウスが治癒に至った。また，マ

ウス造血幹細胞移植モデルでは、低用量の TWS119 の全身投与は無効であったが、同量の TWS119 を造血幹細胞に結合させることにより、移植した造血幹細胞の *in vivo* での増殖速度が有意に増加した。

【考 察】

この手法は治療に用いる細胞 (cytoreagent) の効果を簡便に高めることができ、その他の細胞療法にも応用が可能である。また、治療用細胞は能動的に標的細胞に集積することから、ナノ粒子に詰め込まれた薬剤は全身性の副作用を最小限にしながら局所に運搬される。従って、この手法は薬剤送達のためのシステムとしても有望である。

【コメント】

細胞免疫療法の観点からは、腫瘍特異的 T 細胞療法への応用が期待できるもので、大変興味深い論文です。今後は移植細胞の増幅や長期的な維持につながるか否かの検討が待たれます。◆

「表面に合成ナノ粒子を結合した治療用細胞の設計と作製」その2

近藤 恭夫 (金沢大学附属病院 高密度無菌治療部/血液内科)

出典: Nature Medicine 16(9):1035-1041, 2010

著者: Matthias T Stephan, et al.

タイトル: Therapeutic cell engineering with surface-conjugated synthetic nanoparticles.

【目的】

養子免疫療法で解決すべき問題点の1つは、CTLの活性や機能が輸注後に低下することである。アジュバントを持続的に作用させて細胞の機能を維持する試みの1つとして微粒子キャリアの応用が注目されている。本論文では、アジュバントの担持能、放出制御に優れた合成ナノ粒子(NPs: nanoparticles)をCTLの表面に結合させることで、輸注CTLの抗腫瘍効果を高めるとともに全身的に投与されるアジュバントの副作用を軽減する新たな細胞療法の開発を報告している。

【方法・結果】

著者らは、アジュバントを内包させるNPsとして直径100-300nmの多重膜構造を呈した多重層リポソーム(multi NPs)を開発した。脂質二重膜に組み込まれたリン脂質ポリマー内のマレイミド基と細胞表面の還元型チオール基との共有結合によってmulti NPsがT細胞表面に結合する。T細胞と結合後、multi NPsの遊離マレイミド基はチオール終端ポリエチレングリコールで中和した。multi NPsはエマルジョン溶媒留去法で調整した。①FCM解析結果では、140個程度のmulti NPsが細胞表面に安定に結合し、チオール基占有率は17.2%であった。②共焦点顕微鏡、FCMを用いた内在化解析では、短期培養でmulti NPsはT細胞内に取り込まれず細胞表面に保持された。③Alexa-594標識OVAを用いた蛍光分子イメージングでNPsのタンパク担持能、放出挙動を解析すると、従来型のリポソームやポリ乳酸・グリコールからなるNPsでは約1週間でOVAが完全に放出されたのに対し、multi NPsは4週間でOVA放出が50%と放出挙動に優れていた。④アジュバントを内包していない‘空’のmulti NPsを結合したT細胞ではCD3/CD28刺激による細胞増殖活性やCD69、4-1BBの発現誘導に影響が認められず、multi NPs結合によるT細胞活性化への影響は少なかった。⑤OVAをパルスした樹状細胞(DC)と共培養した‘空’のmulti NPsを結合したOVA特異的OT-1 T細胞は、細胞増殖活性、IL-2、IFN γ /TNF α 産生能に変化が認められなかった。また、OVAをパルスしたマウス胸腺種細胞株EL4に対する細胞傷害活性にも変化はなく、multi NPs結合は免疫シナプス形成に影響を与えなかった。⑥トランスウェル遊走チャンバーを用

いた‘空’の multi NPs 結合による T 細胞遊走能への影響と NPs 保持能の検討の結果、MCP-3 を認識してメンブレン上の TNF α 刺激 MS1 上皮細胞層を遊走した OT-1 T 細胞表面には、遊走前比 83%の NPs の結合が確認された。⑦ ‘空’の multi NPs と 24 時間培養した DC に CD86、CD40 発現、IL-12 産生が見られなかったことから、遊離 multi NPs による自然免疫への影響は少なかった。⑧C57BL/6 マウスを用いた光学分子イメージング解析の結果、‘空’の multi NPs を結合した F-luc 標識 OT-1 T 細胞の OVA をパルスした extG-luc 標識 EL4 の移植腫瘍内への浸潤が確認された。CD62L+CCR7+B 細胞、セントラルメモリー T 細胞(Tcm)の高内皮細静脈を介したリンパ節へのホーミングにも multi NPs の結合は影響を与えなかった。⑨extG-luc 標識 B16F10 マウスメラノーマ細胞株による実験的肺、骨髄転移モデルマウスを作成し、CBR-luc 標識メラノーマ特異的 Pmel-1 CD8+ T 細胞を輸注するがん養子免疫療法のモデルを用いて、アジュバントを内包した multi NPs を用いた in vivo 細胞傷害活性を検討した。アジュバントとして、IL-15 と IL-15R α を結合させた IL-15 スーパーアゴニストと IL-21 を用いた。光学分子イメージング解析の結果、アジュバント内包 multi NPs を結合した Pmel-1 T 細胞は輸注後 6 日をピークに増殖し、増殖効率は ‘空’の NP を結合した Pmel-1 T 細胞に比べて 81 倍で、同量のアジュバントを全身性に静脈内投与した場合、アジュバント内包 multi NPs と Pme-1 T 細胞を別々に輸注した場合に比べても有意に高かった。退縮期後の Pme-1 T 細胞数も ‘空’の NPs を結合させた場合に比べて輸注 16 日に 14.8 倍、30 日に 4.7 倍であり、アジュバント内包 multi NPs の結合によって Pmel-1 T 細胞は長期間維持された。また、所属リンパ節や脾臓に Tcm のホーミングが確認された。アジュバント内包 multi NPs を結合した Pme-1 T 細胞を輸注されたマウスは全例生存したのに対し、‘空’の multi NPs を結合した Pmel-1 T 細胞を輸注されたマウスは生存期間が延長したもの全例が死亡した。⑩アジュバント内包 multi NPs を結合した Pmel-1 T 細胞の増殖は腫瘍をチャレンジしなくても認められたことから、アジュバント効果に TCR 刺激を必要としなかった。また、B16F10-OVA 移植マウスに、アジュバント内包 multi NPs を結合した OT-1 T 細胞と NPs を結合していない Pmel-1 T 細胞を同時に輸注すると Pmel-1 T 細胞に有意な増殖が認められなかったことから、アジュバントの作用は NPs を結合していない腫瘍内浸潤 T 細胞への影響は少なく、擬似的オートクラインによって NPs 結合 CTL に作用していると考えられた。

【考察・視点】

過去に報告のある NPs と異なり、multi NPs が長期間細胞表面に保持されるメカニズムは今後の検討課題である。一方で著者らは、マウス造血幹細胞移植モデルを用いて glycogen synthase kinase 3 β 阻害剤を内包した multi NPs を結合した lin-Sca-1+c-Kit+造血幹細胞移植で生着が促進されることも示している。遺伝子工学的手法やケミカルバイオロジー的手法が不要で様々な分野への臨床応用が容易な multi NPs は、細胞療法への新たな展開を開くものと期待される。◆

「FAP- α を発現させたストローマ細胞による抗腫瘍免疫の抑制」

西田徹也（名古屋大学医学部附属病院・血液内科）

出典： Science. 2010 Nov 5;330(6005):827-30.

著者： Kraman M, et al.

タイトル： Suppression of Antitumor Immunity by Stromal Cells Expressing Fibroblast Activation Protein- α .

【背景】

近年の腫瘍免疫学の進歩により CD8 陽性 T 細胞の反応を誘導する腫瘍関連抗原が発見され、それらの抗原に対するワクチン療法が行われている。しかしながら、ワクチン療法により全身の免疫反応が惹起され、腫瘍細胞に抗原ならびに MHC class I の発現が維持されているにも関わらず、腫瘍増殖抑制効果は十分には得られにくい。このことから、腫瘍微小環境内に腫瘍増殖への免疫制御を抑制している要因があると考えられ、著者らは、腫瘍間質の繊維芽細胞などに選択的に発現する fibroblast activation protein- α (FAP) の抗腫瘍効果への影響について検討した。

【方法・結果】

マウス FAP 遺伝子を導入したトランスジェニックマウス (Non-Tg) を作成した。さらに、導入する遺伝子にジフテリア毒素受容体(DTR)を挿入することで、ジフテリア毒素 (DTX) 投与により FAP 陽性間質細胞を欠失させることができるようにした (DTR-Tg)。それらのトランスジェニックマウスに、ovalbumin を発現する LL2 Lewis 肺がん細胞 (LL2/OVA) を接種することで、FAP 陽性間質細胞の腫瘍に対する免疫抑制効果を検討した。腫瘍形成が確認できる LL2/OVA 接種 12 日後に DTX を投与したところ、Non-Tg では腫瘍は増大したが、DTR-Tg では腫瘍増大は有意に抑制された。腫瘍増殖抑制効果が現れる DTX 投与 48 時間後、DTR-Tg における腫瘍内の生細胞数は、Non-Tg に比べて約 60%減少していたが、その減少は腫瘍細胞と間質細胞の両者に同様に見られた。Non-Tg と DTR-Tg の腫瘍および脾臓における OVA 特異的 CD8 陽性細胞の割合に有意差はなく、腫瘍内 OVA 特異的 CD8 陽性細胞での CD69 と granzyme B の発現や IFN- γ 産生にも差は見られなかった。FAP 陽性細胞を欠失させた Rag2 欠損マウスにおいては、LL2/OVA 腫瘍増殖抑制効果が見られなかったことから、この反応は何らかの免疫学的機序によると考えられ、TNF- α と IFN- γ による血栓形成促進効果から生じる虚血および低酸素性壊死の関与を検討した。LL2/OVA 腫瘍形成 DTR-Tg に対して抗 TNF- α /IFN- γ 抗体を投与し、両サイトカイン活性を阻害した

ところ、腫瘍の低酸素性壊死は抑制され、Non-Tgと同様に腫瘍は増大した。Non-TgとDTR-Tgの腫瘍におけるTNF- α /IFN- γ のmRNA発現には差が見られなかったことから、FAP陽性細胞が低酸素性壊死を惹起するサイトカインへの反応を低下させると考えられた。

【考察】

FAP陽性間質細胞は、OVA特異的CD8陽性細胞に影響を及ぼすことなく、TNF- α とIFN- γ を介する機序による腫瘍の低酸素性壊死を抑制することで、腫瘍微小環境内で抗腫瘍免疫に対する抑制成分となっている。FAP陽性細胞によるTNF- α とIFN- γ への反応抑制作用を阻害することで、腫瘍に対するより有効な免疫療法の開発に繋がる可能性がある。◆

∞∞ 第3回造血器腫瘍免疫療法研究会のご案内 ∞∞

第3回造血器腫瘍免疫療法研究会を下記の日程で開催いたします。詳細につきましては改めてご案内いたしますが、是非とも皆様のカレンダーに御予定を頂き、活発なご参加を宜しくお願い致します。

日時：平成23年8月20日（土）21日（日）

場所：別府温泉 ホテル白菊 <http://www.shiragiku.co.jp/>

大分県別府市上田の湯町16-36

TEL/0977-21-2111 FAX/0977-21-5633

会長：九州大学病院 先端分子細胞治療科 谷 憲三朗

（ご挨拶）

第3回造血器腫瘍免疫療法研究会のお世話をさせていただく九州大学の谷です。第2回本研究会は、安川先生はじめ愛媛大学の皆様のご尽力で、100名を超える参加者のもと、大変盛会裡に終了することができました。本年は小生共がこの重責を負わせて頂くことになり、身が引き締まる思いです。

本研究会は免疫療法の中でも極めて成功を収めている造血器腫瘍を主な対象とした免疫療法研究会です。現在、同種免疫を巧みに利用した造血細胞移植療法は高い成功を治めてはいますが、ご承知の様にその開発過程は極めて険しいものでした。我々血液腫瘍学・血液腫瘍臨床を志す仲間にとって、先人が築かれた見事な「免疫細胞療法」をお手本とし、さらに進化した免疫療法の開発を行い、現在造血細胞移植療法の適応にならない患者様を治療していくことは重要な任であると考えています。そして我々が開発した新たな免疫療法は必ずや、現在治療法のない固形腫瘍に苦しんでおられる患者様に対しても有用な治療法に成るものと確信しております。

さて別府温泉はWikipediaによりますと、大分県別府市（旧国豊後国速見郡）中心部の温泉街の名称で、源泉数、湧出量ともに日本一を誇る温泉都市別府の市内各地に数百ある温泉の総称です。また別府八湯（べっふはっとう）とも呼ばれる観光地です。8世紀の初めに編まれた「伊予国風土記」に「神代の昔、少彦名命（すくなひこなのみこと）と大国主命（おおくにぬしのみこと）の二柱が伊予の国を訪れた時、少彦名命が病を得て卒倒し、嘆き悲しんだ大国主命が、豊後水道の海底に長いパイプを敷いて、別府の温泉を道後へ運び、少彦名命を湯浴みさせ、病気が回復した」と記されています。また活発なマグマ活動の一環は「別府地獄めぐり」によって十分にご堪能いただけるものと思います。

第2回研究会の開催が道後温泉であり、同所と歴史的にも深い関連のある別府温泉において、第3回造血器腫瘍免疫療法研究会を開催させていただきますことは大変光栄なことであ

ります。是非とも、別府温泉の地熱を感じていただきながら、熱い討論を交わしていくことができれば幸いです。また当地は「山海の美味」も豊富にありますので、日々のご研究、診療に疲れたお身体を癒していただければ幸いです。

会員の皆様のご参加を心よりお待ちしております。

(文責 谷 憲三朗)



編集後記

造血器腫瘍免疫療法研究会の Newsletter 第2号をお届けいたします。平成22年8月28日と29日に四国松山の道後温泉で開催された第2回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会は安川正貴会長の下、愛媛大学の先生方の多大なるご尽力で第1回に続き大成功に終わりました。免疫療法への期待と関心が基礎研究者からも臨床研究者からも高まっていることがひしひしと感じられたことと思います。その熱い思いがまだ残る10月に参加された会員の方々からご寄稿をいただきました。学会印象記、初のがん免疫療法薬の承認をめぐる話題、研究内容の紹介など、そして第2号からの初の試みである SIHMA ジャーナルクラブを掲載いたしております。ジャーナルクラブは運営委員会と総会で提案・承認されたもので、会員が強く興味をお持ちになった最新の論文をご自身の視点から解説いただくものです。編集担当の不手際でお二人から同じ論文を紹介いただくことになったことをお詫びいたしますが、視点や考察に先生方の個性が光り輝いているのが伝わって参ります。今年は別府市にて九州大学・谷憲三朗先生を会長として第3回学術集会在開催されます。道後温泉とはまた一味違った別府温泉にて、血液疾患の免疫療法をめぐる熱い議論ができることを楽しみにしております。

編集担当 藤田保健衛生大学医学部血液内科・赤塚美樹

編集・発行 愛媛大学大学院 生体統御内科学 内 造血器腫瘍免疫療法研究会

〒791-0295 愛媛県東温市志津川

電話 089-960-5296

FAX 089-960-5299

E-mail menryo@m.ehime-u.ac.jp
