

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 4 日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21590770

研究課題名（和文） がん温熱免疫療法の開発

研究課題名（英文） Development of hyperthermicimmunotherapy for cancer

研究代表者

古倉 聡（KOKURA SATOSHI）

京都府立医科大学・医学研究科・准教授（寄附講座）

研究者番号：80347442

研究成果の概要（和文）：養子免疫療法を考えた場合、成熟細胞を用いるより、未熟細胞を用いるほうが有効であるとの報告がある。我々は、先ず、ヒトTリンパ球の培養において、ナイーブTリンパ球の拡大培養に成功した。同様にマウス脾細胞の培養においても、ナイーブT細胞の拡大培養に成功し、これを実験に用いた。複数の癌種の皮下腫瘍モデルにおいて、温熱療法とナイーブT細胞の養子免疫療法の併用効果を検討した。いずれの癌種においても、温熱療法単独あるいは、養子免疫療法単独よりも有意に併用療法の抗腫瘍効果が優れていた。

研究成果の概要（英文）：It has been reported that less-differentiated T cells rather than late effector T cells are more efficacious for adoptive T-cell therapy in animal models. We have shown that hyperthermia attenuates the production of immunosuppressive cytokines from cancer tissue in the mouse model. Thus, hyperthermia has a potential to enhance the tumor immunotherapy through the several mechanisms. In this study, we assessed the effects of hyperthermia on adoptive T-cell therapy using naïve T-cells in a subcutaneous tumor model.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2011年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：リハビリテーション学 物理療法

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・内科学一般（含心身医学）

キーワード：癌，温熱療法，免疫療法，ナイーブT細胞，癌ワクチン

## 1. 研究開始当初の背景

近年、「癌治療法の進歩によって癌は治る病気になった。」といわれることが多い。確かに5年生存率をみると、胃癌では最近20年間で、およそ2倍に伸びている。すなわち、治療成績が向上している。しかしながら、癌

による死亡者数も増加の一途である。20年前には、日本人の5人に1人が癌で死んでいたのが、今では、3人に1人は癌で命を落とす。したがって、5年生存率が良くなっているのは、必ずしも癌の治療法が改良された結果ではなくて、癌の早期発見のための体制や

技術が進歩した結果だと考えられる。進行癌についていえば、「20年前に治せなかった癌は、今も治せない」というのが現状のように思われる。そのような状況の中で、我々はいわゆる癌治療の3本柱（手術、放射線療法、化学療法）では制御しきれない進行癌（ほとんどの進行癌がこれに当てはまる）に対して代替医療の観点から新規癌治療法の開発に取り組んできた。具体的には、1986年から「がんの温熱療法」について、基礎的および臨床的検討に取り組んできた。また、2002年からは、「がんの免疫療法、とくに活性化リンパ球療法と自家がんワクチン療法」について、基礎的検討と臨床的検討を行っている。

## 2. 研究の目的

本研究は、がんに対する温熱療法と免疫療法を併用した「がんの温熱免疫療法」という新しい治療概念の確立を目的として行われた。

## 3. 研究の方法

マウス大腸癌細胞 colon26 細胞を用いた皮下腫瘍モデルと癌細胞を尾静脈より注入する肺転移モデルを用いる。ナイーブ T 細胞は、マウス脾臓細胞から CD62L と CD3 を標的としてマグネットで選別する。このナイーブ T 細胞を担癌マウスに細胞移入し、抗腫瘍効果、脾臓細胞の制御性 T 細胞の変動、Th1/Th2 バランス、Th17 細胞の変動を検討する。その際に、ナイーブ T 細胞を細胞移入する際のマウスの担癌状態を担癌早期と担癌末期の2つを設定する。さらに、細胞移入する時期のマウスの血清中のサイトカインを免疫抑制系サイトカインを中心に網羅的に測定する。また、このナイーブ T 細胞を担癌マウスに細胞移入し、抗腫瘍効果、脾臓細胞の制御性 T 細胞の変動、Th1/Th2 バランス、Th17 細胞の変動を検討する。併用する温熱療法はマウス用遠赤外線全身加温装置により行い、直腸温

43℃に加温する。無治療群、温熱療法単独群、ナイーブ T 細胞療法単独群、温熱+ナイーブ T 細胞群、ナイーブ T 細胞+温熱療法群の5群を設定する。

## 4. 研究成果

- 1) ナイーブ T 細胞の細胞移入により、制御性 T 細胞が増加することは無かった。
- 2) 所属リンパ節と腫瘍内へのリンパ球の浸潤が促進された。
- 3) 温熱併用群で、抗腫瘍効果は最も強かった。
- 4) 各治療群で血清サイトカイン値に有意な差を認めなかった。

## 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 3 件）

① Ishikawa T, Kokura S, Sakamoto N, Matsumoto T, Funaki J, Adachi S, Okayama T, Uchiyama K, Handa O, Takagi T, Yagi N, Ando T, Uno K, Naito U and Yoshikawa T. Adoptive cellular therapy enhances the helper T cell response and reduces the number of regulatory T cells EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE 2 737-743, 2011

② Sakamoto N, Kokura S, Ishikawa T, Tanigawa M, Naito Y, Yoshikawa T Selecting patients for hyperthermia treatment based on patient backgrounds. Thermal Medicine Vol. 27, No. 2. June, 51-60, 2011

③ Tsuguhiro Matsumoto, Satoshi Kokura\*\*, Takeshi Ishikawa, Jun Funaki, Satoko Adachi, Koji Mori, Naoyuki Sakamoto, Kazuhiro Katada, Kazuhiro Kamada,

Nobuaki Yagi, Osamu Handa, Tomohisa Takagi, Kazuhiko Uchiyama, Yuji Naito, and Toshikazu Yosikawa Decrease of the regulatory T cells population by adoptive T cell transfer in a mouse colorectal cancer transplant model Oncology Research (in press)

[学会発表] (計 6 件)

① Sakamoto N, Kokura S, Ishikawa T, Matsumoto T, Okayama T, Naito Y, Uno K, Yoshikawa K. Adoptive T cell therapy enhances the secretion ability of cytokines to Th1 and reduces the number of Tregs. The 2011 European Multidisciplinary Cancer Congress, Stockholm, Sweden, 24 September 2011

② Matsumoto T, Kokura S, Ishikawa T, Funaki J, Adachi S, Okayama T, Yoshida N, Sakamoto N, Uchiyama K, Takagi T, Handa O, Konishi H, Wakabayashi N, Yagi N, Naito Y, Kato A, Tomita K, Enoki T, Yoshikawa T. Hyperthermia enhances the anti-tumor activity of adoptive transfer of naive T cells. 101st American Association for Cancer Research (AACR) , 2010 Apr 19; Washington, DC, USA.

③ Sakamoto N, Kokura S, Ishikawa T, Tanigawa M, Naito Y, Yoshikawa T. Treatment acceptability study of hyperthermia derived from patients' background: A retrospective analysis. 9th International Conference of The Asian Clinical Oncology Society. 2010 Aug26; Gifu.

④ Ishikawa T, Kokura S, Sakamoto N, Funaki J, Adachi S, Matsumoto T, Matsuura Y,

Okayama T, Yoshida N, Uchiyama K, Takagi T, Handa O, Konishi H, Wakabayashi N, Yagi N, Naito Y, Uno K, Yoshikawa T. Impact of adoptive T cell therapy on the cytokines production and the number of Treg in peripheral blood of patients with cancer. 9th International Conference of The Asian Clinical Oncology Society, 2010 Aug 26; Gifu.

⑤ Ishikawa T, Kokura S, Sakamoto N, Matsumoto T, Funaki J, Adachi S, Okayama T, Yoshida N, Uchiyama K, Takagi T, Handa O, Konishi H, Wakabayashi N, Yagi N, Tanigawa M, Uno K, Naito Y, Yoshikawa T. Adoptive T cell therapy shifts the secretion ability of cytokines to Th1 and decreases the number of Tregs in patients with cancer. 101st American Association for Cancer Research (AACR) , 2010 Apr 19; Washington, DC, USA.

⑥ Adachi S, Kokura S, Ishikawa T, Matsumoto T, Funaki J, Okayama T, Sakamoto N, Naito Y, Yoshikawa T. The anti-tumor effect of hyperthermia is enhanced by the adoptive transfer of naive T lymphocytes. The 5th ACHO & The 27th JCTM. 2010 Sep 10; Fukuoka.

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

古倉 聡 (KOKURA SATOSHI)

京都府立医科大学・医学研究科・准教授(寄附講座)

研究者番号 : 80347442

(2)研究分担者

石川 剛 (ISHIKAWA TAKESHI)  
京都府立医科大学・医学研究科・講師(寄  
附講座)  
研究者番号：90372846

内藤 裕二 (NAITO YUJI)  
京都府立医科大学・医学研究科・准教授  
研究者番号：00305575

高木 智久 (TAKAGI TOMOHISA)  
京都府立医科大学・医学研究科・講師  
研究者番号：70405257

半田 修 (HANDA OSAMU)  
京都府立医科大学・医学研究科・助教  
研究者番号：90381970

(3)連携研究者

( )

研究者番号：