

第23回シスメックス血液学セミナー / 東京会場での質疑応答

4. 悪性疾患を対象とした細胞・遺伝子治療

浅野 茂隆

(質問) 臍帯血移植の場合,HLAの適合基準が緩くてもよいのはなぜですか。

【浅野】 お話の中で分かりにくかったかも知れませんが,なぜGVHDが起こりにくいかということ,基礎的な最近の知見を含めてご説明申し上げました。起こりにくいからHLA2座不一致まではまずは大丈夫だという正式のデッサンでそういうことを言えるくらいだから,まあいいという事でしょう。

説明が悪かったかも知れませんが,そういう事でございます。

(質問) CTL療法で培養細胞を戻す場合,目的とする細胞が得られたかどうかを確認するのに適当な細胞表面マーカーを教えてください。量的にはどの程度必要でしょうか。

【浅野】 実はCTLのアッセイというのは非常に難しいのですね。

通常CD8をポジティブティで見っていく訳ですが,正確には,そのターゲットとする細胞と一緒に培養して,その反応性を見ていくというのが正しいだろうと思います。でもその適切な方法論というのが細胞によってない場合もある,ということで非常に難しい状態です。腎ガンの場合も,私どもでやっている場合もその辺が非常に難しい問題であります。CTLが実際に起こっているのか,というのが非常に困っています。これは結果を見ている訳ですが,実際にその前に,CTLのCD8以外にもっとプリミティブに集めていって,もっと適切なもの,より特異的なものを集める,という今のところしっかりしたCTLのアッセイがございませんので,マーカーについても何も言えない状況です。中にはCD8だけでなく,NK細胞も入ってくる可能性があるという,むしろ,トータルのcellとして考えた方がいいという考え方を持っております。そういう意味

で,CTLというものについては私はCD8以外に特異性を示す,*in vitro*の培養結果以外にはないのではないかと,それ以上また調べる必要もあるまいと。

質問には答えられませんが,今のところマーカーとしてはその程度のものであるというふうに思って頂ければ…。これから,見つかって来る可能性はあると思います。それぞれの腫瘍について,重要なマーカーというのが見つかって来るかもしれません。

(質問)BMTにしてもミトランスプランテーションにしても,生着に必要な環境というのは患者さんの骨髄が血球産生が出来ないほど破壊されているということではなくて(先生は焼け野原という言葉が使われたと思うのですが),あくまでも高度な免疫抑制が効いている状況であることが重要であると考えてよいのでしょうか。木端微塵に破壊されている必要はないということが本当なのでしょう。

【浅野】 昔の考え方は,私も一般の人に説明するのに焼け野原,という言い方をしておりました。要するに,入れた細胞が増殖するスペースがない,と言ってました。ところが最近ではそうじゃない,ということが今までの骨髄移植の経験から明らかになってきました。では,どういう条件があったら生着しやすいのか,ということが次の大きな問題になると思うのですが,もちろんある程度スペースがあった方が生着し易いだろうと思います。

1つは,全部は焼け野原にならなくても生着することは分かって来たけれども,どの程度かはまだ分からない,という事が言えるのではないかと。それから,今ご指摘になりましたように,免疫の条件というのがかなり重要であろうことは,今までの骨髄移植の結果から少しずつ分かって来たと言えるのではな

いか。ただ、これを正確に言っている論文はまだないと思っています。そういうことで、生着の条件で、今言えることは、全部空にする必要性はないということ。それは必ずしも生着の必須条件ではないということだけ分かった、ということです。免疫についてはちょっとまだ正確な、科学的な免疫があれば着くというものではない、と思っています。

【司会】先生、実際に医科研で例の東海村被爆の時に経験されましたよね。前処置で何をやるか、ということで。おそらく焼け野原にはなってるかも知れないけれども、本当にそれで、何もなくていいかどうかということで迷われてATGを使われたという、そういうことでしょうか。

【浅野】 さようでございます。

実は、恐らく当分の間少しは残るだろうと。全部空になっていく前に、通常の前処置とは違って、徐々に空になっていくだろうというプロセスの中で、やらなくてはいけない移植であるということはありません。ですから、一番大事なことはそれで着くだろうという予想はミトランスプラントーションの結果からも、これまでも、研究結果からも期待されるということがわかった。そうしますとGVHDをいかに今度は防ぐか、そして患者さんの方の障害を少なくするかということが大事だったと思います。そういうことで、HGという免疫抑制剤をまず使っていこうと。しかも、これは通常のHGOの使用量じゃなくて、少なくして、これはいろんな先生方のご意見を聞きながら量を決めて、そして期間も決めてやった訳でございます。そして、実際にGVHDでは最大限ということもありました関係上、ほとんど問題なくGVHDで経過していないということでございます。これは、移植後GVHDで起こるべきところで皮膚の反応も出ないし、何も出ない。やがて今度は晩期の放射線障害の影響の方が出て、この方は結局亡くなるんですけども、約3ヶ月か4ヶ月後にそちらの影響の

方が出てしまった、ということがあります。GVHDは実際に起こらなくて済んだということがあって、ATGで達成されたと思ってます。

(質問) 樹状細胞に非自己を認識させて、ヘルパーTに抗原をプレゼンテーションすることにより免疫応答を起こせばガンが治るという理論が、もしそういう事が起これば確かに素晴らしいことだと思うのですが、しかし実際は全部に効いてない。それでは、その原因はどのようところにあるのでしょうか。ガンの中には効くガンもあるし、効かないガンもあるということでしょうか。先生の個人的な意見で結構ですでお教えてください。

【浅野】 おっしゃる通り、私は、すべて一様にガンと言って、1つの治療が全部に効く、ということはあり得ないと思っています。それぞれのガン細胞の免疫原性はご承知のように違う訳です。

例えばメラノーマ悪性黒色腫だったら、非常に免疫原性が強い。私どもがやっている腎ガンの場合も免疫原性が強い、と言われていた訳ですが、そういったガンは効きやすく、いくら樹状細胞をうまく使ったとしても、それ以外のガンはなかなか効かない可能性が強いのだろうと思っております。ガンの種類によって違うだろうと。それからまた個人差も違う、個人差もあるだろうと。樹状細胞でAPCを発現させたとしても、その免疫応答の強さというのは個人が持っている遺伝子によって変わってくる可能性がある、ということがあります。

それからもう1つは病期、ステージですね。疾患のステージによって、この免疫応答の仕方も変わってくるため、それぞれケースバイケースで考えて行かなくてはならない治療だと思っています。ただ、ご指摘のように、この治療法は期待はあるので、だからどういう状況で、どういう条件の時に最もよい結果、というのを調べて行かなくてはならないというこ

と。それと同時に、より通常のAPCの治療法の期待される部分をより拡大する、というか増強した治療法というものが望まれる。それをやらないと出ない場合もあるだろう、ということで、それに遺伝子を加えたものを行いつつある。

質問のお答えとしては全部効くのではないということです。疾患によって違う、個人によって違う。それで、場合によってはこれ以外の治療法も加えていかななくてはいけない、ということが言えると思っています。

【司会】 次は、ミニトランスプラントに関する質問なんですが5つくらいあります。

(質問) キメラ状態になったということは具体的にどうやって解析するのですか。いつ頃完全にキメラになるのですか。

【浅野】 例えば、ドナーとレシピエントのHLAが違っていれば非常にわかりやすい訳です。そういうことで、まずは決められるだろう、ということがあります。その他にも、例えばガン細胞が残っているかどうか、ということがありますね。それでガン細胞のマーカーがあれば決められていく。その他にもいろんな、まだこれは十分にやられていると思いませんが、いわゆるクローン解析も考えられる。実際的にはやはりHLAの違い、というものが主体になってくると思っています。

(質問) 急性GVHD、慢性GVHDが起こった場合、これは免疫抑制剤を使う訳ですが、先程先生はスタンフォード、シアトル等約50例くらいのミニトランスプランテーションの成績をお話になりましたけども、日本ではいかがでしょうか。今までどのくらいで、どこでやられているのでしょうか。

【浅野】 僕もよく知らないですけども・・・全部まとめた成績は、国立ガンセンターで今やられようとしてるし、それから各血液の専門のあるところ、骨髓移植のセンターとして頑張っておられる施設、齋藤先生の所も含めて、やられるのではないかな、と思っています。私

どもも、まだこれから解析して、どの部分を用いてどの様な前処置を選んで、どのような疾患を主に対象とするか、ということを検討しながらプロトコルを作っている段階です。多くの場合はそういうところじゃないかな、と思っております。後は、やはり欧米の方が進んでいます。欧米の方の成績について、今日は代表的なものを出しましたが、ヨーロッパの方でも一応進みつつあると。そのデータは、まだ解析には充分な役に立ってないと思いますけども、恐らく来年には出て来ると思いますね。

(質問) ミニトランスプランテーションで、先程の先生の外国の例では末梢血幹細胞を使っておられましたが、臍帯血移植は使えるのでしょうか。GVHDが少ないから都合がいいのではないのでしょうか。

【浅野】 将来的にはそういうこともあるかも知れませんが、臍帯血移植、それ自身も、私どもでやっているのは特にアダルトの場合で、アダルトの方をやっていること自体がかなり難しい臨床試験でありますし、それにミニトランスプランテーションの方もまだ分かっていないもので、両方の臨床研究が重なってしまうと何を見ているのか結果が出せなくなるといことです。確かに期待は、GVHDが少ないと思いますけども、つまりDLTより効果的に使える、という形ではいけるかも知れませんが、今のところ2つ同時には出来ないだろうと。

もう一つ重要なことはDLTは、ドナー細胞を用いた、移植される細胞と同じものを使っていきますので、これは、臍帯血の場合には同じものを使うことは非常に困難だろうと思います。工夫によってはできるかも知れませんが。

【司会】 今の質問は、DLTではなくミニトランスプラントに臍帯血を使う、という事なんですが。

【浅野】 私どもがミニトランスのプラントをや

る場合に、DLTが1つの、ガンの場合は特にそうなんですけども…。出来ない訳ですね。可能性はあるかも知れませんが。

【司会】 丁度、時間となりました。浅野先生、今

日は非常に優れたオーバービューと、ご自身の、医科研の体験を伺いまして、大変迫力あるお話で本当にありがとうございました。

(拍手)

[後日ご回答をいただいた質問]

【質問】 <骨髄移植について>

臍帯血の採取方法、保存方法、利用期限を教えてください。臍帯血移植の場合、通常の移植よりもHLAの一致率が低くてもよいのですか？

<遺伝子治療について>

患者の細胞を採取してから(培養等の過程を経て)投与するまでどれくらいの期間がかかるのですか？

【回答】 <骨髄移植について>

採取法：健常新生児から臍帯を切断した直後で胎盤が娩出する前に産婦人科医が臍帯血管からシリンジによる吸引で採取する方法と、母親から娩出され運ばれてきた胎盤臍帯の臍帯血管から重力落下法や還流法で採取する方法があります。いずれの場合も、採取前には母親からインフォームドコンセントを得、採取のすべてのステップは無菌的に行い、また、記録を残すことを忘れてはいけません。

保存法：採取後24時間以内に、赤血球を除去し凍害保護剤DMSO添加(5~10%)細胞保存液中に一定有核細胞濃度でプログラムフリーザーで凍結し、液体窒素中に保存します。高品質臍帯血細胞の確保のために、以上の操作のための基準が厚生省によって定められており、それに沿って行うことが求められています。

使用期限：液体窒素中に保存された細胞の機能は、理論上何年たっても変化しません。したがって、認められた基準に沿って安定した状態で保存管理され続けている限り、使用できる期間は限定されません。

臍帯血T細胞では未熟型T細胞の比率が高いことが主な理由で、HLA不一致が原因のGVHDは起り難くなっています。実際に、重症急性GVHD発症頻度は骨髄移植時の約半分であることがこれまでの実施例から分かっています。したがって、骨髄移植ほどにはHLAの一致は要求されないわけです。

<遺伝子治療について>

我々の臨床研究プロトコールではおよそ2ヶ月くらいは要しています。検査をわざわざ米国に送って行くのではなく、国内で行えるようにすれば、恐らく1ヶ月くらいに短縮できると思います。

【質問】 現在臍帯血移植は一定体重以下の小児及び、低体重の成人に限られています。造血幹細胞の培養により小児ばかりか、成人にも可能となると思いますが、培養に際してはどのような問題点があるのでしょうか？また、いつ頃成人にも可能となるのでしょうか？

【回答】 当初しばらくの間の対象は、確かに小児(低体重の患者)に絞られていました。しかし、採取技術が向上しデータも蓄積されてくるにつれ、一定数($1.5 \times 10^7 / \text{Kg}$)以上の移植有核細胞が確保できれば成人でも安全に行えることが分かってきております。また、最近では移植後の血球回復までの期間の患者ケアを慎重に行えるから、それよりもやや細胞数が少なくても成功する確立は低くないこともいくつかの施設で報告されるようになってきました。そんなことから必ずしも臍帯血移植は小児(低体重)に限られるものではないと私は考えております。もちろん、もし造血幹細胞が培養によって増幅できるようになれば臍帯血

移植がさらに広く成人に適応されるようになる訳ですが、ご指摘のように、多くの研究者が盛んにこの増幅法を研究しているにもかかわらずなかなか実現しません。その理由は、簡便な幹細胞増幅因子測定法がないこと、そのために幹細胞自己複製機構が未だに不明であり真の幹細胞増幅因子は発見されていないこと、これまでに単離されてきた増殖因子等を種々工夫して用いても確実に増幅していることを示唆するデータが得難いこと、が挙げられます。さらに、複数の増殖因子等の組合せが有望であることが示唆されても確

かではないし、また、これら因子の権利を有する企業が異なるために臨床試験までもっていくにはかなりの努力が必要で、そこまで努力する価値もないと考えてしまう。このような状況ですから、いつ可能になるかというご質問には、なんとも応えられません。いずれにしてもこれまでの成人幹細胞についての研究だけでは幹細胞増幅は大変難しい課題でありますので、私自身はブレークスルーにもなる胎児幹細胞やES細胞を用いた基礎研究の今後の進展に期待しております。