 特集 癌との戦い

順天堂医学 40(4)
p. 413~416 (1995)

バイスペシフィック (抗体) を用いた 悪性脳腫瘍の免疫療法**

Application of immunotherapy for glioma to aid surgical treatment

講演者 新 田 泰 三*¹⁾

TAIZO NITTA, M. D.

座 長 奥 村 康*²⁾

Ko OKUMURA, M. D.

奥村教授 次の演者は新田先生です。防衛大学校を卒業されました後に順天堂に来られました。石井昌三先生の主宰された脳神経外科に入局され、一時私どもの免疫学教室に免疫学の基礎を習いに来られました。その後、Stanford 大学の神経免疫学・遺伝学の教室に留学されました。帰国後、脳神経外科の講師をして居られます。

演題を「癌の分子免疫学療法」と致しましたが、これは脳外科の補助療法として受けとめて戴きたく存じます。免疫療法には余りサクセスフルなものは御座いませんが、新田先生と熊本大学のそれは別のようで、日本では高く評価されております。新田先生の性格は少々アグレッシブですが、ともかく、癌の免疫療法では臨床家として最先端の仕事をしておられます。では、新田先生にお願い致します。

新田講師 BCG, PSK 等を用いて担癌患者の免疫力を非特異的に高める治療法に代って患者自身のリンパ球を用いた特異的免疫療法である養子免疫療法が注目されてきている。Rosenberg らの LAK 療法は、臨床応用上種々の欠点があった。つまりキラー細胞一個当たりの活性が不十分であること、標的特異性に欠けることである。LAK 療法の欠点を補うのがバイスペシフィック抗体である。つまり、キラー活性を抗体の力で高め、且つ標的癌細胞とを架橋せしめることが可能であるからである。BS 抗体を悪性脳腫瘍患者に投与したところ、コントロールに比較して 3 倍の 5 年生存率が得られた。

癌に対する免疫療法の歴史

1980 年代後半より悪性腫瘍に対する特異的免

疫療法として担癌患者の末梢血 (PBL) より採取したリンパ球をインターロイキン 2 (IL-2) で活性化させ再度生体内に注入する、いわゆる LAK (lymphokine-activated killer) 療法が注目されてきた (図 1)。これは従来より行われている PSK, OK-432, BCG といった、担癌宿主の免疫力を高めることにより“異物”である腫瘍細胞を排除しようとする非特異的免疫療法とは異なり、宿主のリンパ球のキラー活性を高める。能動的免疫療法として評価されたからである¹⁾。この LAK 療法は、自己のリンパ球を体外で強力なキラー細胞にして戻すことより養子免疫療法の代表とも言える。し

* 1) 順天堂大学医学部脳神経外科学講座

Department of Neurosurgery, Juntendo University School of Medicine, Tokyo, Japan

* 2) 順天堂大学医学部免疫学講座

Department of Immunology, Juntendo University, School of Medicine, Tokyo, Japan

** 第 270 回順天堂医学会学術集会 (Sept. 8, 1994. 開催)

[Jan. 9, 1995 原稿受領]

かし、基礎実験から臨床治験に移行して種々の問題が浮上してきた。まず第1にLAK療法の創始者であるローゼンバークらのプロトコールに基づく注入に必要なLAK細胞は $10^{10} \sim 10^{11}$ 個、インターロイキン2は 18×10^5 Uと膨大な量であり、担癌患者末梢血よりかくも大量のリンパ球数を体外で培養し、確保することが容易でない。また大量のインターロイキン2の静脈投与に伴って、いわゆる血管漏出症候群がほぼ全例で出現しているからである。これはインターロイキン2の血管内皮細胞に対する一次的な作用、つまり血管透過性の亢進に伴い脳浮腫、肺水腫、低血圧を示すものである。事実彼等のデータによると脳浮腫のため約半数の症例で意識傷害が出現している。これらの副作用が発現する背景には2つの問題点がある。つまり、大量のインターロイキン2を用いなければLAK細胞が有効な殺細胞効果を示さないこと、またLAK細胞が目的とする細胞まで到達し、細胞接着しうる能力が不十分であるからである。そこでLAK療法の有用性を得るために私たちはバイスペシフィック抗体 (bispecific antibody; 以下BS抗体)を考案した。

バイスペシフィック抗体とは

BS抗体は、2つの異なった抗原決定基を認識する、化学的方法または細胞融合法（この場合にはクアドローマと呼ばれる）によって作製された合成抗体である（図2）。1985年Staerzらが、T細胞においてCD3抗原やT細胞抗原レセプター（TCR）が細胞障害活性のトリガー分子であることに注目し、抗CD3もしくは抗TCRモノクローナル抗体（mAb）と抗標的細胞mAbとを化学的に結合したBS抗体をT細胞に添加することにより高い殺細胞効果が増強されることを明らかにした。CD3複合体はg, d, e鎖が非共有結合したものから構成されており、T細胞抗原レセプターと緊密な関係にある。つまりCD3は抗CD3 mAbと結合することにより、フォスファチジルイノシトールの加水分解に引き続き細胞内遊離 Ca^{++} 濃

度を上昇、ジアシルグリセロールの合成、プロテインキナーゼCの活性化を来す。ついで二次シグナル（インターロイキン1, 単球等）の存在下で分裂、増殖していくわけである。またCD3抗原が変調1インターロイキン2受容体（IL-2R）が出現し、キラー細胞へと分化する。しかし、標的細胞破壊の為には標的細胞とT細胞とを架橋することが必要であり、腫瘍細胞を特異的に認識する抗体がこの役目をするわけである。化学的作製法については図3のように両方のF(ab')₂をDTT (dithiothreitol) で還元しFab-SHとする。この状態ではきわめて不安定で酸化しやすく、抗体内で他のSH基と容易にS-S結合を生じてしまう。そこで一方のFab-SHにDTNBを加えると安定的なFab-S-NBとなる。そこでFab-SHとFab-S-NBとを等量モル数反応せしめると、-S-NBとS-Hの反応が安定かつ速やかに生じるわけである。このDTNB法によりHPLCゲルクロマトグラフィーで70~80%の合成効率、しかもスラブ電流泳動（SDS-PAGE）で100~110kDaのF(ab')₂モノマーであることが明らかであった²⁾。

LAK活性に及ぼす影響

BS抗体のLAK細胞に及ぼす作用の検討を行った。BS抗体を臨床応用する際にエフェクターとしてLAK細胞を用いる場合の、培養時期、トリガー分子の問題を解決しなければいけない。末梢リンパ球よりLAK活性を誘導する際のIL-2濃度であるが、今までLAK活性は100~1000U/mlで容量依存性にキラー活性が得られると考えられてきたが、BS抗体が存在すると1000U/ml以上ではむしろ低下し、100U/mlまでキラー活性はインターロイキン2濃度依存性に増加してくることがわかった。次いで、LAK活性は培養3~7日でピークになりその後は低下すると言われてきた。そこで、5週まで長期培養し、1週毎のLAK活性とBS抗体存在下でのキラー活性を比較検討した。従来の報告通り1週間目で活性は最大となりその後一度低下するも3週間で回復してきた。

いずれの時期においても、LAK 活性に平行して、バイスペシフィック抗体を用いれば、キラー活性を増強し得るが、培養1週間目のLAK細胞を用いるのが最も効果的と考えられた^{3, 4)}。

バイスペシフィック抗体の癌治療

1988年より、米国国立癌研究所のSegal D. M.とともに我々は、BS抗体を用いた養子免疫療法をSpecific targeting therapy (STT)とし、当教室において手術を行った悪性グリオーマ患者に投与を行った。悪性グリオーマと組織学的に診断された患者の開頭手術後に、頭皮下に腫瘍腔と交通するオンマヤー管を留置し、患者の術後回復を待つて、ベットサイドで23~25Gの翼状針を用いLAK細胞+BS抗体を注入する方法を取っている(図4)。臨床治療開始後6年が経過するが、STTを試みた45症例では図5のように約50%に生存を認めており、コントロールの非治療群(N=45)では5年生存率が約18%であることよりSTTの有用性が示唆された⁵⁾。しかし4例の再発悪性グリオーマ症例に於ては3例がSTT無効であり、腫瘍抗原の抗原性の変化、全脳へのグリオーマ細胞の浸潤による、局所養子免疫療法の限界が推察され今後解決されるべき問題である。当初期待されたほどの治療効果が得られず疑問視されつつあった養子免疫法であるが、BS抗体を用いることによりキラー活性を高め、かつ腫瘍細胞に対する特

異性を亢進しうることより新しい治療法として期待が待たれるところである。

文 献

- 1) 新田泰三悪性腫瘍に対する養子免疫法の歴史と展望. 脳神経, 44: 605-613, 1992
- 2) Nitta T, Yagita H, Azuma T, et al: Bispecific F(ab') monomer prepared with anti-CD and monoclonal antibodies is most potent in induction of cytotoxicity of human T cells. Eur J Immunol, 19: 1437-1441, 1989.
- 3) 新田泰三: バイスペシフィック抗体によるLAK療法の増強. Annual Review 免疫, IV: 301-309, 1990.
- 4) Nitta T, Nakata M, Yagita H, et al: Interleukin-2 activated T cells (T-LAK) express CD16 antigen and are triggered to target cell lysis by bispecific antibody. Immunol Lett, 28: 31-38, 1991.
- 5) Nitta T, Sto K, Yagita H, et al: Preliminary trial of specific targeting therapy against malignant glioma. Lancet, 355: 368-371, 1990.

奥村教授 どうも有り難う御座いました。質問もあるかと存知ますが、学内の者で御座いますので、いつでも捕まえて御質問戴きたいと思います。

図1 LAK療法の原理

図3 BS抗体の作製法 (DTNB法)

図2 BS抗体の原理

E: キラー T 細胞 T: 標的腫瘍細胞

図4 悪性グリオーマ患者の平均生存率の比較