

Title	Optimization of cancer immunotherapy using a stimulating couple : chemokine and cytokine-Synergistic anti-tumor activity induced by the combination of CCL27 and interleukin 12
Author(s)	高, 建青
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/45683">https://hdl.handle.net/11094/45683</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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏 名	高 建 青
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 9 4 2 6 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 17 年 3 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学 位 論 文 名	Optimization of cancer immunotherapy using a stimulating couple : chemokine and cytokine—Synergistic anti—tumor activity induced by the combination of CCL27 and interleukin 12 (ケモカインとサイトカインの併用による癌免疫療法の最適化 CCL27 と interleukin-12 の併用による抗腫瘍効果の増強)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 山元 弘  (副査) 教 授 八木 清仁 教 授 松田 敏夫 教 授 土井 健史 助教授 中川 晋作

#### 論 文 内 容 の 要 旨

がん免疫療法においてがん細胞の排除に中心的な役割を果たすのは、細胞傷害性 T 細胞や NK 細胞等のがん細胞傷害性免疫担当細胞群である。がん細胞が排除されるためには、これらの細胞が活性化され腫瘍組織内に浸潤しなければならない。しかし、一部のがん種ではサイトカインの投与により免疫系細胞群が活性化されているにもかかわらず、腫瘍組織には浸潤しないために腫瘍が退縮しないというケースが存在する。これまでにがん免疫療法の最適化を図るにあたっては、例えばサイトカイン等の免疫賦活化剤を免疫系細胞群に効率よく作用させる DDS (Drug Delivery System) 研究が行われてきたが、更なる治療の最適化を図るには、それら免疫系細胞群を腫瘍組織に送達させるための DDS 技術が求められる。がん免疫療法においては、抗腫瘍エフェクター細胞群ががん細胞傷害活性を有することから、それら細胞群は抗がん活性を有する薬物として捉えることができる。従って、DDS の概念からするとがん免疫療法においては、免疫担当細胞群を薬物として捉えた Cell Delivery System とも呼ぶべき新たな概念を導入することで治療の最適化が達成できるはずである。そこで本研究では、活性化された抗腫瘍エフェクター細胞群の体内動態を制御する DDS、即ち Cell Delivery System に基づく新たながん免疫治療戦略の構築を試みた。

Cell Delivery System 研究を行うにあたり本研究では、リンパ球などの細胞遊走に関わっているケモカインに着目した。即ち、腫瘍内にケモカインを発現させることにより、抗腫瘍エフェクター細胞が腫瘍組織へと積極的に浸潤し、効果的な抗腫瘍効果が得られるのではないかと考えた。まず初めに各種ケモカイン発現アデノウイルスベクター (AdRGD) を作製し、それを用いて腫瘍細胞 (OV-HM 細胞) にケモカインを発現させた。その細胞をマウスに移植し、ケモカインによって誘導される腫瘍増殖抑制並びに腫瘍組織へのリンパ球浸潤について検討を行った。その結果、CCL27 発現 OV-HM 細胞を移植した群で顕著な腫瘍増殖抑制が観察されると共に、腫瘍組織内への CD3 陽性細胞、NK 細胞の浸潤が観察された。そこで CCL27 発現 AdRGD を用いてがん治療実験を行った。しかし腫瘍内に CCL27 発現 AdRGD ( $2 \times 10^7$  PFU) を直接投与しても、顕著な腫瘍増殖抑制は認められなかった。本結果は、既に生着している腫瘍に対しては、単に腫瘍内に T 細胞を浸潤させるだけでは十分な抗腫瘍効果が得られないことを示すものであ

る。そこで、免疫細胞を活性化させるサイトカインとして IL-12 を選択し、CCL27 との併用を試みた。IL-12 発現 AdRGD ( $2 \times 10^7$  PFU) を腫瘍内に投与した群では、一部のマウスで腫瘍の増殖が抑制され、7 例中 4 例の完全治癒が認められた。それに対して、IL-12 発現 AdRGD と CCL27 発現 AdRGD を 9 : 1 の割合で混合投与 ( $2 \times 10^7$  PFU) した群においては、腫瘍の増殖が完全に抑制され、8 例中全例が完全治癒した。

次に腫瘍組織内への T 細胞の浸潤について免疫組織学的検討を行った。その結果、IL-12 発現 AdRGD 単独投与群では、CD3 陽性細胞の浸潤が認められたが、CCL27 発現 AdRGD 単独投与群及び両者の併用投与群では、さらに多くの浸潤が観察された。また、併用投与群では、IL-12 発現 AdRGD 単独投与群に比べて多くの CD4 及び CD8 陽性細胞が浸潤していた。続いて、腫瘍組織に浸潤している免疫細胞の活性化状態を推測するため、Perforin の発現を免疫染色法により確認した。その結果、CCL27 発現 AdRGD 単独投与群ではほとんど Perforin 発現細胞は確認できなかったのに対して、IL-12 発現 AdRGD 単独投与群および両者の併用投与群では Perforin 発現細胞の有意な浸潤増加が確認された。また、両群間においては、併用投与群の方が有意な浸潤増加が観察された。これらの結果より、CCL27 発現 AdRGD 単独投与群では多数の免疫細胞が腫瘍内へと浸潤できたのにも関わらず、治療効果が得られなかったのは、浸潤している免疫細胞の活性化が不十分であるためと考えられる。また、IL-12 発現 AdRGD と CCL27 発現 AdRGD の併用投与による抗腫瘍効果の増強は、免疫細胞の活性化とその細胞の腫瘍内への浸潤がバランスよく達成された結果であることが示唆された。

以上、免疫系を活性化させるサイトカインとその細胞を腫瘍組織へ遊走させるケモカインを併用することでがん免疫療法の最適化に成功した。本成果から薬物として働く細胞の体内動態を制御する Cell Delivery System の概念の重要性を提示できたと考える。

#### 論文審査の結果の要旨

がん免疫療法において、がん細胞が排除されるためには、抗腫瘍エフェクター細胞群が活性化され腫瘍組織内に浸潤することで、はじめてがん細胞を傷害することができる。つまりエフェクター細胞がたとえがん細胞を傷害する機能を有していたとしても、腫瘍組織に移行できなければ、その役割を果たすことができない。

そこで著者は、これまでに行われてきた免疫系を活性化させるサイトカイン等を免疫担当細胞群に効率よく作用させる Drug Delivery System (DDS) に加えて、活性化された抗腫瘍エフェクター細胞群の体内動態を制御する DDS、即ち Cell Delivery System に基づく新たながん免疫治療戦略の構築を試み、以下の結果を得た。

1. OV-HM 腫瘍細胞にケモカイン (CCL27) を発現させることで、腫瘍組織内に T 細胞及び NK 細胞が浸潤することを明らかにした。
2. CCL27 発現腫瘍細胞を移植した群では、腫瘍の増殖が抑制されることを明らかにした。
3. OV-HM 腫瘍に対して、CCL27 発現アデノウイルスベクター (AdRGD-CCL27) 単独投与では強い抗腫瘍効果は得られないが、IL-12 発現アデノウイルスベクター (AdRGD-IL-12) と併用投与することにより、各単独投与より強い抗腫瘍効果を得ることに成功した。
4. AdRGD-IL-12 の単独投与に比べて、AdRGD-CCL27 を併用することで、CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞、Perforin 陽性細胞の腫瘍組織内への浸潤が増加していることを明らかにした。

以上の研究成果は、免疫系を活性化させるサイトカインとその細胞を腫瘍組織へ遊走させるケモカインを併用することでがん免疫療法の最適化が達成できることを示したものであり、薬物として働く細胞の体内動態を制御する Cell Delivery System の概念の重要性を提示した。この Cell Delivery System の概念を発展させることで、がん免疫療法において新たな展開が期待され、博士 (薬学) の学位を授与するにふさわしいものと考えられる。