

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19591524

研究課題名 (和文) 乳癌抗体療法の臨床効果における免疫学的検討
-併用免疫細胞療法有効性についての検討研究課題名 (英文) Immunological effects of the treatment with anti-tumor
monoclonal antibody in breast cancer patients

研究代表者

関 直子 (NAOKO SEKI)

久留米大学・医学部・助教

研究者番号：40226634

研究成果の概要：

HER2 受容体を分子標的とする抗腫瘍抗体 Trastuzumab の宿主免疫系を介した作用機序についての検討を行った。in vitro において健康人末梢血単球から IL-4, GM-CSF を用いた通法により誘導し、Trastuzumab 添加 HER2 抗原により成熟させ得られた DC の解析を行った。Trastuzumab 添加によって得られた DC は非添加例に比し、有意な IL-12p70 の産生増加、IL-10 の産生低下が認められ、HER2 ペプチド認識 CTL の誘導能が有意に高かった。このことから Trastuzumab は DC を介した抗腫瘍細胞性免疫の誘導に効果的に働くことが示唆された。現在 Trastuzumab 治療患者の末梢血を用いた経時的腫瘍抗原特異的 CTL precursor assay を行い、治療成績との相関についての検討を行っている。また我々は、HER2 陽性難治性(再発性)乳癌症例に対し、局所細胞免疫療法と Trastuzumab 併用による第 I/II 相臨床試験を施行し、臨床的に重篤な副作用なく奏効例を経験した。今後引き続き Trastuzumab・細胞免疫療法併用症例を含めた臨床検体を用いた免疫学的検討を行い、臨床的パラメーターとの相関性について統計学的検討を行っていく予定である。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・外科学一般

キーワード：乳腺外科学 癌 免疫学

1. 研究開始当初の背景

近年、癌の分子標的治療薬として Bevacizumab (Avasti) や Rituximab (Rituxan) といった抗体製剤の臨床応用が可能となり、一定の臨床効果をあげている。また現在多種の抗体治療薬が臨床試験上であり、今後の適応拡大が予想されることから、これら抗腫瘍抗体の有効な臨床応用法の確立が強く望まれる。

Trastuzumab は現在臨床試験上にある多種の抗腫瘍抗体に先駆けて一般臨床応用が可能になった、腫瘍上の HER2 受容体を分子標的とするヒト化抗体製剤であり、HER2 陽性乳癌患者への臨床応用において、単剤、多剤併用により有効な治療効果をあげている。Trastuzumab の作用機序として、腫瘍細胞における (1) HER2 を介した細胞増殖シグナル抑制、(2) HER2 受容体の細胞内移行、分解の促進、(3) アポトーシスシグナルの増強、等々が報告されている。一方で、抗体製剤に特徴的である免疫細胞を介した ADCC による腫瘍傷害性、アポトーシスの誘導についても、*in vitro* における ADCC 活性が確認されたのみならず、Fc レセプター (activating Fc γ RIII, および inhibitory Fc γ RIIB) の KO マウスを使用した実験において、Trastuzumab の mouse parent Ab の抗腫瘍効果が大きく Fc レセプターを介した細胞傷害機構に寄っていることが証明された。(Clynes RA et al. Nature med, 2000)。更に、癌抗体療法では Fc レセプターを介した抗原提示細胞 (樹状細胞:DC) の活性化、腫瘍抗原の提示を通して、腫瘍抗原特異的細胞性免疫の賦活化が起こりうるものが、近年の *in vitro*・マウスモデルでの基礎研究から明らかになってきた。腫瘍関連抗原 (TAA) 認識抗体-Fc γ RIII を介したシグナルは、樹状細胞 (DC) の成熟・活性化、DC からの Th1 型サイトカインの放出を促す。活性化 DC による腫瘍由来の抗原の取込み、MHC 上への提示を介して、T 細胞のプライミングがおこり、腫瘍特異的な免疫応答が惹起されうるとして、抗体療法の腫瘍退縮に作用する新たな機構が提唱されている (Kalergis AM et al. J Exp Med, 2002, Dhodapkar KM et al. PNAS, 2005, etc)。エフェクター相においても、Trastuzumab が腫瘍細胞 MHC 上の HER2 抗原提示を高め、CTL による細胞傷害活性が増強されることが報告されている (Kono K et al. Clin Cancer

Res, 2004)。申請者の共同研究においても、抗 DR5 抗体によるマウスモデルでの癌退縮において、腫瘍特異的免疫応答が非常に重要であることを報告した (Takeda K et al., J Exp Med, 2004)。

しかし、実際の臨床例においては、こういった免疫機構が抗体療法奏功例においてどの程度関与しているのかについて未だ明らかにされていない。今後 Trastuzumab 治療患者から得られた臨床検体を用いて、本抗体療法がもたらす免疫系を介した効果について明らかにする事は、各種抗体療法の臨床応用を前にして、非常に重要な知見をもたらすと期待される。

前述した免疫系の関与から考えて、Trastuzumab と免疫療法との併用による治療効果の向上が推測されており (Wolpoe ME et al, J Immunol, 2003, Repka T et al. Clin Cancer Res, 2003)、米国では Trastuzumab /IL2 併用の pilot study も行われている。実際癌患者では CD16 ζ 発現抑制に伴う ADCC 活性の低下が報告されており (Kono K et al. Cancer Res, 2002, etc)、併用療法により host 免疫系の活性化が図れば、治療成績の向上が期待できる。1999 年より当久留米大学では進行消化器癌患者に対し、自己癌細胞と末梢血リンパ球との混合培養により自己活性化リンパ球を誘導、その癌局所投与による固形癌特異的免疫細胞療法を開発し (Toh U, etc., Clin. Cancer Res. 2000)、2004 年に厚生労働省から高度先進医療として認定された。2003 年より '乳癌再発症例に対する自己活性化リンパ球による細胞免疫療法とトラスツズマブ併用療法に関する第 I/II 相試験' が行われ、その有効症例については学会においても報告した (於:2006 年 AACR 総会、他)。本治療に用いられた自己活性化リンパ球は、腫瘍特異的 CTL の他、Th1T 細胞, NK 細胞等も含む混合リンパ球であり、host 免疫系の活性化、免疫抑制状態の解除、ADCC の強化、特異的細胞性免疫の誘導能亢進等が期待される。新しい治療法としての Trastuzumab 抗体併用細胞療法の有用性を検証することは、今後の抗体治療における一つの方向性を示唆するものとして非常に重要だと考えられる。

2. 研究の目的

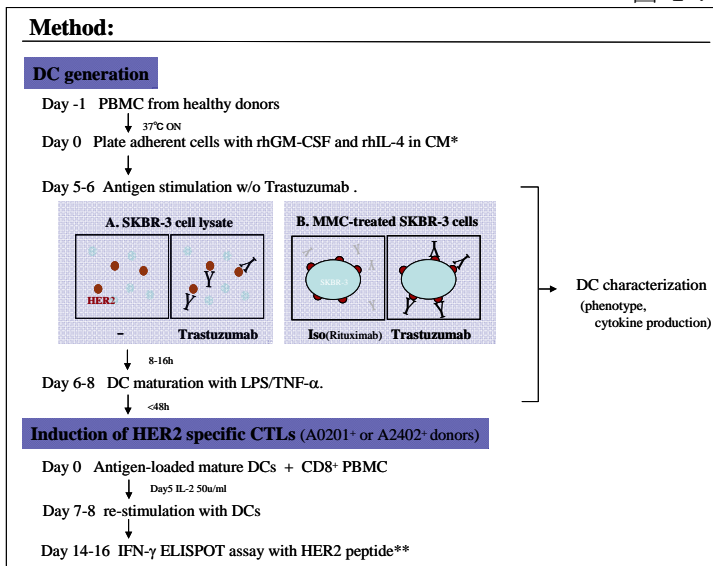
前述した背景を踏まえ、Trastuzumab 抗体療法における免疫系を介した効果・そのメカニズムについて in vitro にて解析を行う。また、乳癌における Trastuzumab 治療患者から得られた臨床検体を用いて、本抗体療法がもたらす宿主免疫系を介した臨床効果について検討を行う。

3. 研究の方法

In vitro における検討

図 1 の様に健常人ボランティア (HLA A0201+ or A2402+) の末梢血単球から IL-4, GM-CSF を用いた通法により in vitro にて immature DC を誘導し、更に、HER2 陽性 allo 乳癌細胞株またはその cell lysate、各種 maturation factor を使用し、mature DC を誘導した。Trastuzumab 添加・HER2 抗原オプソニン化の有無による DC phenotype の違いについて解析すると共に、同 DC の HER2 特異的 CTL 誘導能についての検討を行った。

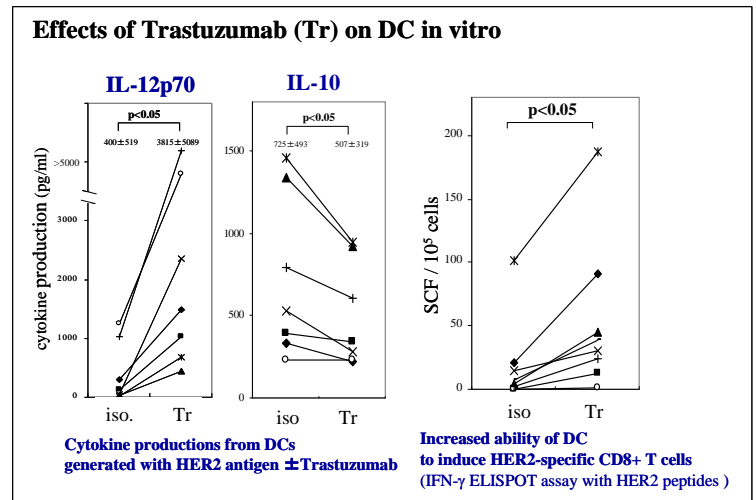
図 1 .



4. 研究成果

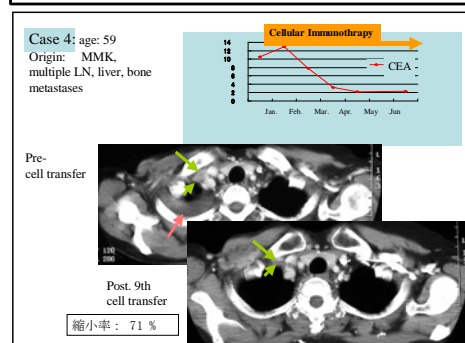
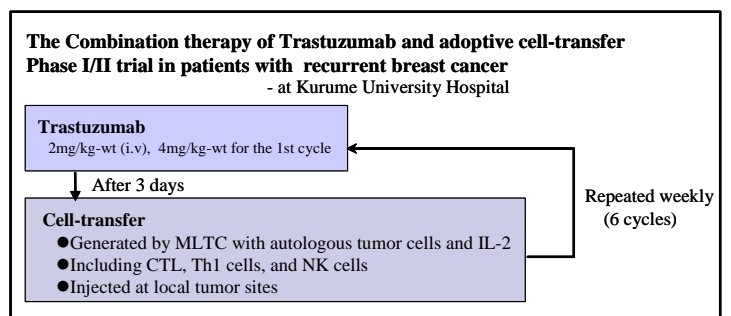
in vitro において、Trastuzumab 添加・HER2 抗原刺激により樹立された DC は、Trastuzumab 非添加例に比し、有意な IL-12p70 の産生上昇・IL-10 の産生低下を認めた。同 DC により、効果的に HER2 ペプチド認識 CD8+ T 細胞の誘導が可能であった(一部データについて図 2 参照)。よって、Trastuzumab は DC を介して腫瘍抗原(HER2) 特異的細胞性免疫を効果的に誘導し、癌の退縮に寄与する可能性が示唆された(投稿準備中)。

図 2 .



なお、図 3 の如く HRE2 陽性難治性(再発性)乳癌症例に対し、局所細胞免疫療法と Trastuzumab 併用による第 I/II 相臨床試験を施行した。臨床的に重篤な副作用なく case4 として提示したような奏効例を経験し、細胞免疫療法との併用による相加・相乗的治療効果も期待された(投稿準備中)。現在 Trastuzumab 治療患者 (HLA-A2, -A24 症例) の末梢血を用いた経時的腫瘍抗原特異的 CTL precursor assay を行い、治療成績との関連についての検討を行っている。今後引き続き Trastuzumab ・細胞免疫療法併用症例を含めた末梢血、組織切片等の臨床検体を用いた免疫学的検討を行い、臨床的パラメーターとの相関性について統計学的検討を行っていく予定である。

図 3 .



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

1. N. Seki, Strategy to Augment the Efficacy of Immunotherapy for Refractory Breast Cancer: a Pilot Clinical Study of Adoptive Cell Therapy Combined with Trastuzumab

AACR Special Conference-Tumor Immunology: New Perspectives conference

2008.12.03 Miami, FL, U.S.A.

2. 関 直子, Trastuzumabにより誘導される腫瘍特異的細胞性免疫:

第29回癌免疫外科研究会・ワークショップ
2008.6.19 東京

3. U. Toh, T. Fujii, N. Seki, S. Nakagawa, M. Mishima, M. Fukunaga, E. Ogo, T. Yahara, H. Yamana, K. Shirouzu, Strategy to augment the efficacy of immunotherapy for refractory breast cancer using trastuzumab combined adoptive cell therapy.

ASCO Annual Meeting

2008.5.30-6.3 Chicago, IL, U.S.A.

4. U. Toh, T. Fujii, S. Takamori, M. Fukunaga, E. Ogo, N. Seki, H. Yamana, K. Shirouzu Combination of gemcitabine and adoptive cell therapy of autologous anti-tumor CTL induces clinical activities in patients with refractory lung cancer.

ASCO Annual Meeting

2007.6.1-6.5 Chicago, IL, U.S.A.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

関 直子 (NAOKO SEKI)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号: 40226634

(2) 研究分担者

唐 宇飛 (UHI TOH)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号: 60268901

藤井 輝彦 (TERUHIKO FUJII)
久留米大学・医学部・准教授
研究者番号: 50199288