

## 16-18 各種がん免疫療法の開発と臨床的有効性の評価に関する研究

主任研究者 国立がんセンター 若杉 尋

### 研究成果の要旨

本研究の成果については、1.  $\alpha$ -GalCer と IL-2 によって体外で NKT 細胞および傷害活性を示す NK 細胞の増殖を誘導することができた。2. 腎がんおよび大腸がんに対してミニ移植を行った。腫瘍抗原に対する CTL の出現は一時的であり、問題となることが考えられた。3. マウス DR5 に対するアゴニスト抗体(MD5-1)を作製した。抗 DR5 抗体の投与は、二次的に腫瘍特異的な CTL を含む獲得免疫系を誘導し、TRAIL 抵抗性変異株の再発に対しても抗腫瘍効果を発揮しうることが示唆された。4. 急性骨髄性白血病 2 症例の移植後末梢血から、HLA-A33 拘束性の CTL を 2 クローン樹立した。HLA-A33 拘束性 CTL クローンおよび HLA-A31 拘束性 CTL クローンは同一の遺伝子産物の異なるエピトープを認識している可能性が示唆された。5. ヒト TLR 各種に対する抗体を作成し、樹状細胞サブセットにおける分布を明らかにした。肺癌治癒切除後の患者を対象とし、BCG-CWS 投与の再発・生存に対する影響を解析した。6. 抗 GITR 抗体 (DT-1) の投与は腫瘍免疫を惹起するのに有効であった。

### 研究者名および所属施設

### 分担研究課題

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
若杉 尋	国立がんセンター研究所 部長	NK T細胞療法および有効なモニター法の開発
高上 洋一	国立がんセンター中央病院 部長	細胞免疫療法の開発研究
八木田秀雄	順天堂大学医学部免疫学講座 助教授	モノクローナル抗体による抗腫瘍免疫の誘導と増強
高橋 利忠	愛知がんセンター研究所 所長	ヒトマイナー抗原の同定と養子免疫療法への応用
高見 康二	大阪成人病センター呼吸器科 参事兼医長	BCG-CWS による基本免疫療法の基礎的臨床的研究
坂口 志文	京都大学再生医学研究所 生体機能調節学分野 教授	制御性 T 細胞の操作による腫瘍免疫の誘導の研究

## 総括研究報告

## 1 研究目的

Innate-acquired immunity システムを総合的に効率よく組織化した効果的な各種がん免疫療法の開発を行い、同時に臨床的有効性の評価法の確立を行うことを本研究の目的とする。

## 2 研究成果

1) (若杉)  $\alpha$ -GalCerとIL-2によって体外でNKT細胞および傷害活性を示すNK細胞の増殖を誘導することができた。G-CSF mobilization後のV $\alpha$ 24<sup>+</sup> NKT細胞増殖はCD14<sup>+</sup>細胞数依存性にV $\alpha$ 24<sup>+</sup>細胞がexpandする。2) (高上) 腎がんおよび大腸がんに対してミニ移植を行った。腫瘍抗原に対するCTLの出現は一時的であり、問題となることが考えられた。3) (八木田) マウスDR5に対するアゴニスト抗体(MD5-1)を作製し、その抗腫瘍効果と毒性を検討した。抗DR5抗体の投与は、毒性を示すことなく、TRAIL感受性腫瘍に対する一次的な抗腫瘍効果を示すのみならず、DC等の抗原提示細胞を含む宿主の自然免疫系細胞をFc部位を介して動員することにより、二次的に腫瘍特異的なCTLを含む獲得免疫系を誘導し、TRAIL抵抗性変異株の再発に対しても抗腫瘍効果を発揮しうることが示唆された。4) (高橋) 急性骨髄性白血病2症例の移植後末梢血から、HLA-A33拘束性のCTLを2クローン樹立した。うち1つは一部正常組織にも発現が認められており、養子免疫療法の標的としては不適切である可能性が示唆された。他方のHLA-A33拘束性CTLクローンおよびHLA-A31拘束性CTLクローンは同一の遺伝子産物の異なるエピトープを認識している可能性があり、現在遺伝子とエピトープの同定を試みている。5) (瀬谷:研究協力者) ヒトTLR各種に対する抗体を作成し、樹状細胞サブセットにおける分布を明らかにした。TLR刺激が誘導する抗がんエフェクターが異なったシグナル経路に依存して誘導されることを明らかにした。(高見) 肺癌治癒切除後の患者89名を対象とし、BCG-CWS投与の再発・生存に対する影響を解析した。その結果、StageIAでは、BCG-CWS施行群で予後良好である結果が得られた。StageIIBでも同様の傾向であった。6) 抗GITR抗体(DT-1)は、細胞傷害抗体ではなく、agonistic抗体である。制御性T細胞に高発現するGITR分子をligationすると、抑制が解除される。また、既報の如く、この抗体は、エフェクターT細胞の活性も増強する。実際DTA-1抗体の投与は、腫瘍接種後であっても、腫瘍免疫を惹起するのに有効であった。

## 3 倫理面への配慮

本研究は、ヒトの生体試料の採取を伴う時、検体採取の行われる当該研究機関において、倫理審査委員会の承認のもと行われた。また実験動物を用いた研究は同様に当該機関における動物実験に関する指針に従って行われ、当該機関の動物実験倫理委員会規定に基づき、実験の種類毎に倫理委員会の許可の元に行われた。

## 研究成果の刊行発表

外国語論文 (全111編中重要論文のみ記載)

- (1) Shimizu A, Wakasugi H, et al. The mouse natural killer T cell-associated antigen recognized by U5A2-13 monoclonal antibody is intercellular adhesion molecule-1 Immunology Letters 92: 227-235, 2004.
- (2) Terme M, Wakasugi H, et al. IL-4 Confers NK Stimulatory Capacity to Murine Dendritic Cells: A Signaling Pathway Involving KARAP/DAP12-Triggering Receptor Expression Myeloid Cell 2 Molecules. Immunol. 2004 May 15;172(10):5957-66.
- (3) Borg C, Wakasugi H, et al. Novel mode of action of c-kit tyrosine kinase inhibitors leading to NK cell-dependent antitumor effects. J Clin Invest. 2004 Aug;114(3):379-88.
- (4) Borg C, Wakasugi H, et al. NK cell activation by Dendritic Cells (DC) require The Formation of a Synapse leading to IL-12 Polarization in DC. J Clin Invest. 2004 Aug;114(3):379-88.
- (5) Ikarashi Y, Wakasugi H, et al. Role of natural killer T(NKT) cells in anti-tumor immune response. Extended Abstracts for the 34<sup>th</sup> International Symposium of the Princess Takamatsu Cancer Research Fund, 57-63, 2004.
- (6) Yamasaki S, Takaue Y, et al. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from 2- or 3-loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. Bone Marrow Transplant 33: 279-289, 2004.
- (7) Kamitsuji Y, Takaue Y, et al. Fatal deep vein thrombosis after allogeneic reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of metastatic gastric cancer. Ann Hematol 83:533-535,

2004. (8) Harashima N, Takaue Y, et al. Graft-versus-human T-cell leukemia virus type-I response in adult T-cell leukemia patients following non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Res* 64:391-399, 2004. (9) Mori T, Takaue Y, et al. Clinical significance of cytomegalovirus (CMV) antigenemia in the prediction and diagnosis of CMV gastrointestinal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 33:431-434, 2004. (10) Kojima R, Takaue Y, et al. Incidence of invasive aspergillosis after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regimen compared with transplantation with a conventional regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 10:645-652, 2004. (11) Takeda K, Yagita H, et al. Induction of tumor-specific T cell immunity by anti-DR5 antibody therapy. *J. Exp. Med.*, 199: 437-448, 2004. (12) Demirci G, Yagita H, et al. Critical role of OX40 in CD28 and CD154-independent rejection. *J. Immunol.*, 172: 1691-1698, 2004. (13) Aramaki O, Yagita H, et al. Programmed death-1-programmed death-L1 interaction is essential for induction of regulatory cells by intratracheal delivery of alloantigen. *Transplantation*, 77: 6-12, 2004. (14) Kohyama M, Yagita H, et al. Inducible costimulator-dependent IL-10 production by regulatory T cells specific for self-antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101: 4192-4197, 2004. (15) Luo J, Yagita H, et al. Inhibition of NF- $\kappa$ B in cancer cells converts inflammation-induced tumor growth mediated by TNF $\alpha$  to TRAIL-mediated tumor regression. *Cancer Cell*, 6: 297-305, 2004. (16) Nishida T, Takahashi T, et al. Clinical relevance of a newly identified HLA-A24-restricted minor histocompatibility antigen epitope derived from BCL2A1, ACC-1, in patients receiving HLA genotypically matched unrelated bone marrow transplant. *Brit. J. Haematol.*, 124: 629-635, 2004. (17) Kondo E, Takahashi T, et al. Retroviral vector backbone immunogenicity: Identification of cytotoxic T cell epitope in retroviral vector packaging sequences. *Gene Therapy*, (in press). (18) Tajima K, Takahashi T, et al. Identification of an epitope from the epithelial cell adhesion molecule eliciting HLA-A\*2402-restricted cytotoxic T lymphocyte responses. *Tissue Antigens*, (in press). (19) Torikai H, Takahashi T, et al. A novel HLA-A\*3303-restricted minor histocompatibility antigen encoded by nonconventional open reading frame of human TMSB4Y gene. *J. Immunol.*, (in press). (20) Kodama K, Takami K, et al. Synchronous pulmonary atypical adenomatous hyperplasia and metastatic osteosarcoma in a young female. *Jpn J Thorac Cardiovasc Surg* 52: 357-9, 2004. (21) Higashiyama M, Takami K, et al. Surgical treatment of bone metastasis followed by a primary lung cancer lesion: report of a case. *Surg Today* 34: 600-5, 2004. (22) Higashiyama M, Takami K, et al. Pulmonary middle lobe fixation using TachoComb in patients undergoing right upper lobectomy with complete oblique fissure. *Interactive Cardiovasc and Thorac Surg* 3:107-109, 2004. (23) Akazawa T, Seiya T, et al. Adjuvant-mediated tumor regression and tumor-specific CTL induction are impaired in MyD88-deficient mice. *Cancer Res.* 64: 757-764, 2004. (24) Begum NA, Seiya T, et al. Identification of differentially expressed novel genes from BCG-stimulated human macrophages by cDNA subtraction and mRNA-differential display. *Infect. Immun.* 72: 937-948, 2004. (25) Funami, K, Seiya T, et al.

Multifunctional feature of Toll-like receptor 3 cytoplasmic tail that regulates receptor localization and signaling. *Int. Immunol.* 16: 1143-54, 2004. (26) Sasai, M, [Seya T](#), et al.

NF- $\kappa$ B-activating kinase (NAK)-associated protein 1 participates in Toll-like receptor (TLR) 3/Toll-IL-1 homology domain-containing adapter molecule (TICAM)-1-mediated IRF3 activation. *J. Immunol.*, in press, 2004.

(27) Tsujita T, [Seya T](#), et al. Structure and function of soluble and membrane forms of TLR5 (TLR5s) in Rainbow trout: an acute phase protein with flagellin-binding activity. *J. Biol. Chem.*, in press, 2004. (28) Sakaguchi S

Naturally arising CD4<sup>+</sup>regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu. Rev. Immunol.* 22:531-562, 2004. (29) Hata H, Sakaguchi S, et al. Distinct contribution of IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1, and IL-10 to T cell-mediated spontaneous autoimmune arthritis in mice. *J. Clin. Invest.* 114:582-588, 2004.

(30) Fehervari Z, [Sakaguchi S](#) CD4<sup>+</sup> regulatory T cells and immune control. *J. Clin. Invest.* in press.

(31) [Muriglan S J](#), [Sakaguchi S](#) et al. GITR Activation induces an opposite effect on alloreactive CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in graft-versus-host disease. *J. Exp. Med.* 200:149-157, 2004. (32) [Dittmer U](#), [Sakaguchi, S](#) et

[al.](#) Functional impairment of CD8<sup>+</sup> T cells by regulatory T cells during persistent retroviral infection. *Immunity.* 20: 1-20, 2004.

日本語論文

該当なし