

樹状細胞を用いた抗腫瘍免疫療法：現状と将来

岡野， 慎士
九州大学大学院医学研究院病理病態学

米満， 吉和
千葉大学大学院医学研究院遺伝子治療学

居石， 克夫
九州大学大学院医学研究院病理病態学

<https://doi.org/10.15017/6368>

出版情報：福岡醫學雜誌. 98 (7), pp.277-286, 2007-07-25. 福岡医学会
バージョン：
権利関係：

総 説

樹状細胞を用いた抗腫瘍免疫療法

—現状と将来—

¹⁾九州大学大学院医学研究院 病理病態学

²⁾千葉大学大学院医学研究院 遺伝子治療学

岡野慎士¹⁾, 米満吉和²⁾, 居石克夫¹⁾

はじめに

免疫学の起源は、1796年 Edward Jenner が天然痘に対する牛痘を用いたワクチン療法を開発したことに始まる¹⁾。その後、19世紀後半に Robert Koch が微生物により感染症が惹起されることを証明し、1880年代に Louis Pasteur が弱毒菌株を用いて狂犬病ワクチンを開発、今日のジフテリア、百日咳などの感染症に対する能動免疫療法（標的抗原に対する自己の免疫応答を惹起する免疫療法）の基盤となった²⁾。また、1888年、Roux らによるジフテリアトキシンの発見、1889-1890年、北里柴三郎による破傷風菌の分離培養の成功、破傷風菌産生外毒素の病原性及び抗毒素血清の発見から、1890年北里柴三郎と Emil von Behring らによって、破傷風及びジフテリアトキシンの動物血清を用いた免疫療法の開発が行われ、受動免疫療法（生体外で作成された免疫細胞や抗体などを生体に投与する免疫療法）の基盤が確立された²⁾。この歴史的背景からも理解できるように、免疫学及び免疫療法の基盤として発達した学問であるといえる。

生体内の免疫系は、自己免疫寛容機序により自己抗原に対しては免疫応答を惹起せず、非自己である外来抗原（病原体など）を識別し、個体から排除しようとするシステムである。腫瘍免疫においてもこの原則は同様で、ヒト乳頭腫や子宮頸癌を発生させるヒトパピローマウイルス³⁾や Epstein-Barr virus に関連するリンパ腫や癌⁴⁾に見られるウイルス抗原や BCR-ABL⁵⁾などの融合蛋白質や変異蛋白は外来抗原と見なされ、免疫監視機構の標的となる。しかし、腫瘍抗原は、往々にして自己由来の抗原であることが多く、自己免疫寛容機構が免疫応答誘導を困難としている。その上、腫瘍は様々な免疫監視回避機構を能動的に作動させている。よって、これまで開発されてきた種々の免疫療法は、手術療法、放射線療法、化学療法に次ぐ治療法として期待されているものの、未だ標準的治療法となっていないのが現状である。

本稿では、抗腫瘍免疫を理解する上で必要な基礎免疫学的事項を簡単に解説し、我々が行っている樹状細胞 (dendritic cell: DC) 免疫療法についての研究とその歴史的な位置づけを紹介するとともに、腫瘍免疫療法の将来の可能性と臨床における第4の標準的治療として確立するための方向性について述べてみたい。

1. 抗腫瘍免疫療法を理解するために必要な基礎免疫学的事項

i) 免疫システムにおける免疫担当細胞及びそのエフェクター機構

免疫システムは、①単球、マクロファージ、Natural Killer (NK) 細胞、Natural Killer-T (NKT) 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞、顆粒球、② DC、③ B 細胞及びその最終分化細胞である形質細胞(抗体の産生源)と $\alpha\beta$ T 細胞、という免疫担当細胞の働きで構成されている。免疫応答は、初期に作動する自然免疫という非特異

Shinji OKANO¹⁾, Yoshikazu YONEMITSU²⁾ and Katsuo SUEISHI¹⁾

¹⁾ Division of Pathophysiological and Experimental Pathology, Department of Pathology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University, Maidashi 3-1-1, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582, Japan

²⁾ Department of Gene Therapy, Chiba University, Graduate School of Medicine, 1-8-1 Inohana, Chuo-ku, Chiba 260-8670, Japan.

Cancer Immunotherapy using Dendritic Cells: Current Status and Perspective

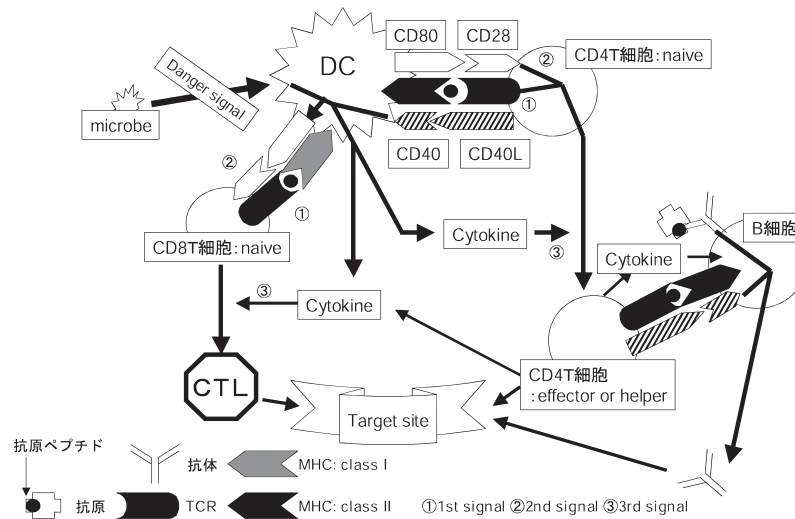


図1 樹状細胞と適応免疫応答

的反応（主に①の細胞群の働き）の後に、後期に作動する適応免疫（主に③の細胞群の働き）という特異的反応によって、外来抗原を生体内から排除すべく働く。この自然免疫から適応免疫への橋渡しをする重要な細胞として、DCが位置づけられている。DCはマクロファージなどと同様に、自然免疫応答で重要な Toll-like receptor (TLR) などによる pathogen-associated molecular patterns (PAMP) の認識システム⁶⁾と貪食能力を兼ね備え、かつ、他の抗原提示細胞 (APC) と比較し強力な T 細胞活性化能力を有する。

適応免疫は細胞性免疫 (T 細胞による免疫) と液性免疫 (B 細胞, 形質細胞から分泌される抗体による免疫) に分類され, 前者では, 抗原特異的な CD4T 細胞応答, CD8T 細胞応答によるサイトカイン産生や細胞傷害活性が, 後者では抗体がエフェクターとなる。抗体は, 抗原抗体補体反応 (抗原に結合した抗体によって, 血清中の補体がプロテアーゼカスケードによって membrane attack complex (MAC) という細胞膜に孔をあける複合体を形成する反応) やオプソニン効果 (マクロファージなどの貪食細胞が抗体の Fc 部分を介して貪食を増強する効果), 中和 (毒素やウイルスの細胞侵入時に使用されるエンベロープ蛋白等を中和すること), 抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用 (抗体とその Fc 部分のレセプターを介した NK 細胞などの自然免疫担当細胞による細胞傷害反応) によって, その効果を発揮する。

細胞性免疫の誘導は, DC による CD4T 細胞の活性化から始まる (図 1)。次項で述べる機序により CD4T 細胞は活性化するが, その時に CD4T 細胞が発現する CD40 リガンドにより, DC は刺激を受け, この刺激により “license” を受けた DC によって, CD8T 細胞は活性化し, 成熟した細胞傷害性 T 細胞 (CTL) となる⁷⁾。また, 液性免疫は, 抗原による B 細胞レセプター (これは, 膜結合型の抗体そのものであり, 抗原そのものがリガンドである) からの刺激と DC で活性化された CD4T 細胞の CD40 リガンドによる刺激によって抗体を産生することによって誘導される (図 1)⁹⁾。両者は主としてリンパ節や脾臓において誘導され, エフェクター CD4T 細胞, CTL, 抗体は標的組織へと達し, 効果を発揮する。このことから, 適応免疫の発動は, DC と T 細胞応答, 特にヘルパー CD4T 細胞応答が初期段階で重要であることがわかる。逆に言えば, CD4T 細胞応答が抑制された場合は, 適応免疫全体が抑制されてしまうことになる。その一例として, Human immunodeficiency virus (HIV) は CD4T 細胞へ感染し, アポトーシスによって CD4T 細胞が一定以上減少してしまうと日和見感染や腫瘍を発症する¹⁰⁾ことが挙げられる。

ii) DC と T 細胞応答

T 細胞は, 抗原刺激を受けていない状態ではナイーブ T (naive T) 細胞と呼ばれ, エフェクター機能を発揮しないが, 前述のように APC によって抗原刺激を受けた場合に活性化 T 細胞となってエフェクター機能を発揮する。そのためには, 次に述べる 3 つのシグナルが重要とされている。まず第 1 に, 抗原

による刺激である(図1)。T細胞はその抗原レセプターとして、T細胞レセプター(TCR)を発現している。TCRは、APC上の主要組織適合抗原(major histocompatibility complex:MHC)の溝にAPC内でプロセッシング(蛋白抗原が数個から十数個までのペプチドに分解されること)を受けた蛋白ペプチドが埋没したMHC-ペプチド複合体と結合する。つまり、T細胞は自己のMHCと外来抗原由来のペプチドの両方を認識して応答する。この刺激のみではT細胞はアナジー(無反応性の状態)あるいはactivation-induced cell death(AICD)による細胞死を起こすため、第2の刺激として、副刺激が必要となる。これはT細胞上のCD28とAPC上のCD80やCD86といった副刺激関連分子により供給される(図1)。次の第3段階目では、APCなどより産生されるサイトカインの種類によって、つまり、Interleukin(IL)-12による刺激ではInterferon(IFN)- γ を産生する1型ヘルパーT細胞(Th1)へ、IL-4の刺激では2型ヘルパーT細胞(Th2)へ、Transforming growth factor(TGF)- β とIL-6の存在下ではIL-17を産生するTh17などへと分化し、それぞれ特有のエフェクター機構を発揮する(図1)。CD8T細胞も同様の活性化機序でCTLとなると考えられており、CD4T細胞との相違点は、第1の刺激として、CD4T細胞はMHCのclass IIを利用するが、CD8T細胞はClass Iを利用する。この第2、第3の至適刺激を与えるAPCとして重要な細胞がDCであり、機能的に成熟したT細胞応答を惹起するためにはDC自体も菌体成分や細菌由来のDNA、ウイルスRNAなどのPAMPを認識するTLRやRetinoic acid-inducible gene I(RIG-I)¹¹⁾からのdanger signalを受けることが重要とされている(図1)(danger theory)¹²⁾。このdanger signalによって、DC上に発現するCD80、CD86、CD56、CD83などの副刺激関連分子の発現が上昇するわけであるが、これらの分子が低発現あるいは無発現のものが未熟DC、高発現しているものが成熟DCと称される。当初、未熟DCが適切なT細胞の活性化を惹起できないのは、単に第2の刺激を十分にT細胞に供給できないためと考えられていたが、定常状態の成熟DCも免疫寛容に関与している事実や種々のPAMPの刺激によってT細胞のエフェクター分化に相違が生じることから、第3の刺激の重要性が認識されてきている¹³⁾。後述する腫瘍免疫療法におけるDC療法は、まさにこのDCを細胞性アジュバントとして利用した腫瘍抗原特異的T細胞発動による免疫療法である。

iii) 自己免疫寛容

前述した抗原特異的なT細胞応答は、多種多様な外来抗原に対応できる。これは、MHCの多様性とTCRの多様性に起因する。一つのT細胞はその分化段階で、TCRをコードするDNAを組換えることによって、1種類のMHC-peptideの複合体を認識するTCRを発現するようになる。この組替えによって、理論上、 10^{18} 種のT細胞が出現することとなる¹⁴⁾。それでは、この多種多様なT細胞はなぜ自己の抗原を認識しないのであろうか。それは、胸腺内での中枢性自己免疫寛容機序及び末梢の免疫寛容機序が存在するためである。骨髄由来のT細胞前駆細胞は、胸腺内に移動した後に、TCRを発現するように分化していくが、その時に、自己のMHC(+ペプチド)と適度なアビディティ(1対のTCRとMHC複合体の結合力をアフィニティといい、その総和のこと)を持つものが選択され、自己のMHC(+ペプチド)と全く反応しないものはアポトーシスとなる。これが、ポジティブセレクションという機構で、自己のMHC拘束性(末梢性T細胞は自己のMHCの溝に抗原ペプチドが入り込んだ状態の時のみ正常に反応する原則)を獲得する。次に、自己免疫疾患であるAutoimmune polyendocrinopathy syndrome 1(APS1)(別名、Autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy(APECED))の責任遺伝子であるAIRE遺伝子などの転写活性によって、末梢で発現する自己蛋白が胸腺内でも発現し、自己蛋白由来のペプチドとMHC複合体が形成される。これによって、MHCと自己抗原由来のペプチド複合体に対して強いアビディティをもつT細胞は、アポトーシスを起こして除去される(ネガティブセレクション)。実にこの過程で97%ものT細胞が死滅し、末梢に移動できる細胞は、胸腺で分化してくる細胞のわずか3%程度であると考えられている¹⁵⁾。

ネガティブセレクションは完全でなく、中枢性免疫寛容機序を免れた少数のT細胞が末梢に出現するときがある。その細胞は末梢性自己免疫寛容の機序によってコントロールされる(図2)。末梢性自己寛容機

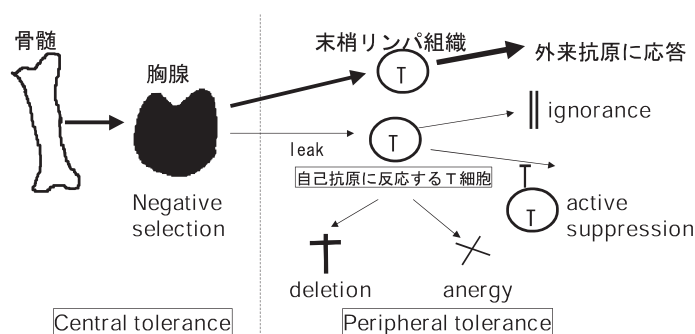


図2 T細胞の自己免疫寛容のメカニズム

序には i) 除去 (末梢に発現している Fas リガンドから T 細胞の Fas への細胞死シグナルの伝達などによって末梢から除去されること), ii) アナジー (前述の第 2 のシグナルがないことによる T 細胞の不応答性の誘導), iii) 免疫学的無視 (T 細胞が認識できる場所へ抗原が暴露されないあるいは T 細胞が抗原発現部位にアクセスできない隔絶の状態), iv) 制御 (抑制性あるいは制御性 T 細胞 (Th3, Tr1, CD122⁺CD8⁺ regulatory T cell, CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulatory T cell 等) による自己抗原応答性 T 細胞の能動的抑制) の 4 つのメカニズムによって自己抗原応答性 T 細胞を抑制している。特に iv) の機序で近年注目されている CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞は、自己抗原に反応する TCR をもつ制御性 T 細胞で、特殊な分化過程 (ヒトでは胸腺内のハッセル小体近傍の DC が重要¹⁶⁾) を経たのちに、末梢に分布する。そのマスター転写因子である Foxp3 の遺伝子異常は、immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) という自己免疫疾患を発症する¹⁷⁾ ことから末梢の自己免疫寛容機構の重要性は認識できる。

これらの中枢性、末梢性の自己免疫寛容機序の存在は、標的抗原が自己抗原の場合が多い腫瘍免疫においては、特に重要である。事実、我々のメラノーマを拒絶するマウスモデルにおいて、自己抗原である TRP-2 (悪性黒色腫の腫瘍抗原の一つ) 反応性 T 細胞の数は、ウイルス抗原などの外来抗原と比較し 10-100 倍低く、その機能的アビディティも低いことが観察されている (未発表データ)。これは、TRP-2 抗原に対する強いアビディティを持った T 細胞は中枢性自己免疫寛容によって除去され、弱いアビディティしか持たない、数少ない T 細胞しか応答できていない可能性を示唆する。また、末梢の CD4 制御性 T 細胞を含む分画を除去した状態で治療した場合、末梢における TRP2 反応性 T 細胞数が上昇することも観察されており、これは前述の iv) の機能が働いている可能性を示唆する (未発表データ)。

iv) がん個体における免疫回避機構

宿主免疫システムに対する腫瘍の免疫監視回避機構は、腫瘍免疫の理解及び免疫療法を開発するに際し最も重要な事象である。腫瘍はその本質的な細胞特性として遺伝的不安定性を獲得している。この遺伝学的変化と周囲の環境や栄養補給、増殖因子といった様々な影響の下に、“natural selection”¹⁸⁾ という受動的あるいは確率的な選択機構が働き腫瘍が発生する。この時、宿主の腫瘍免疫監視機構の圧力が働くと、腫瘍が遺伝子変化を介して免疫監視回避機構を獲得していくという cancer immunoediting という概念がある。Dunn ら¹⁹⁾ は、subclinical な腫瘍の発生から臨床的に検出可能な固形腫瘍形成までにおいて、3E、つまり、Elimination, Equilibrium, Escape という 3 つの相が存在することを提唱している。Elimination は、細胞の腫瘍化あるいは腫瘍塊形成初期の血液供給を要求するレベルに達した時に、NK 細胞浸潤やそれに伴う IFN- γ 、ケモカインの産生、そしてこの応答に引き続く T 細胞浸潤により腫瘍が個体内から排除される、いわば免疫監視機構が奏功する相である。この時、腫瘍細胞が個体内で完全に拒絶されれば腫瘍発生はないのであるが、遺伝子不安定性に起因する遺伝的多様性を持った腫瘍は Equilibrium という相に達してしまう。つまり、その免疫学的圧力による細胞死を遺伝的不安定性によって逃れ、生存した腫瘍細胞とそれに対応すべく惹起される免疫応答とが平衡状態となっている相である。この期間に免疫学的圧力に

耐性となった腫瘍の変異体形成が誘導され、最終の Escape という相へ進展し腫瘍塊を形成するという概念である。これは臨床的に検出できる腫瘍は既に免疫監視回避機構を備えていることを示す。この概念はまだ仮説の域を出ないが、近年の近交系マウスや IFN- γ ノックアウトマウス、Recombination-activating gene (RAG) ノックアウトマウス (T 細胞と B 細胞が欠損したマウス) での自然腫瘍発生、あるいはメチルコラントレンなどの化学物質誘発腫瘍発生モデルの検討により、確かに腫瘍発生に腫瘍免疫監視機構が影響していること、また、免疫不全のマウスで発生した腫瘍は、同系の健常マウスへ移植すると拒絶されるという事実は、Equilibrium の存在を強く示唆するものである¹⁸⁾。

腫瘍が獲得している免疫回避機構は以下のものが報告されている：ヘテロ接合性の消失やエピジェネティックな変化に起因する Class I 発現低下、抗原のプロセッシングに重要なプロテアーゼの発現低下、腫瘍抗原そのものの低下、Fas などから与えられるアポトーシスシグナルの耐性獲得、また、Vascular endothelial growth factor (VEGF) などの血管新生因子の発現と腫瘍血管の増生、それに伴う DC などの分化、機能抑制、未熟骨髄球の増加、あるいは IL-10 や TGF- β の産生による免疫担当細胞への直接抑制効果や、制御性 T 細胞などの誘導など¹⁸⁾²⁰⁾。ここで重要なことは、腫瘍の免疫回避機構は免疫療法施行時にも能動的に働く可能性があり、中途半端な腫瘍免疫療法は、かえって腫瘍自体の変異を助長し、更に免疫療法が困難な状態へと誘導してしまう可能性があることである。実際、転移性メラノーマ患者においてメラノーマ分化抗原に応答する CTL を末梢血中に検出できるものの、それらの細胞はアナジーに陥っていたり²¹⁾、別の報告で、ペプチドワクチン後の残存腫瘍には、そのペプチドの欠如している腫瘍へ変化していたり²²⁾、実験的にも、人工的外来性腫瘍抗原を導入したクローン化腫瘍でさえ、T 細胞の養子免疫移入療法後、再増殖してくる腫瘍はこの抗原を欠失するものであったという報告がある²³⁾。

2. 腫瘍免疫療法の目的

腫瘍治療の究極の目的は、集学的治療によって腫瘍を生体内から排除することである。腫瘍免疫療法の重要な利点は適応免疫による抗原特異的エフェクター細胞の増殖を惹起することで、臨床上検出不能な微小転移巣、腫瘍細胞を持続的に感知、排除し、その後の転移腫瘍形成抑制を可能にすることにある。この機能は、手術療法、化学療法や放射線療法では成し得ない腫瘍免疫療法独特の効果である。これを達成するためには、機能的に十分な特異応答の確立とその存続（機能的メモリー応答）が重要となる。腫瘍免疫療法の効果判定としては、実際の転移巣を含めた腫瘍の退縮効果と特異的免疫応答のモニタリングの両者を評価することによってはじめて可能となる。前者の評価としては Response Evaluation Criteria in Solid Tumor (RECIST)²⁴⁾（新規の病巣の出現や進行を伴わない全ての評価可能な病巣の最大径の総和が 30%減少することをもって Partial Response とする）などが、後者の評価としては IFN- γ 産生を指標とした抗原特異的 T 細胞数（頻度）や抗原特異的 CTL の評価などが挙げられる。Rosenberg らは、個々の免疫療法の奏功性の判断の混乱を招かないように、RECIST などの標準的なクライテリアを用いることが特に重要であると述べている²⁵⁾。

3. 腫瘍免疫療法の歴史と DC 療法

腫瘍免疫療法は、大きく能動的免疫療法及び受動的免疫療法に分類される。両者は更に抗原特異的及び非特異的な治療法に分類される²⁶⁾。受動免疫療法については他の総説²⁶⁾²⁷⁾を参照して頂くこととして、ここでは DC 療法が属する能動的免疫療法の歴史について述べる。

非特異的能動的免疫療法の始まりは、1892 年から、1909 年までに Coley らによって施行された“Coley's toxin”（熱処理された Streptococcus と Serratia との混合剤）から始まるようである²⁸⁾。しかし、当時出現した放射線療法や化学療法が注目され、その治療法は効果機序の不明確性より、ほとんど注目されなかった。その後、放射線療法、化学療法の効果が一過性であったことより、再び腫瘍免疫療法が注目されるようになるのは 1970 年代からである。この“endotoxin therapy”は、現在使用されている非特異的免疫賦活療法である Bacillus Calmette-Guerin (BCG) や OK 432 などの細菌製剤を用いた免疫療法の基盤とな

るもので、一部の固形癌に臨床応用されている²⁹⁾。詳細なメカニズムは不明であるが、表層型膀胱癌における再発率が、手術療法のみで42-100%だったものが、BCG+手術療法で15-40%であったことや化学療法と比較した場合の無再発生存率が有意にBCGで高かったことは、非特異的免疫効果、つまり Tumor necrosis factor (TNF)- α や IFN などの炎症性サイトカインによる直接的な抗腫瘍効果だけでなく、その後続く適応免疫発動に起因している(腫瘍抗原を取り込んだ DC が BCG による danger signal で活性化され、適応免疫を惹起する)可能性がある³⁰⁾。

1980年代に入って、免疫応答の分子生物学的機構の解明が進む中、IL-2, IL-12, IFN などのサイトカイン療法が開発された。IL-2, type I IFN は腎細胞癌などに臨床応用されているが、IL-12 は全身投与時の副作用のため、遺伝子療法での局所発現による抗腫瘍療法が開発されている。実際、我々もマウス肝癌皮下接種モデルの腫瘍内 IL-12 遺伝子導入は、CXCL 10 の局所発現、腫瘍血管新生抑制、NK 及び特異的 CTL 誘導による抗腫瘍効果が発揮されることを確認している³¹⁾。

一方で、能動的抗原特異的免疫療法の発展は1989年、Knuth らの腫瘍抗原である MAGE-1³²⁾ の発見から数々の腫瘍抗原同定がなされ、合成した腫瘍抗原やペプチド、あるいは腫瘍抗原を発現するベクターを用いた腫瘍ワクチン療法が開発された³³⁾。蛋白抗原に対する免疫応答を惹起するためには前述の danger signal が必要であるため¹²⁾、種々のアジュバントが開発された²⁶⁾。この腫瘍免疫療法の発展過程において、特に T 細胞応答における DC の重要性が認識され、次いで DC の大量培養法が確立されて、生体内に存在する希少な局所の DC を標的とするのではなく、ex vivo で得られた大量の DC を細胞性アジュバントとして利用する試みが始められ、DC 療法と呼ばれるようになった。

4. DC を用いた抗腫瘍免疫療法の現状と問題点

1990年代半ばに、マウス皮下腫瘍接種モデルにおいて、ペプチドパルスをした DC のワクチン効果及び治療効果が報告された³⁴⁾³⁵⁾。Celluzzi らは、ovalbumin (OVA) 由来のペプチドをパルスした DC を用いたワクチン後に OVA 発現メラノーマを拒絶したマウスは、OVA を発現しない親株の拒絶をも惹起することを示した(初期の OVA 特異的免疫応答のみならず、他の腫瘍抗原に対しても T 細胞応答が拡大されていることを示す)³⁶⁾。更に、臨床試験においても、B-cell non-Hodgkin's lymphoma や悪性黒色腫に対して、約30%の clinical response を認めたという報告がなされた³⁷⁾³⁸⁾。この有効な抗腫瘍効果から、他施設でも多数の DC 療法が検討されたが、Rosenberg らのまとめによるとその臨床的效果は、約7.1%と当初期待されている程ではなかった²⁵⁾。初期にメラノーマの DC 療法を報告した Nestle らも2005年の総説で同様のことを報告している³⁹⁾。

この臨床的效果の不確定さは、GMP ガイドライン従った臨床プロトコルの遂行、患者選定や治療時の病期、標準的臨床効果判定基準、免疫応答評価(治療施行前後)の有無などが一定していなかったのも大きな原因と考えられるが、最も重要なことは使用する DC に関する品質管理が一定していなかったことにある⁴⁰⁾。最適な DC 療法施行のために検討すべきことは、以下の如くである；1) 最適な DC の種類(骨髄由来 DC, 単球由来 DC 等の分化ソースの問題、あるいは Langerhans cell, plasmacytoid DC 等の最終分化細胞の種類)、2) DC の活性化方法(サイトカインカクテル, CD40L, OK 432 等)、3) 抗原提示方法と抗原の種類(腫瘍溶解液, ペプチド, 合成蛋白, RNA 等)、4) 投与ルート(皮内, 皮下, 静脈内, 腫瘍内投与等)、5) 投与量及び投与頻度などを含めた最適なプロトコル、6) KLH 等のヘルパー蛋白やサイトカイン療法併用の有無とその種類。この中で、DC の細胞性アジュバントとしての効果を最大限発揮するために特記すべき問題は以下の2点である。

- ①使用腫瘍抗原の問題点：個々の症例で cancer immunoediting による腫瘍抗原発現が不安定であるため、既知の Class I 拘束性ペプチドや腫瘍抗原を使用した場合、広汎なそして継続的な抗腫瘍効果の障害となっている。
- ②DC 成熟化刺激の問題点：当初、完全に成熟した DC (つまり、副刺激関連分子の最大発現時の状態) は、T 細胞の強力な増殖刺激活性があることから、この成熟 DC を投与することが重要であると提唱さ

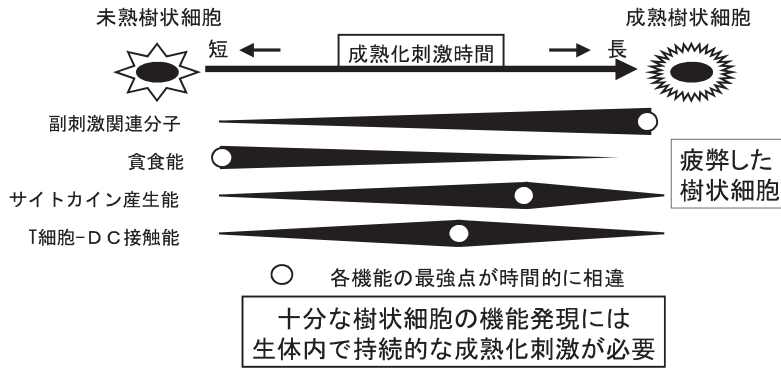


図3 樹状細胞の成熟化と質的变化

れていた。しかし、近年の DC の特性に関する基礎免疫学的知見から判断すると、そのような DC は既に、in vivo に投与した場合に生存能が低下している可能性、第3の刺激因子であるサイトカイン産生能が低下していること⁴¹⁾、T細胞との接触応答が低下していること⁴²⁾などから疲弊した DC であり T細胞の機能的活性化能が既に低下してしまっている可能性がある (図3)。

この2点の解決のためには、①治療時に存在する生体内腫瘍由来の腫瘍抗原を使用するために、貪食能力を保持した未熟 DC を腫瘍そのものに投与し、②樹状細胞の最大機能を発揮させるために、danger signal を持続的に享受され生体内で成熟する DC を使用する (感染免疫などで惹起される通常の DC の活性化過程を全て生体内で起こす) ことが重要であると思われる。しかし、現行の LPS, CD40 リガンド, サイトカインカクテル, poly I:C などの DC 刺激因子は、細胞表面上、あるいは細胞内オルガネラに表出しているレセプターを使用するため、ex vivo での刺激時間が短い場合は途中で DC の成熟化が止まってしまう現象がみられ、in vitro でのヒトメラノーマ抗原に対する CTL 誘導も不十分である (図4)。

5. センダイウイルスベクター (SeV) を用いた活性化樹状細胞の有用性

前述の問題点を解決すべく、我々は SeV 感染により DC をより効率良く活性化させることに成功している。SeV は、hemagglutinin-neuramidase (HN) による細胞接着と F 蛋白による速やかな融合により、マイナス鎖1本鎖 RNA ゲノムを細胞質内へ導入し、核内移行する必要なく蛋白を発現するベクターである。SeV のゲノムは、5'キャッピングのないあるいは RNA のヌクレオチド修飾のない5'末端3リン酸化 RNA を感受する RIG-I (細胞質内に存在) を介して、持続的な成熟化刺激をヒト DC に伝達し、DC より IFN- β , IL-1 β , TNF- α , IL-6 を産生させ、DC を十分に成熟化させることができる (未発表データ)。

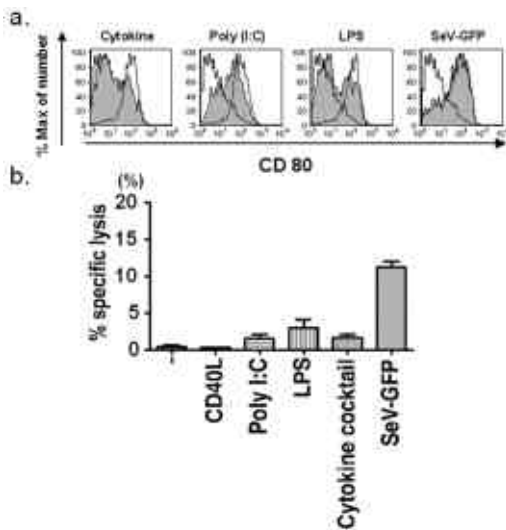


図4 a.ヒト単球由来 DC をサイトカインカクテル (IFN- α (1000 U/ml), IL-1 β (5 ng/ml), TNF- α (20 ng/ml), IL-6 (150 ng/ml), prostaglandin E 2 (4 mM)), Poly I:C (20 μ g/ml), LPS (1 μ g/ml), Sendai virus vector (SeV: MOI 50) にて1時間刺激後、細胞を3回洗浄し、GM-CSF, IL-4, 2%自己血清添加 X-vivo 15 にて47時間培養した後の CD80 の発現を示した。ポジティブコントロールとして各刺激剤で48時間刺激した DC を使用した。太線が48時間刺激後の DC の isotype control, 細線が48時間刺激の DC を抗 CD80 抗体で染色、グレーのヒストグラムは1時間刺激のみの DC を抗 CD80 抗体で染色したもの。b.単球由来 DC を MART-1₂₆₋₃₅ ペプチドで2時間パルスした後に、a(ここでは、ヒト soluble CD40L (10 μ g/ml) を付記)と同様に1時間刺激した DC と自己純化 T 細胞を6日間共培養 (再刺激は行っていない) し、得られたエフェクターと MART-1₂₆₋₃₅あるいは PSA-3A ペプチドをパルスした T2 をターゲットとして、E:T=100:1 で5時間培養したときのクロミウム放出アッセイデータ。データは MART-1₂₆₋₃₅ の %specific lysis から、background である PSA-3A ペプチドの %specific lysis を差し引いたもの。

よって、他の DC 刺激剤と比し、1 時間以内の接触時間の後に、完全な成熟 DC となり、in vitro にてヒトメラノーマ抗原に対する十分な CTL 誘導を惹起するということが判明している (図 4)。

さらに、マウスモデルにおいては、SeV 刺激 DC を腫瘍内へ投与することによって、腫瘍特異的 CTL と生着腫瘍に対する拒絶効果を誘導する結果も得ている⁴³⁾。この時、遠隔部に腫瘍溶解液を添加した DC を投与しても、当初期待していた程の抗腫瘍効果は見られず、腫瘍内投与のみ強力な抗腫瘍効果が発揮できている⁴³⁾。Interventional therapy の技術革新が進んでいる現代においては、DC の腫瘍局所投与は可能と思われるので、この方法は、cancer immunoediting によって、既知の腫瘍抗原の発現が低下した個体においても使用可能で、広汎な臨床応用への期待ができる。更に、このセンダイウイルスベクターによる活性化 DC 腫瘍内投与では、T 細胞の活性化という側面だけでなく、局所のサイトカイン産生、特に type I-IFN, TNF- α などによる自然免疫の活性化や、腫瘍そのものに対する細胞傷害性あるいは、IFN- β 遺伝子導入による強力な腫瘍細胞死誘導効果も相乗的に期待できる⁴³⁾。現在の所、この抗腫瘍効果に関しての詳細なメカニズムは未解明のまま、本 DC 療法の臨床応用に向けて今後検討していく必要がある。特に、制御性 T 細胞などの影響及びその制御は最重要課題である。

6. 臨床応用を目指した腫瘍免疫療法における将来と展望

腫瘍免疫学は、初期の腫瘍免疫療法の報告から 100 年、確実な腫瘍特異的抗原の存在が確認されて 50 年程の歴史でしかなく、解明すべき諸課題は多く、今後の発展が期待される分野である。腫瘍拒絶に向けた免疫応答とそれを制御している宿主の免疫応答、腫瘍独自の免疫制御機構を体系的に解明することが重要である。そのためにも、動物モデルで、ヒトの担癌状態を再現した腫瘍拒絶モデルを用い、その拒絶メカニズムを詳細に解析し、これを基盤として、拒絶できない腫瘍モデルでの宿主応答や腫瘍の変化の相違を詳細に解析することが重要に思われる。マウスモデルはヒトの病態を完全に反映しているものではないが、そこで得られた知見は、侵襲的検査が制約されているヒトへの抗腫瘍免疫療法の臨床応用及びその結果解釈、改善にあたって有益な情報となるものと考えられる。そして、実際の臨床応用時には、厳格な抗腫瘍効果判定とその鍵となる免疫応答のモニタリングを確実に施行し、既知の知見との相違及び改良方法を検討していくべきであろう。これらの諸問題の理解と解決を積み重ねて行くことこそが、免疫療法を腫瘍に対する標準療法として確立できる早道であると考えている。

謝辞

本稿に関係する研究施行にあたり、ご指導、ご協力頂きました九州大学生体防御医学研究所・感染制御学分野・教授・吉開泰信先生、並びに島根大学・医学部・免疫学・教授・原田守先生に深く感謝の意を表します。

また、共同研究者であります柴田智子先生 (現九州大学院医学研究院・皮膚科学教室)、及びベクターの供給をして頂きました井上誠先生、長谷川護先生 (ディナベック株式会社) に感謝の意を表します。

参 考 文 献

- 1) Janeway C, Travers P, Walport M and Shlomchik M: Basic concepts in immunology, In Schanck D (ed): Immunobiology. Fifth edition ed. pp. 1-34, Garland Publishing New York, 2001.
- 2) Waldmann TA: Immunotherapy: past, present and future. Nat. Med. 9: 269-277, 2003.
- 3) Cornelison TL: Human papillomavirus genotype 16 vaccines for cervical cancer prophylaxis and treatment. Curr. Opin. Oncol. 12: 466-473, 2000.
- 4) Ohga S, Nomura A, Takada H and Hara T: Immunological aspects of Epstein-Barr virus infection. Crit. Rev. Oncol. Hematol. 44: 203-215, 2002.
- 5) Yotnda P, Firat H, Garcia-Pons F, Garcia Z, Gourru G, Vernant JP, Lemonnier FA, Leblond V and Langlade-Demoyen P: Cytotoxic T cell response against the chimeric p210 BCR-ABL protein in patients with chronic myelogenous leukemia. J. Clin. Invest. 101: 2290-2296, 1998.
- 6) Akira S, Uematsu S and Takeuchi O: Pathogen recognition and innate immunity. Cell 124: 783-801,

- 2006.
- 7) Bennett SR, Carbone FR, Karamalis F, Flavell RA, Miller JF and Heath WR : Help for cytotoxic-T-cell responses is mediated by CD 40 signalling. *Nature* 393 : 478-480, 1998.
 - 8) Schoenberger SP, Toes RE, van der Voort EI, Offringa R and Melief CJ : T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD 40-CD 40 L interactions. *Nature* 393 : 480-483, 1998.
 - 9) Lederman S, Cleary AM, Yellin MJ, Frank DM, Karpusas M, Thomas DW and Chess L : The central role of the CD 40-ligand and CD 40 pathway in T-lymphocyte-mediated differentiation of B lymphocytes. *Curr. Opin. Hematol.* 3 : 77-86, 1996.
 - 10) Alimonti JB, Ball TB and Fowke KR : Mechanisms of CD4⁺ T lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *J. Gen. Virol.* 84 : 1649-1661, 2003.
 - 11) Pichlmair A, Schulz O, Tan CP, Naslund TI, Liljestrom P, Weber F and Reis e Sousa C : RIG-I-mediated antiviral responses to single-stranded RNA bearing 5'-phosphates. *Science* 314 : 997-1001, 2006.
 - 12) Matzinger P : Tolerance, danger, and the extended family. *Annu. Rev. Immunol.* 12 : 991-1045, 1994.
 - 13) Lutz MB and Schuler G : Immature, semi-mature and fully mature dendritic cells : which signals induce tolerance or immunity? *Trends. Immunol.* 23 : 445-449, 2002.
 - 14) Janeway C, Travers P, Walport M and Shlomchik M : The generation of lymphocyte antigen receptors, In Schanck D (ed) : *Immunobiology*. Fifth edition ed. pp. 123-184, Garland Publishing New York, 2001.
 - 15) Janeway C, Travers P, Walport M and Shlomchik M : The development and survival of lymphocytes, In Schanck D (ed) : *Immunobiology*. Fifth edition ed. pp. 221-293, Garland Publishing New York, 2001.
 - 16) Watanabe N, Wang YH, Lee HK, Ito T, Wang YH, Cao W and Liu YJ : Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD 4⁺CD 25⁺ regulatory T cells in human thymus. *Nature* 436 : 1181-1185, 2005.
 - 17) Sakaguchi S : The origin of FOXP 3-expressing CD4⁺ regulatory T cells : thymus or periphery. *J. Clin. Invest.* 112 : 1310-1312, 2003.
 - 18) Khong HT and Restifo NP : Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes. *Nat. Immunol.* 3 : 999-1005, 2002.
 - 19) Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ and Schreiber RD : Cancer immunoediting : from immunosurveillance to tumor escape. *Nat. Immunol.* 3 : 991-998, 2002.
 - 20) Gabrilovich D : Mechanisms and functional significance of tumour-induced dendritic-cell defects. *Nat. Rev. Immunol.* 4 : 941-952, 2004.
 - 21) Lee PP, Yee C, Savage PA, Fong L, Brockstedt D, Weber JS, Johnson D, Swetter S, Thompson J, Greenberg PD, Roederer M and Davis MM : Characterization of circulating T cells specific for tumor-associated antigens in melanoma patients. *Nat. Med.* 5 : 677-685, 1999.
 - 22) Lee KH, Panelli MC, Kim CJ, Riker AI, Bettinotti MP, Roden MM, Fetsch P, Abati A, Rosenberg SA and Marincola FM : Functional dissociation between local and systemic immune response during anti-melanoma peptide vaccination. *J. Immunol.* 161 : 4183-4194, 1998.
 - 23) Spiotto MT, Rowley DA and Schreiber H : Bystander elimination of antigen loss variants in established tumors. *Nat. Med.* 10 : 294-298, 2004.
 - 24) Therasse P, Arbuck SG, Eisenhauer EA, Wanders J, Kaplan RS, Rubinstein L, Verweij J, Van Glabbeke M, van Oosterom AT, Christian MC and Gwyther SG : New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. European Organization for Research and Treatment of Cancer, National Cancer Institute of the United States, National Cancer Institute of Canada. *J. Natl. Cancer. Inst.* 92 : 205-216, 2000.
 - 25) Rosenberg SA, Yang JC and Restifo NP : Cancer immunotherapy : moving beyond current vaccines. *Nat. Med.* 10 : 909-915, 2004.
 - 26) Davis ID : An overview of cancer immunotherapy. *Immunol. Cell. Biol.* 78 : 179-195, 2000.
 - 27) Adams GP and Weiner LM : Monoclonal antibody therapy of cancer. *Nat. Biotechnol.* 23 : 1147-1157, 2005.
 - 28) Starnes CO : Coley's toxins in perspective. *Nature* 357 : 11-12, 1992.
 - 29) 後藤重則, 金子亨, 江川滉二 : 免疫療法 *Immuno-cell Therapy*, 日本補完代替医療学会誌 1 : 85-93, 2004.
 - 30) Kantoff P, Zietman A and Wishnow K : Bladder cancer, In Holland J, Frei IE, Bast JR, Kufe D, Morton D and Weichselbaum R (eds) : *Cancer medicine*. pp. 2105-2123, Williams and Wilkins Baltimore, 1997.
 - 31) Harada N, Shimada M, Okano S, Suehiro T, Soejima Y, Tomita Y and Maehara Y : IL-12 gene therapy is an effective therapeutic strategy for hepatocellular carcinoma in immunosuppressed mice. *J. Immunol.*

- 173 : 6635-6644, 2004.
- 32) Knuth A, Wolfel T, Klehmann E, Boon T and Meyer zum Buschenfelde KH : Cytolytic T-cell clones against an autologous human melanoma : specificity study and definition of three antigens by immunoselection. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 86 : 2804-2808, 1989.
 - 33) Berzofsky JA, Terabe M, Oh S, Belyakov IM, Ahlers JD, Janik JE and Morris JC : Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. J. Clin. Invest. 113 : 1515-1525, 2004.
 - 34) Mayordomo JI, Zorina T, Storkus WJ, Zitvogel L, Celluzzi C, Falo LD, Melief CJ, Ildstad ST, Kast WM, Deleo AB and et al. : Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with synthetic tumour peptides elicit protective and therapeutic antitumour immunity. Nat. Med. 1 : 1297-1302, 1995.
 - 35) Zitvogel L, Mayordomo JI, Tjandrawan T, DeLeo AB, Clarke MR, Lotze MT and Storkus WJ : Therapy of murine tumors with tumor peptide-pulsed dendritic cells : dependence on T cells, B7 costimulation, and T helper cell 1-associated cytokines. J. Exp. Med. 183 : 87-97, 1996.
 - 36) Celluzzi CM, Mayordomo JI, Storkus WJ, Lotze MT and Falo LD, Jr. : Peptide-pulsed dendritic cells induce antigen-specific CTL-mediated protective tumor immunity. J. Exp. Med. 183 : 283-287, 1996.
 - 37) Hsu FJ, Benike C, Fagnoni F, Liles TM, Czerwinski D, Taidi B, Engleman EG and Levy R : Vaccination of patients with B-cell lymphoma using autologous antigen-pulsed dendritic cells. Nat. Med. 2 : 52-58, 1996.
 - 38) Nestle FO, Alijagic S, Gilliet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R, Burg G and Schadendorf D : Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. Nat. Med. 4 : 328-332, 1998.
 - 39】** Nestle FO, Farkas A and Conrad C : Dendritic-cell-based therapeutic vaccination against cancer. Curr. Opin. Immunol. 17 : 163-169, 2005.
 - 40) Figdor CG, de Vries IJ, Lesterhuis WJ and Melief CJ : Dendritic cell immunotherapy : mapping the way. Nat. Med. 10 : 475-480, 2004.
 - 41) Langenkamp A, Messi M, Lanzavecchia A and Sallusto F : Kinetics of dendritic cell activation : impact on priming of TH 1, TH 2 and nonpolarized T cells. Nat. Immunol. 1 : 311-316, 2000.
 - 42) Hugues S, Fetler L, Bonifaz L, Helft J, Amblard F and Amigorena S : Distinct T cell dynamics in lymph nodes during the induction of tolerance and immunity. Nat. Immunol. 5 : 1235-1242, 2004.
 - 43】** Shibata S, Okano S, Yonemitsu Y, Onimaru M, Sata S, Nagata-Takeshita H, Inoue M, Zhu T, Hasegawa M, Moroi Y, Furue M and Sueishi K : Induction of efficient antitumor immunity using dendritic cells activated by recombinant Sendai virus and its modulation by exogenous IFN-beta gene. J. Immunol. 177 : 3564-3576, 2006.
- (参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)

プロフィール

岡野 慎士 (おかの しんじ)

九州大学助教 (非常勤) (大学院医学研究院 病理病態学分野)。医博。

◆**略歴** 1967年愛媛県生る。1993年九州大学医学部卒業。2000年同大学院医学系研究科博士課程修了。2001年九州大学医学研究院病理病態学医員。2005年より現職。

◆**研究テーマと抱負** 腫瘍及び移植に関わる免疫制御機構の病態解明と新規治療法開発を通して、少しでも医学へ貢献できればと考えている。

◆**趣味** バンド活動, バドミントン