

P1-157 リンパ球と共培養することで、細胞障害性 T 細胞の活性を高めるフィーダー細胞の作成

京都大

宮西正憲, 松村謙臣, 万代昌紀, 馬場 長, 近藤英治, 門間千佳, 堀内由佳, 福原 健, 樋口壽宏, 刈谷方俊, 高倉賢二, 藤井信吾

【目的】近年悪性腫瘍に対する新しい治療法として免疫療法が注目されているが、細胞障害性 T 細胞の活性を十分に高めることが難しく、今まではその臨床効果が乏しい。4-1BB Ligand は、活性化 CD4, CD8 陽性 T 細胞の表面に発現する共刺激分子で、細胞障害性 T 細胞の活性を高めるとされる。今回我々は、MHC 抗原の発現がなくアロ刺激性がない K562 細胞株に 4-1BB Ligand を遺伝子導入し、フィーダー細胞としてリンパ球と共培養することで細胞障害性 T 細胞の活性を高めることができるか検討した。【方法】本学倫理委員会の承認のもと、同意を得た健康ドナーより PBMC を採取した。また、レトロウイルスベクターを用いて K562 細胞へ 4-1BB Ligand, あるいは空ベクターを遺伝子導入した。その細胞と PBMC と IL-2 存在下で 10 日間共培養して、CD8/CD4 比の変化を検討した。さらに、自己 LCL (EB ウイルスで transform した B cell line) への細胞障害活性が亢進するか Flow Cytometric Cytotoxicity assay を用いて検討した。【成績】K562 細胞と共培養していない PBMC と、空ベクターを遺伝子導入した K562 細胞と共培養した PBMC は、CD8/CD4 比、LCL に対する細胞障害活性とも変化なかった。一方、4-1BB Ligand を遺伝子導入した K562 細胞と共培養した PBMC において、CD8/CD4 比は上昇し、LCL に対する細胞障害活性は亢進した。【結論】4-1BB Ligand を遺伝子導入した K562 細胞をフィーダー細胞として用いることで、PBMC の LCL に対する細胞障害活性が亢進した。この方法は 4-1BB Ligand 以外の遺伝子にも応用可能である。このフィーダー細胞は、細胞株をもととして作成するため大量培養が可能で、養子免疫療法への臨床応用も可能と思われる。

4 一般演題
日(月)**P1-158** 抗ヒト GITR モノクローナル抗体を用いた新たな腫瘍免疫療法開発に向けた基礎的検討京都大¹, 同再生医科学研究所・生体機能調節学分野²八木治彦¹, 坂口志文², 小西光長¹, 鈴木彩子¹, 佐藤 寛¹, 馬場 長¹, 福原 健¹, 万代昌紀¹, 樋口壽宏¹, 刈谷方俊¹, 高倉賢二¹, 藤井信吾¹

【目的】進行婦人科癌は未だ難治であり新たな治療戦略として免疫療法が期待される。その approach の一つに、CD25⁺CD4⁺制御性 T (CD25⁺T_R) 細胞により維持されている免疫抑制の解除による免疫応答の強化があげられ、ヒト末梢血単核球 (PBMC) より CD25⁺T_R細胞を除去することで婦人科悪性腫瘍細胞に対する傷害能が強化される。CD25⁺T_R細胞の免疫抑制能に関与する分子としてマウスにおいて glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor family (GITR) が知られており、実際に抗 GITR モノクローナル抗体 (mAb) を担瘤マウスに投与すると、CD25⁺T_R細胞の免疫抑制能の解除、effector 細胞の強化の結果腫瘍が拒絶される。以上に基づき、婦人科癌に対し抗 GITR 抗体を用いる新たな免疫療法開発の端緒として、ヒト PBMC における GITR の意義を検討した。【方法】ヒト GITR を強制発現させた細胞株でマウスを免疫し抗ヒト GITR mAb を樹立した。健康人より同意下採取した PBMC を用い、この抗体が CD25⁺T_R細胞の免疫抑制能、T 細胞の増殖能に及ぼす効果を *in vitro* で検討した。【成績】GITR は CD25⁺T_R細胞および活性化 helper T, cytotoxic T 細胞において発現していた。CD25⁺T_R細胞が helper T, cytotoxic T 細胞の増殖活性を抑制する現象は抗 GITR 抗体の用量依存的に解除され、helper T, cytotoxic T 細胞の増殖活性も抗体の用量依存的に亢進した。【結論】ヒトにおいても GITR が CD25⁺T_R細胞の免疫抑制能や effector T 細胞の活性化に重要な役割を担っており、抗 GITR 抗体によって CD25⁺T_R細胞の免疫抑制能を解除し婦人科癌に対する免疫反応を惹起できる可能性が示された。

P1-159 細胞障害性 T 細胞を効率的に活性化する樹状細胞を作成するための FLT3 Ligand 発現フィーダー細胞の作成

京都大

松村謙臣, 万代昌紀, 宮西正憲, 佐藤 寛, 山田重人, 堀内由佳, 金森崇修, 福原 健, 樋口壽宏, 刈谷方俊, 高倉賢二, 藤井信吾

【目的】近年悪性腫瘍に対する新しい治療法として樹状細胞を用いた免疫療法が試みられ、一部で臨床効果が報告されているが、著明な効果は得られていない。FLT3 Ligand は、骨髄の繊維芽細胞などに発現し血球系幹細胞の増殖をもたらすが、樹状細胞にも働きかけて CD40 などの共刺激分子の発現増加をもたらす、細胞性免疫を高めることが近年報告された。今回我々は、K562 細胞に FLT3 Ligand を遺伝子導入し、単球と共培養することで、効果的に細胞障害性 T 細胞を活性化する樹状細胞を作成できるか試みた。【方法】本学倫理委員会の承認のもと、同意を得た健康ドナーより PBMC を採取し単球を分離した。FLT3 Ligand あるいは空ベクターをレトロウイルスにより遺伝子導入した K562 細胞を作成し、GM-CSF と IL-4 存在下で、分離した単球と共培養した。培養 6 日目に PolyI:C を添加し、8 日目に CD40 の発現量をフローサイトメトリーで比較した。また、IL-2 存在下でその樹状細胞により PBMC を刺激し、自己 LCL (EB ウイルスで transform した B cell line) に対する細胞障害活性を、Flow Cytometric Cytotoxicity assay で検討した。【成績】空ベクターを導入した K562 細胞を添加した場合と、K562 細胞を添加しない場合を比較して、樹状細胞における CD40 の発現量や、PBMC による LCL 障害活性は変化なかった。一方、FLT3 Ligand を遺伝子導入した K562 細胞と共培養すると、樹状細胞の CD40 発現量および、LCL に対する細胞障害活性が有意に亢進した。【結論】FLT3 Ligand を遺伝子導入した K562 細胞を、単球と共培養して作成した樹状細胞では、細胞障害性 T 細胞誘導能が亢進する。この方法は、樹状細胞を用いた腫瘍免疫療法にも応用可能と思われる。