



Title	T細胞補助刺激と抗CD3抗体を利用した腫瘍免疫療法に関する研究
Author(s)	岡元, 忠雄
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/44539">https://hdl.handle.net/11094/44539</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	岡 元 忠 雄
博士の専攻分野の名称	博士(薬学)
学位記番号	第 17982 号
学位授与年月日	平成15年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	T細胞補助刺激と抗CD3抗体を利用した腫瘍免疫療法に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 真弓 忠範 (副査) 教授 八木 清仁 教授 前田 正知 教授 山元 弘

### 論文内容の要旨

抗腫瘍免疫機構の中心的役割は腫瘍特異的T細胞によるものであると考えられている。担癌状態において腫瘍特異的cytotoxic T lymphocyte (CTL) precursorは存在するものの、機能的な腫瘍特異的CTLへの成熟はtransforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ )などの免疫抑制物質により阻害されていると考えられている。

今まで臨床の場で主に宿主由来のT細胞やNK細胞を高濃度のIL-2存在下で培養したlymphokine activated killer (LAK)細胞による養子免疫療法が試みられたが、LAK細胞は腫瘍特異的でないため腫瘍組織に浸潤できず、その効果は期待した程ではなかった。

抗原提示細胞(Antigen presenting cell : APC)は、major histocompatibility complex (MHC)分子と抗原ペプチドからなる複合体を形成し、抗原ペプチドを提示する。T細胞がT cell receptor (TCR)を介してこの複合体を認識すると、抗原特異的な第一シグナル(first signal)がT細胞に伝達される。T細胞の最適な活性化には第一シグナルだけでは不十分であり、T細胞補助刺激(costimulation)が必須であることが示された。このT細胞補助刺激の中でも、活性化B細胞やマクロファージなどのAPC上に発現されるB7分子とT細胞上のCD28分子との結合により伝達されるT細胞補助刺激の重要性が詳しく解析されている。CD28分子と相互作用をするB7分子familyには、B7.1分子(CD80)とB7.2分子(CD86)などが報告されているが、ここではそれらを一括してB7分子と呼ぶことにする。

そこで、腫瘍特異的CTL precursorに対して十分なT細胞補助刺激を供与するために、活性化B細胞上に発現したB7分子や抗CD28抗体を利用することを考案した。また、種々の腫瘍抗原の特定やその抗原ペプチドの調製は臨床応用上困難なので、抗CD3抗体を利用することで腫瘍特異的CTL precursorに第一シグナルを伝達できるのではないかと考えた。本研究においては、T細胞補助刺激と抗CD3抗体を利用して、in vivoおよびin vitroで腫瘍特異的T細胞を効率よく誘導・活性化する腫瘍免疫療法について検討した。

T細胞補助刺激分子を発現した活性化B細胞に抗CD3抗体を結合させ、その複合体を担癌宿主に投与することにより、in vivoで抗腫瘍T細胞を誘導・増強するユニークな免疫療法を考案した。活性化B細胞としてLPS blastを使用した。このLPS blastはFc-receptor (FcR)とB7を発現しており、FcRを介して抗CD3抗体が結合できることが示唆された。そして、PEG(polyethylene glycol)処理により抗CD3抗体とLPS blastの結合を強化させた複合体のin vivo投与は、自然発生的に転移巣を形成したメラノーマに対して抗腫瘍活性を示した( $P < 0.05$ )。

次に、担癌状態においては免疫抑制物質が存在するので、免疫抑制物質の存在しない培養系で腫瘍特異的CTL

precursor を機能的な腫瘍特異的 CTL へと成熟させ、養子免疫療法を行うという戦略を考えた。また、養子免疫療法の効果が低い原因の一つは、腫瘍特異的な抗腫瘍エフェクターを短期間で効率よく増殖できる培養システムが確立されていないためであると考えられている。そこで効率的な培養システムの確立について検討した。抗 CD3 抗体、LPS blasts および低濃度 IL-2 を用いて、腫瘍局所リンパ節細胞を効率的に増殖させる培養システムを確立した。本培養システムでは CD8<sup>+</sup> T 細胞サブセットが選択的に増殖した。そして本培養システムで増殖させた腫瘍局所リンパ節細胞と IL-2 投与を併用した養子免疫療法は顕著な抗腫瘍効果を示し、その効果は腫瘍特異的であった。さらに、本養子免疫療法により腫瘍特異的 protective immunity が誘導された。

腫瘍特異的 CTL precursor に対して T 細胞補助刺激を供与するために、活性化 B 細胞の替りに抗 CD28 抗体を利用することを考案した。この方法によつても、腫瘍局所リンパ節 CD8<sup>+</sup> T 細胞が効率的に増殖し、その細胞を使用した養子免疫療法は腫瘍特異的な抗腫瘍効果を示した。

Biological response modifiers の一種である OK432 は、in vivo で抗腫瘍活性を増強すると考えられている。そこで OK432 の投与が養子免疫療法の抗腫瘍活性を増強するか検討した。ここでは悪性の高転移株 B16-F10 メラノーマの癌転移モデルに対する抗腫瘍効果を評価した。その結果、OK432 を注射していないマウスの腫瘍局所リンパ節細胞を本培養システムで増殖させ移入しても抗腫瘍効果は認められなかつたが、OK432 を注射したマウスの腫瘍局所リンパ節細胞を本培養システムで増殖させ移入すると、著しい抗腫瘍効果が認められた。その際、IL-2 の併用無しでも強力な抗腫瘍効果が認められた。悪性の腫瘍に対しても、OK432 の投与と提案の培養システムを組み合わせることにより、強力な腫瘍特異的 T 細胞を誘導・活性化することができる事が示された。これは、OK432 の投与が Th1 型 T 細胞反応性を増強することにより、腫瘍特異的 CTL precursor の成熟を促進することが示唆された。

本研究においては、T 細胞補助刺激に注目し、それを利用して in vivo および in vitro で抗腫瘍 T 細胞を効率よく誘導、増殖できる可能性を検討した。その結果、以下の成果が得られた。

1. T 細胞補助刺激分子を発現した活性化 B 細胞と抗 CD3 抗体を結合させた複合体は、in vivo で抗腫瘍 T 細胞を誘導・活性化し、抗腫瘍効果を発揮した。
2. T 細胞補助刺激を供与できる活性化 B 細胞、抗 CD3 抗体および低濃度の IL-2 を活用することにより、腫瘍局所リンパ節 CD8<sup>+</sup> T 細胞を効率的に増殖させる培養システムを確立した。
3. この CD8<sup>+</sup> T 細胞と IL-2 を併用した養子免疫療法は、腫瘍特異的な抗腫瘍効果を示した。
4. 活性化 B 細胞の替りに、抗 CD28 抗体を利用した培養システムにより増殖させた腫瘍局所リンパ節 CD8<sup>+</sup> T 細胞も、IL-2 との併用で腫瘍特異的な抗腫瘍効果を示した。
5. OK432 の投与は Th1 型 T 細胞反応性を増強することにより、腫瘍特異的 CTL 活性を増強した。
6. OK432 の投与と提案の培養システムを組み合わせた養子免疫療法は、悪性の腫瘍に対しても、IL-2 との併用なしで腫瘍特異的な抗腫瘍効果を発揮した。

以上より、T 細胞補助刺激と抗 CD3 抗体を利用することにより、in vitro および in vivo で機能的な腫瘍特異的 CTL を効率よく成熟・増殖させることができると考えられた。

#### 論文審査の結果の要旨

宿主免疫系が腫瘍細胞を非自己として認識することは困難であるが、その腫瘍細胞を排除する抗腫瘍免疫機構は存在し、この中心的役割は腫瘍特異的 T 細胞によるものであると考えられている。T 細胞の最適な活性化には第一シグナルだけでは不十分であり、T 細胞補助刺激 (costimulation) が必須であることが明らかになった。この T 細胞補助刺激は、APC 上に発現される数種の分子により供与されることが知られている。その中でも、活性化 B 細胞やマクロファージなどの APC 上に発現される B7 分子と T 細胞上の CD28 分子との結合により伝達される T 細胞補助刺激の重要性が詳しく解析されている。

そこで著者は、腫瘍特異的 CTL precursor に対して十分な T 細胞補助刺激を供与するために、活性化 B 細胞上に発現した B7 分子や抗 CD28 抗体を利用することを考案した。また、種々の腫瘍抗原の特定やその抗原ペプチドの調製は臨床応用上困難なので、抗 CD3 抗体を利用してことで腫瘍特異的 CTL precursor に第一シグナルを伝達できるのではないかと考えた。本研究においては、T 細胞補助刺激と抗 CD3 抗体を利用して、in vivo および in vitro で腫瘍特異的 T 細胞を効率よく誘導・活性化する腫瘍免疫療法について検討し、以下の成果が得られた。

1. T 細胞補助刺激分子を発現した活性化 B 細胞と抗 CD3 抗体を結合させた複合体は、in vivo で抗腫瘍 T 細胞を誘導・活性化し、抗腫瘍効果を発揮した。
2. T 細胞補助刺激を供与できる活性化 B 細胞、抗 CD3 抗体および低濃度の IL-2 を活用することにより、腫瘍局所リンパ節 CD8<sup>+</sup> T 細胞を効率的に増殖させる培養システムを確立した。
3. この CD8<sup>+</sup> T 細胞と IL-2 を併用した養子免疫療法は、腫瘍特異的な抗腫瘍効果を示した。
4. 活性化 B 細胞の替りに、抗 CD28 抗体を利用した培養システムにより増殖させた腫瘍局所リンパ節 CD8<sup>+</sup> T 細胞も、IL-2 との併用で腫瘍特異的な抗腫瘍効果を示した。
5. OK432 の投与は Th1 型 T 細胞反応性を増強することにより、腫瘍特異的 CTL 活性を増強した。
6. OK432 の投与と提案の培養システムを組み合わせた養子免疫療法は、悪性の腫瘍に対しても、IL-2 との併用なしで腫瘍特異的な抗腫瘍効果を発揮した。

以上より、T 細胞補助刺激と抗 CD3 抗体を利用することにより、in vitro および in vivo で機能的な腫瘍特異的 CTL を効率よく成熟・増殖させることが出来ると考えられ、今後臨床応用が期待される点、博士（薬学）の学位を授与するにふさわしいものと考える。