

エフェクター細胞を用いた肺癌の免疫療法

楊 河 宏 章

徳島大学医学部第三内科学教室

(平成11年3月15日受付)

Biological therapy with host effector cells against lung cancer

Hiroaki Yanagawa

Third Department of Internal Medicine, The University of Tokushima School of Medicine, Tokushima

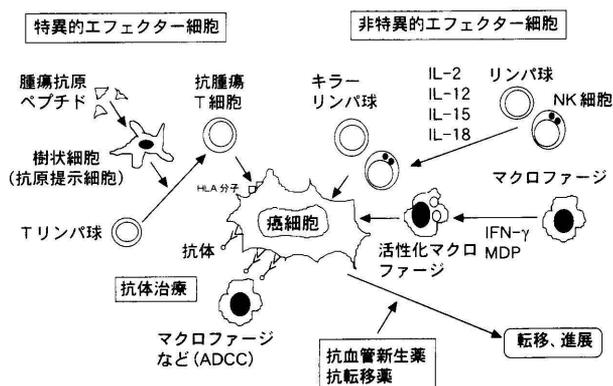
はじめに

肺癌による死亡者数は今なお増加を続けており、その治療法の確立が望まれている。特に非小細胞癌では早期診断、早期手術の意義が強調されるが、実際には全身に転移を来たした状態で診断されることが多い。さらに現在の手術成績は、原発巣はたとえ制御しえても多くの場合手術時点ですでに臨床的にはとらえられない転移が存在することを示唆している。結局肺癌は局所的疾患というよりは全身的疾患として対処されるべきと考えられ、治療戦略としては全身療法の意味が大きい。しかし代表的な全身療法である化学療法の非小細胞肺癌に対する治療成績は今なお不良であり、1990年代後半に至り新規抗癌剤の登場によりやや向上が見られるとはいえ生存期間中央値は1年に満たない¹⁾。そこで全身化した肺癌を制御するため、生物学的治療の精力的な検討が行われている。本稿では肺癌に対する生物学的治療の現状を、我々がこれまで検討してきたエフェクター細胞を用いた治療法を中心に概説したい。

1. 生物学的治療とエフェクター細胞

生物学的治療は腫瘍細胞の生物学的な性質を応用し、主に腫瘍細胞と宿主細胞との相互反応を修飾することにより治療効果を目指す方法と考えられ、癌の浸潤や全身への転移が標的となる。その方法としては腫瘍に対する生体の免疫反応を応用したいわゆる免疫療法や、近年注目されている遺伝子治療、また抗血管新生療法、抗転移

図1. 生物学的治療の概念



療法などの治療を含む概念である。想定される生物学的治療のなかで、我々は、ある種の刺激により癌に対する抗腫瘍活性を発現するリンパ球などのエフェクター細胞を肺癌の治療に応用することを試みている。エフェクター細胞には、癌細胞の表面に存在するいわゆる癌抗原を認識する抗腫瘍T細胞、つまり特異的エフェクター細胞と、癌抗原の認識によらずに腫瘍細胞を破壊する非特異的エフェクター細胞が考えられている (図1)。

2. インターロイキン-2を用いたキラーリンパ球の誘導による肺癌治療

リンパ球はinterleukin (IL)-2のようなサイトカインで活性化されキラーリンパ球となり、癌抗原の認識によらず腫瘍細胞に対して抗腫瘍活性を発現することが知

られている。一般に担癌状態では種々の免疫機能が低下することが知られているため、肺癌に対するIL-2を用いた治療の前提としてまずin vitro条件での検討を行った。IL-2の末梢血リンパ球に対する活性化能は遠隔転移を有する肺癌患者であっても保たれていること、肺癌の進展局所である癌性胸膜炎による悪性胸水に含まれるリンパ球もIL-2による刺激により抗腫瘍活性を発現することを確かめた^{2,3)}。

臨床治療としては肺癌に合併することが多い癌性胸膜炎を対象とした。癌性胸膜炎は呼吸困難などの重篤な症状を引き起こし、肺癌の浸潤局所での病態を反映すると同時に、その胸水中にはリンパ球などが存在し、肺癌細胞に対するエフェクター細胞として作用する可能性が考えられる。実際に癌患者のリンパ球を活性化する方法としては、IL-2などの活性化因子を直接癌性胸水に注入し、胸腔内に存在するリンパ球の活性化を図る方法と、リンパ球をいったん体外にとりだし、培養バッグなどを用い至適条件でリンパ球を培養し胸腔内に投与する方法(養子免疫療法)が考えられ(図2)、我々はこの両者を共に検討した。表1にIL-2を用いた癌性胸膜炎に対

する局所療法の臨床効果を示す。全国共同研究で肺癌に合併した癌性胸膜炎に対しIL-2を連日14日間胸腔内に投与したところ、癌性体腔液に対する効果判定にて35名中著効13例37%、有効6例17%、合計で奏効率54%の結果を得た⁴⁾。また体外でIL-2と共に培養したキラー細胞を併用すると症例数は少ないものの100%の効果を得た⁵⁾。この結果は、たとえ肺癌の進展局所であっても、生体のエフェクター細胞は適当な刺激に反応して癌に対する抵抗性を発揮しうること、また局所において癌細胞との密接な接触が可能であるならば、エフェクター細胞が実際に臨床効果を発現することを示す成績と考えられる。

しかし同時に我々が行った局所療法は患者にQOL (quality of life) の改善はもたらししたが、全身化した肺癌の進展に対しては無効であった。表2に世界で行われたIL-2の全身投与の成績を示すが、よい治療効果は得られていない。IL-2の全身投与にて転移巣でのエフェクター細胞の活性化を図ることは困難であると考えられ、いかにして癌の進展局所で強力なエフェクター細胞を誘導するかが重要な問題として残された。

さらに、IL-2投与においては二次的なサイトカインの誘導が問題となった。二次的に誘導されたサイトカインは、胸腔への細胞浸潤と関連したり、抗腫瘍効果に加え胸膜癒着を促進するなどを介し臨床効果と関連すると考えられる。しかし、誘導されるある種のサイトカインは免疫抑制作用を惹起したり、また副作用の原因ともなることが明らかとなった⁶⁾。例えばIL-5などのサイトカインは好酸球の増加を介してcapillary leak syndromeなどの重篤な副作用の原因になる可能性があり、また、IL-10などのType 2サイトカインは細胞性免疫に対し抑制的に作用する可能性が考えられ(図3)、キラー誘

図2. キラーリンパ球の誘導による癌性胸膜炎の治療

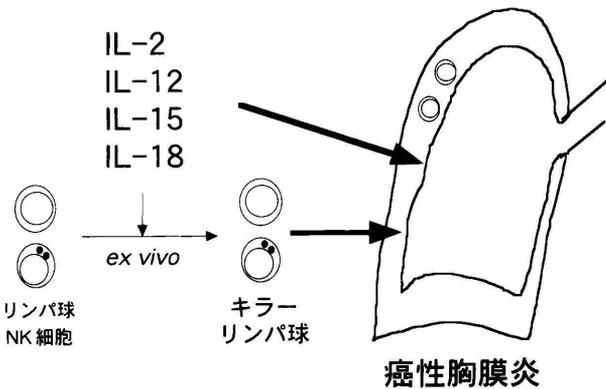


表1. IL-2による癌性胸膜炎の治療成績

治療方法	症例数	著効	有効	無効
interleukin-2				
単独	35	13 (37%)	6 (17%)	16 (46%)
		54%		
キラー細胞併用*	4	1 (25%)	3 (75%)	0 (0%)
		100%		

*ex vivo で培養した2.5-11.6×10⁹個を併用投与

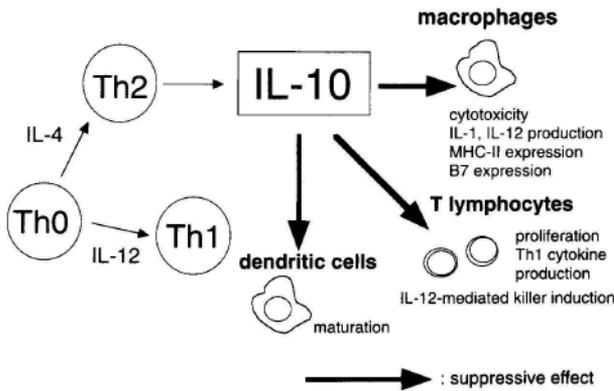
表2. IL-2全身投与による治療成績

author	other agent (s)	response/patients	journal
West	IL-2 alone	1 PR 5	N Engl J Med 316 : 898,1987
Rosenberg	LAK cells,IFN-α	0 7	Ann Surg 210 : 474,1989
Kradin	TIL cells**	0 11	Lancet 15 : 77,1989
Yang	TNF-α	1 PR 16	Cancer Res 51 : 3669,1991
Jansen	IFN-α	0 11	J Immunother 12 : 70,1992
Scudeletti	IL-2 alone	2 PR 8	Cil 37 : 119,1993
Lissoni	melatonin	2 PR 9	Eur J Cancer 29 A : 185,1993
Ardizzoni	IL-2 alone	0 11	Cancer 73 : 1353,1994
Schiller	TNF-α	0 15	Am J Clin Oncol 18 : 47,1995

* lymphokine-activated killer cells

** tumor-infiltrating lymphocytes

図3. IL-10による免疫抑制作用



導に伴ってみられるこれら二次的サイトカイン産生を制御することが重大な課題として考えられた。

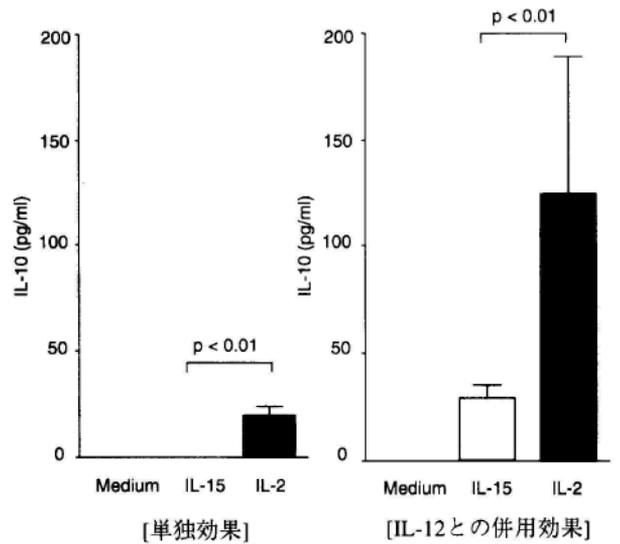
3. インターロイキン-12, 15を用いた肺癌治療の基礎的検討

薬剤としては未承認であるが、IL-2以降に同定されリンパ球に対し抗腫瘍活性誘導能をもつIL-12やIL-15に注目し基礎的検討を行った。in vitro 条件におけるキラー誘導に関する検討ではIL-2同様、IL-12, IL-15は肺癌患者の末梢血リンパ球、癌性胸膜炎による悪性胸水に含まれるリンパ球を活性化しキラー活性を誘導した⁷⁻⁹⁾。

IL-2投与によりみられた二次的なサイトカイン誘導による問題点を克服しうる可能性を検討するため、in vitro 条件におけるIL-2およびIL-15のサイトカイン誘導能を比較した。IL-5産生に関する検討では、IL-2が肺癌患者末梢血リンパ球からその産生を誘導するのに対し、IL-15による活性化はIL-5産生を伴わなかった⁹⁾。さらにIL-10に関する検討においても、IL-15のIL-10産生誘導能はIL-2より低かった(図4)⁹⁾。

以上の結果より、肺癌患者における生体内での抗腫瘍活性の誘導能に関しては今後の検討を要するが、少なくともIL-12, IL-15はin vitro では肺癌患者のリンパ球に対しても活性化能力を有していることが確認され(表3)、しかもそれらを適切に併用することによりIL-2治療で見られたIL-5やIL-10などの二次的サイトカイン誘導による問題点を軽減しうる可能性が明らかとなった。またこれらに加え、最近やはりリンパ球を活性化するサイ

図4. IL-15, IL-2による肺癌患者末梢血単核細胞からのIL-10産生誘導



肺癌患者末梢血より単核細胞を分離し、IL-15などのサイトカインとともに培養し上清中のIL-10を測定したもの。IL-2よりIL-15が産生誘導能が少ない

表3. サイトカインによるリンパ球の活性化

	末梢血リンパ球 (in vitro)	胸水リンパ球 (in vitro)	胸水リンパ球 (in vivo)
IL-2	+	+	+
IL-12	+	+	?
IL-15	+	+	?
IL-18	?	?	?

トカインとしてIL-18が同定された。われわれはすでに、IL-18はIL-12との併用により濃度依存性に肺癌細胞に対する抗腫瘍活性を誘導することを確認しており、今後、このような新しいサイトカインの臨床応用が生物学的治療に新しい道を開くものと考えられる。

4. 単球-マクロファージ系細胞の活性化による肺癌治療

単球-マクロファージ系細胞は生体防御機構の基本的な維持において重要な役割を担っている細胞であり、異物の貪食機能、リンパ球への抗原提示能、種々の生理活性物質の産生、分泌能などの機能に加え腫瘍細胞障害能を有することが知られている¹⁰⁾。1970年代から行われた

ヒト癌に対する種々のBRM(biological response modifiers)を用いた治療研究で、その作用機序として単球-マクロファージ系細胞の賦活が考えられたものが多かったことより、近年インターフェロン、サイトカイン類などの単球-マクロファージ系細胞活性化因子を用いた治療への試みが行なわれている。表4に示すようないくつかの研究グループは末梢血単球を ex vivo で活性化し、体内に投与するという検討を行なっている。現時点で全身効果としては際立ったものは認められていないが、局所効果という点では肺癌の治療においてもさらなる検討の余地が残されている。

5. 抗腫瘍 T 細胞の誘導による肺癌治療

前項で述べた非特異的エフェクター細胞に加え、癌細胞の表面に存在する癌抗原を認識して癌細胞を破壊する抗腫瘍 T 細胞はより強いエフェクター細胞として作用する可能性がある。抗腫瘍 T 細胞の誘導には、リンパ球に効率良く癌抗原を提示する必要があるが、抗原提示細胞として最近樹状細胞が注目されている。樹状細胞は生体に少数しか認められないため、効率良い分離が問題となっていたが、近年、末梢血単球が IL-4, GM-CSF といったサイトカインの存在下で、Tリンパ球に対する

高い抗原提示能をもつ樹状細胞へ分化することが明らかとなった¹¹⁾。肺癌患者を対象とした基礎的検討の結果では、単球から誘導した樹状細胞に関し、その機能と関連するとされる表面マーカーを検討すると、健常人と肺癌患者で差を認めず、肺癌患者からも樹状細胞の誘導が可能と考えられた¹²⁾。さらに樹状細胞の誘導は、単球よりさらに分化し、悪性胸水中に存在する胸腔マクロファージ、また肺泡に存在する肺泡マクロファージからも可能であるとの結果を得ている。

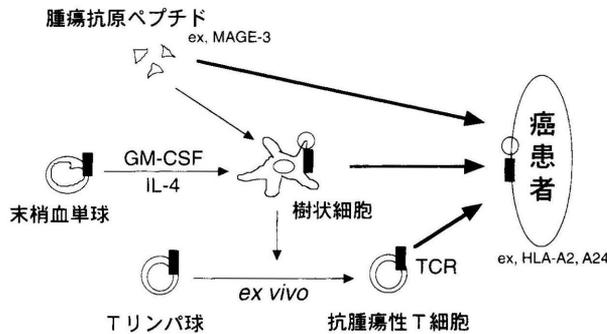
一方、最近、抗腫瘍 T 細胞が認識することの出来るいわゆる癌抗原が、メラノーマを中心に肺癌でも報告されるようになってきた。これらは特定の HLA により癌細胞の表面に提示され、T 細胞の標的となることが明らかになっている。そこで、肺癌に発現している癌抗原、例えば MAGE-3 と呼ばれる抗原のペプチドを直接樹状細胞に反応させ、この樹状細胞を用いて癌細胞の表面に存在する癌抗原を認識する抗腫瘍 T 細胞を誘導することが可能であると考えられる (図5)。先般、治療プロトコルが徳島大学附属病院の倫理委員会で承認されたので、今後腫瘍特異的なエフェクター細胞として臨床的検討を予定している。

表4. 活性化単球の移入による癌治療

報告者	報告年	対象疾患	対象症例数	投与経路	活性化物質	臨床効果
Stevenson HC	1987	大腸癌腹膜転移	5	腹腔内	IFN- γ	(安全性の検討)
Andreesen R	1990	種々の進行癌	8	静脈内	IFN- γ	効果なし
		癌性腹膜炎	7	腹腔内	IFN- γ	2例で腹水消失
	1995	大腸癌等の肝転移	7	肝動脈内	IFN- γ	効果なし
	1997	大腸癌等の進行癌	9	静脈内	IFN- γ + LPS	1 DS
Faradji A	1991	癌性腹膜炎	9	腹腔内	liposomal MTP-PE	(安全性の検討)
	1991	非小細胞肺癌	11	静脈内	IFN- γ	(安全性の検討)
Lopez M	1992	メラノーマ等の進行癌	12	静脈内, 腹腔内	IFN- γ	1 PR, 2 DS
	1996	大腸癌	15	静脈内	IFN- γ	3 DS

LPS: lipopolysaccharide, liposomal MTP-PE: muramyl dipeptide analogue
PR: partial response, DS: disease stabilization

図5. 特異的抗腫瘍 T 細胞の誘導による癌治療



おわりに

エフェクター細胞を用いた今後の生物学的治療の戦略として、やはり大きな腫瘍量は手術による切除が適当な方法と考えられるので、いわゆるアジュバントとしての治療に関する検討、さらに他の生物学的治療や、既存の化学療法との適切な併用療法に関する検討が重要な課題と考えている。

文 献

1. Bunn Jr., P.A., and Kelly, K.: New chemotherapeutic agents prolong survival and improve quality of life in non-small cell lung cancer: a review of the literature and future directions. *Clin. Cancer Res.*, 5: 1087-1100, 1998
2. Yanagawa, H., Sone, S., Nii, A., Fukuta, K., et al.: Lymphokine-activated killer induction and its regulation by macrophages in malignant pleural effusions. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80: 1220-1227, 1989
3. Sone, S., Kunishige, E., Fawzy, F., Yanagawa, H., et al.: Interleukin-2-inducible killer activity and its regulation by blood monocytes from autologous lymphocytes of lung cancer patients. *Jpn. J. Cancer Res.*, 82: 716-723, 1991
4. Yasumoto, K., Ogura, T.: Intrapleural application of recombinant interleukin-2 in patients with malignant pleurisy due to lung cancer. *Biotherapy* 3: 3345-349, 1991
5. 楊河宏章, 曾根三郎, 小倉剛: LAK 細胞および IL-2 局所投与による癌性胸膜炎治療—臨床効果, 作用発現機序に関する検討—*Biotherapy*, 8: 1051-1056, 1994
6. Sone, S., Ogura, T.: Local interleukin-2 therapy for cancer, and its effector induction mechanisms. *Oncology*, 51: 170-176, 1994
7. Haku, T., Yanagawa, H., Nabioullin, R., Takeuchi, E., et al.: Interleukin-12-mediated killer activity in lung cancer patients. *Cytokine*, 9: 846-852, 1997
8. Hiramatsu, K., Yanagawa, H., Haku, T., Sone, S.: Generation of killer activity by IL-12 of mononuclear cells in malignant pleural effusions due to lung cancer. *Cancer Immunol. Immunother.*, 46: 1-6, 1998
9. Takeuchi, E., Yanagawa, H., Suzuki, Y., Bando, H., et al.: Comparative Analysis of Interleukin-15 and Interleukin-2 for induction of killer activity and of type 2 cytokine production by mononuclear cells from lung cancer patients. *Br. J. Cancer*, 78: 616-620, 1998
10. 楊河宏章: マクロファージ. *Surgery Frontier*, 5: 87-92, 1998
11. Schuler, G., Thurner, B., Romani, N.: Dendritic cells: from ignored cells to major players in T-cell-mediated immunity. *Int. Arch. Allergy Immunol.*, 112: 317-322, 1997
12. 鈴記好博, 楊河宏章, 竹内栄治, Prahlad Parajuli 他: 第57回日本癌学会発表, 1998