

第29回 シスメックス血液学セミナー／質疑応答

3. 白血病に対する細胞免疫療法

安川 正貴

【司会】 安川先生，WT1，それから，TERTを標的とした最新のペプチドワクチン療法を詳しく分かりやすく解説いただきまして，ありがとうございます。

それでは早速ですが東京会場からの質問を読ませていただきますので，安川先生，お答えをお願いします。正常CD34陽性幹細胞でも，WT1蛋白発現が報告されていますが，それに対する免疫反応は，免疫療法において起こることがあるのでしょうか。また，正常CD34陽性幹細胞で，免疫反応が起こった場合，それに対して記憶されるのでしょうか。

【安川】 非常に重要なポイントをご指摘いただいたと思います。正常のCD34陽性の骨髄幹細胞を取ってきて，WT1特異的なT細胞と十分な時間接触をさせて，その増殖能を見ました。これはcolony formationなので，本当に幹細胞を示しているのかどうかは，なかなか結論づけては言えないかもしれませんが，少なくともcolony formationで見ると，抑制は全く示さなかったということが一つあります。

もう一つは，これは我々のデータではありませんが，マウスでWT1特異的なCTLを*in vivo*で誘導した場合に，そのマウスは全く健康で，骨髄の機能不全も，腎障害も起こらないということが証明されています。CD34陽性の幹細胞に，確かにWT1の発現があることは事実ですが，その発現量が比較的少ないということが一つです。

さらには，おそらく，正常の細胞はがん細胞に比べて，CTLの攻撃から保護できるような機構を有しているのだらうと思います。そのような理由で安全であるということは確認しています。

それから，先ほどの腫瘍細胞の感受性というのは，一般的にT細胞レセプターと結合するHLA分子の発現量とその標的抗原の発現量で決定されるというのが一般的な考え方で，それは紛れもない

事実であると思います。我々はそれ以外に膜の感受性の違いと，特にパーフォリンに対する感受性の違いが，正常細胞と腫瘍細胞の間にあるというデータも持っています。そのような違いによって，正常の幹細胞は，WT1特異的なCTLの攻撃から免れるのであろうと考えています。

【司会】 ありがとうございます。各会場からも質問があるようです。シドニー会場，名古屋会場，神戸会場の順に，よろしくをお願いします。

【シドニー会場】 二つ質問があります。実践的なプレパレーション，生成について，ペプチドワクチンの詳細を教えてください。動物モデルで，どのようにプレパレーションを行うのかを教えてください。

【安川】 ペプチドの作成については，WT1のアミノ酸配列から，それが結合できると予想されるペプチドを同定できます。それを合成して，使うわけです。患者さんには，非常に純粋な状態でなければ使えないので，詳細は知りませんが，非常に純度の高いペプチドを合成して，それを患者さんに投与しています。

【シドニー会場】 二つめの質問です。ワクチンの力価を上げることによって，がん細胞の持っている免疫エスケープを回避することは可能でしょうか。

【安川】 ワクチンの量を増やすことによって，多少，体の中のT細胞の量を増やすことは可能かもしれませんが，しかし，腫瘍細胞の表面からHLA分子が消えると，幾らT細胞を増やしても効果は期待できません。したがって，もしも腫瘍細胞の表面にHLAが発現されていないと，幾ら投与量を増やしても効果は期待できません。他の方法を考えるべきだと思います。

【名古屋会場】 名古屋会場から質問があります。WT1ペプチドによって，副作用は出ていないのでしょうか。

【安川】 今回の第I相臨床試験では，局所の発赤のみ

で、発熱や全身倦怠感、骨髄抑制などは全く認めていません。局所の反応に関しては、反応が強い人と、それほど強くない人がいます。最初は、発赤が強い人は有害事象として考えていたのですが、数を増やしていくと、局所がはれる人のほうが、CTLのモニタリングで誘導が起こっていることが分かりました。したがって、局所の反応も、生体の免疫応答の一つを見ているのだらうと考えています。他の有害事象は全く認めていません。

【名古屋会場】 ありがとうございます。

【神戸会場・内山】 WT1のペプチドで症状がよくなったMDSの患者さんに関する質問です。症状がよくなったのは、MDSのクローンが何らかの形で修飾されたために、そのMDSクローンに由来するヘモグロビン、血小板が増えたことによるものでしょうか。それとも、MDSクローンがたたかれて、正常の造血が少し回復したためによくなったと考えられるのでしょうか。

【安川】 一番大事な点だと思います。「分からない」というのが答えですが、我々の考え方としては、患者の骨髄はほとんどMDSのクローンで置き換わっているのだと思います。その中で非常にWT1の発現が強いクローン、たぶんプラスだと思えますが、それがその中に加わっていると、それが何らかの抑制的な効果で、細胞の数を減らしている。そのWT1の発現が特に強く、抑制的な機能を持っている細胞を、CTLが抑制することによって、ヘモグロビンや血小板が増えたのではないかというメカニズムを考えています。したがって、正常なクローンがどんどん増えてきて、置き換わっているわけではないと思います。現に、ヘモグロビンも7.5g/dLぐらいまでですし、血小板も2～3万を推移しているのです。そのようなメカニズムを考えていますが、その証拠は持っていません。

【神戸会場・内山】 ありがとうございます。

【名古屋会場】 名古屋からもう一つ質問があります。何かしらの治療、例えば抗がん剤投与やラジオ波治療を受けていたとしても、今回の治療法で効果を得る可能性はあるのでしょうか。

【安川】 これはフェーズIスタディであり、その目的は有害事象があるかどうかの検証です。この時点

で有害事象がないと分かったら、次のフェーズII、本当に効果があるかどうかのスタディに入っていきます。したがって、放射線治療や他の抗がん剤治療を受けている患者は、このスタディには入ることができません。そういう治療でも治癒できなかった、効果を期待できなかった患者さんがここにエントリーできます。では、そういう人に効果が期待できるかどうかというご質問ですが、我々は効果を期待してやっています。従来の抗がん剤治療や放射線治療とは全く機構が違うので、そういう患者さんにも効果は期待できるということでやっています。将来的に、このような免疫療法がどういう位置づけになるかは、しっかり考えていかなければいけないと思います。最初に門脇先生からもご指摘があったと思うのですが、体の中に腫瘍量が非常に多い患者さんに、こういうことをやって治癒を期待しようというのは、やはり無理があると思います。したがって、なるべく腫瘍量を減らして、最近cancer stem cell, leukemic stem cellという概念がありますが、そのstem cellを免疫療法でたたけば、非常に効果が期待できるのではないかと、我々は期待してやっています。

【名古屋会場】 ありがとうございます。

【司会】 シドニー、名古屋、神戸の各会場、ありがとうございます。ところで、がんの免疫療法は、リンパ球療法に始まり、サイトカイン療法、それからサイトカイン遺伝子治療と変遷してきたわけですが、いずれもおよそ十数%程度は臨床的な有効性は見られてきました。そのような中で、大きな期待を受けながら標的がいよいよ抗原に移ってきたわけですが、ここで、現時点までの結果からでよいのですが、何か抗原標的の方がよさそうだという感触はありますか。まだ症例数が少ないので、明確には言えないと思いますが、何か特徴的な免疫応答を掴んでおられたらお教えください。

もう一つの質問は、腫瘍性幹細胞とがん特異抗原、いわゆる胎児性抗原の関連についてです。これらの抗原発現の様相は腫瘍性幹細胞と正常幹細胞で本質的あるいは表現上の違いは存在するので

しょうか？いずれもがん免疫療法を開発していく場合には答えなければならないような基本的に重要な知識でしょうが、現在までにわかってきたことをお教えてください。

【安川】一つめですが、我々がやっているWT1とかTERTを比較した経験がないので何とも言えません。皆さんご存じだと思いますが、WT1に関しては阪大の杉山先生のグループもやられています。ドイツもやられていますし、世界中で非常に注目されて、臨床試験が進行中です。施設によって、かなり効果の違いはあります。我々は客観性のある評価をしているつもりですが、印象としては、WT1はがん標的分子としては非常に優れているものの一つであろうという認識です。これは他のグループも同じ意見だと思います。その期待度には、多少は差があるかもしれませんが、少なくとも私自身は非常にいい標的抗原であると思っています。TERTについても、他のアメリカのグループが臨床試験をやっていますが、十分期待できるような標的分子であろうという認識です。

二つめはstemの話ですね。これはやはり、我々は考え方を変えていく必要があると思います。leukemiaも、我々がやっているのは、末梢血に流れている、もう放っておいてもアポトーシスで死んでしまうような標的細胞を使った実験系で満足しているわけですが、それではだめだと思います。

今やっているのは、新たな免疫不全マウスで、それを使って、cancer stem, leukemic stemの系が組めるようになってきました。その実験系を使って、おおもとのleukemic stem cellを特異的に殺傷できるような免疫療法を開発したい、*in vivo*でその効果を証明できるような系を作らなければいけないと考えています。そして、おそらく近い将来には、cancer stemを識別するような分子が同定されるでしょうから、それを標的にしたCTL療法をやろうとしています。

昨年ASH (American Society of Hematology)で、CLL1というものがleukemic stem cellのマーカーになるのではないかと聞いたので、私はすぐにCLL1に対するCTLを誘導しようとしました。しかし、我々の実験結果では白血病細胞

にCLL1の発現があまり認められなくて、中断している状況です。

【司会】私自身は、腫瘍性幹細胞ではHLAクラスIが消えてしまうとか、あるいはその存在でT regが誘導されてしまうということが、がん免疫治療を困難にする一つの要因であろうかと考えています。それに関して無視できないのが生体内におけるストローマ細胞との関係ではないかと思っているのですが。そのあたりを同時に分子レベルで検出する検定系が必要なような気がします。いかがでしょうか。

【安川】ちょっと適切な答えではないかもしれませんが、がん免疫も、がんそのものを標的にするのではなくて、周りの栄養血管とか、がんの特異的な周囲の微小環境を破壊することによって、兵糧攻めにあわせて、免疫の力でがんを殺してしまおうという考えがあります。最近、動物実験でそういうデータも出てきています。したがって、もう一つの考え方として加えていくのは、必要なことだと思います。

【司会】これからのがん免疫療法で標的抗原を明確にしたアプローチが大変重要であることを安川先生は明確にお示しになったと思うのですが、他の会場の方々、他に質問やコメントはありませんか。ご講演なさった先生方も、どうぞご自由にご発言をお願いします。

【質問者・門脇】免疫モニタリングで効果があった症例だけELISPOTの結果を出されましたが、他の症例は効果と相関はありましたでしょうか。

【安川】相関というのは、数字的には出していません。Nが少ないので、印象ですが、全然効果がないPDの方からは、あまり誘導がかからなかったというケースのほうが多いです。少なくとも、全くCTLのアッセイで効果がなかった人は、臨床効果も全く認められなかった傾向にあります。それをきれいにデジタル化するのは、まだできない状態です。

【門脇】例えば腫瘍量の違いなど、免疫反応が見られた症例と見られなかった症例の違いを見分けるについての先生のお考えはありますか。

【安川】一つは、フェーズ1なので、全身に転移した患者さんがほとんどです。肺癌で、脳に転移した

人や体の中の腫瘍量が非常に多い人は、難しいです。前立腺癌などもそうですが、全身に転移をしていて、腫瘍量の多い患者さんは、印象としては非常に効果が悪いです。したがって、担がん患者さんの免疫抑制的なものをクリアしないと、かなり進んだ患者さんに対しての効果は、期待できないであろうという印象を受けています。

【司会】 門脇先生，安川先生，ありがとうございました。福岡会場から質問があるようです。福岡会場，どうぞ。

【福岡会場】 WT I ペプチドワクチン投与後のテトラマー・アッセイに関して，*in vitro*において再刺激で検出されていましたが，再刺激なしでは検出されないのでしょうか。また，テトラマー陽性CD8のパーフォリンの含有量はどの程度なのでしょうか。

【安川】 非常に重要なご指摘だと思います。分離して直接やったのでは，非常に染まりが悪いというか，頻度が非常に低いです。

もう一つは，我々の労働力も限られていますので，すぐに分離して，テトラマーのアッセイを外来患者さんで行うのが時間的に難しいのです。したがって，一度，凍結して，それを融解してアッセイに使わざるを得ないという状況があります。我々の経験からすると，一度，凍結してしまうと，やや染色の程度が低下することもあり，我々のところでは*in vitro*で再刺激をして，テトラマー・アッセイをしています。

それから，実際に患者からそのように誘導され

るようなCTLの機能があるのかどうかということですが，一部の患者からWT1に特異的なテトラマー陽性のラインを長期的に培養して，その機能を見えています。十分にパーフォリンも出ていますし，パーフォリン依存性の細胞障害活性も発揮できることを確認しています。

【福岡会場】 どうもありがとうございました。

【司会】 ペプチド療法では，そのペプチドが細胞表面表質抗原でない場合には効果が少し現れにくいということはあるのでしょうか。

【安川】 私は専門家ではないのでよく分かりませんが，膜蛋白でないと効率が悪いということは，ないと思います。WT I は，ご存じのように転写因子なので，これは桑名先生のお話と絡むかもしれませんが，それが効率的に構成されて発現されるかどうかというのは，その発現場所よりも，その分子構造やHLAの種類によるのではないかと思います。

【司会】 プロセッシングのところはよいのですが，エフェクターサイトではCTLが攻撃しにくそうだという感じを素人的には考えるのですが。

【安川】 それはあくまでも，ペプチドとして，中でプロセスされたものが表面に出てくるので，あまり関係ないと思います。

【司会】 どうもありがとうございました。もう時間が参りましたので，このあたりで質問を打ち切りたいと思います。それでは安川先生，長い時間，どうもありがとうございました。

【後日ご回答をいただいた質問】

【質問】

- 1) 新鮮急性白血病細胞(患者から採取された Leukemia cell)にHLAクラスⅡが発現しているとのことですが、クラスⅡ発現が白血病の発症や進展にどのようにかかわっているのでしょうか。
- 2) Acute Myeloid leukemia (HLA-A24陽性)患者の白血病細胞がG-CSFに反応性の場合、G-CSFを投与して末梢血中に白血病細胞を誘導してWT-1ワクチン療法を行ったご経験はおありでしょうか。また、その結果はどうだったのでしょうか。

【回答】

- 1) 大変重要なお質問ですがHLAクラスⅡ発現の白血病発症・進展における意義は不明です。HLAクラスⅡ陰性急性白血病の多くは、急性前骨髄性白血病(APL)ですので、分化傾向がある白血病は陰性になる傾向があります。
- 2) 残念ながらこのような経験はありません。樹状細胞を活性化させる目的でGM-CSFをワクチンと同時に投与することがありますが、我々の臨床試験では行っていません。

【質問】 治療効果のみられたMDS症例においてHbの改善が見られたときから、形態学的変化は見ら

れたのでしょうか。また、染色体異常の変化はどうだったのでしょうか。

【回答】 本症例は再生不良性貧血から移行したMDS(RA)ですが、形態異常はあまり明らかではありませんでした。また、染色体異常も認められませんでした。

【質問】 白血病治療中には、尿中にどのような細胞が出現する可能性があるのでしょうか。

【回答】 尿路感染症や出血などの合併症がない限り、尿中に細胞が出現することはありません。細胞ではありませんが、尿酸値が高い時には、尿酸結晶が認められることがあるかもしれません。

【質問】 日本では、AML患者に対する細胞免疫療法で、完全に寛解した例は、これまでに無いのでしょうか。

【回答】 ご質問の細胞免疫療法をペプチドワクチン療法と理解して回答いたします。大阪大学でMDSから移行したAMLに対して行ったWT1ペプチドワクチン療法で劇的な効果があったことが報告されています。Int J Hematol: 78 (1) July, 56-61, 2003