

綜 説

がんの免疫細胞療法の進歩

下 平 滋 隆

信州大学医学部附属病院
輸血部・先端細胞治療センター

Development of Cell-Based Immunotherapy for Cancer

Shigetaka SHIMODAIRA

Division of Transfusion Medicine, Cell Processing Center,
Shinshu University Hospital**Key words:** cell transfer immunotherapy, regulatory T cell, cytokine, dendritic cell

リンパ球移入療法, 制御性T細胞, サイトカイン, 樹状細胞

I はじめに

がんの免疫細胞療法の臨床応用が開始されてから20年になる。その治療法の奏効率は、当初期待された程の効果に乏しいとされていたが、がんの特異的で、より有効な免疫細胞療法の開発が進められている。免疫細胞療法が第4のがん治療として認知されるためには、臨床研究や臨床試験を通じたエビデンスの集積が欠かせない。この綜説では、医学的に有効な、がんの免疫細胞療法を確立するための腫瘍免疫・臨床応用技術について概説する。

II 免疫細胞療法の種類

免疫細胞療法とは、がん患者のリンパ球を *ex vivo* で増幅・活性化させた後、患者体内に戻す方法、あるいは、樹状細胞 (dendritic cells, DC) を培養により作成した後、患者体内に戻す方法により、腫瘍細胞に対する免疫反応を賦活化させる治療法である。現在、がんの免疫療法 (表1) は、能動免疫療法および受動免疫療法の2つに分けられる。前者は、がん抗原やDCを用いたワクチン (腫瘍に対する特異的免疫)、あるいは免疫賦活剤やサイトカイン (非特異的免疫) を用いて体内のがんに対する免疫を活性化させる方法

表1 がんの免疫療法の種類

| 能動免疫療法 | |
|--|------|
| I がん抗原ワクチン 1. 自家腫瘍抗原ワクチン 2. ペプチドワクチン | 特異的 |
| II 免疫細胞療法 樹状細胞 (DC) ワクチン療法 | |
| III 免疫賦活剤 BCG, OK-432, PSK, Schizophyllan, Lentinan | 非特異的 |
| IV サイトカイン療法 IL-2, Interferon α , Interferon α -2a, Interferon β , Interferon β -1b, Interferon γ -1a | |
| 受動免疫療法 | |
| I 免疫細胞療法 1. LAK療法 2. CD3-LAK療法 3. NK細胞療法 | 非特異的 |
| 4. TIL療法 5. CTL療法 II 抗体療法 (モノクローナル抗体標的抗原) rituximab (CD20), trastuzumab (HER2), gemtuzumab ozogamicin (CD33) | 特異的 |

別刷請求先: 下平 滋隆 〒390-8621

松本市旭3-1-1 信州大学医学部附属病院
輸血部・先端細胞治療センター

である。後者は免疫細胞あるいは抗体を用いて直接的な抗腫瘍作用を発揮させる方法であるが、細胞療法としては Lymphokine-activated killer (LAK) や natural killer (NK) 細胞を用いた非特異的免疫療法がある一方で、腫瘍特異的な細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T cell : CTL) などを用いた特異的免疫療法がある。日常診療に使用されている抗体製剤による特異的な免疫療法も受動免疫療法の 1 つである。歴史的には、非特異的な免疫療法から腫瘍特異的な治療へと移行してきている。

免疫細胞療法の技術として、① がんペプチドを用いた能動的なワクチン療法により、MHC (major histocompatibility complex) 拘束性のがん特異的 CD8⁺ CTL を誘導する方法¹²⁾、② *in vitro* で自己末梢血リンパ球と自己がん細胞を共培養して、腫瘍組織に浸潤している Tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) のような CTL を誘導する方法³⁾、③ 腫瘍特異的な抗原を患者の DC と共培養することにより強力な抗原提示細胞 (antigen presenting cell, APC) を誘導後、患者体内に戻し *in vivo* で CTL を誘導する方法⁴⁾が開発されている。

III 古典的な免疫細胞療法

免疫細胞療法は、1980年代に養子免疫療法あるいはリンパ球移入療法 (Adoptive Immunotherapy あるいは Cell Transfer Immunotherapy) として登場した。

Rosenberg ら⁵⁾は、リンパ球を Interleukin-2 (IL-2) と共培養すると腫瘍特異的なキラー活性を有する LAK 細胞が誘導されるという基礎研究に基づいて、はじめて進行癌患者に対して LAK 療法の臨床応用を実施した。初期の段階では、IL-2 単独、LAK 療法単独では腫瘍縮小効果がなく、両者併用でその効果が認められたという報告がなされた。その後、腎がん、悪性黒色腫、大腸がんに対して、IL-2 単独群 (72 万 IU/kg を 8 時間ごと 5 日間、3~4 クール) および IL-2 + LAK 療法群 (6,000-7,500 IU/ml で 3~4 日間培養) に分けた前方視的検討を実施した。その成績は、悪性黒色腫において、IL-2 + LAK 療法群の 4 年生存率は 18% に対して、IL-2 単独群では 4% と前者がよい傾向 ($p=0.064$) であったが、腎癌では差を認めなかった⁶⁾。さらに Rosenberg ら⁷⁸⁾は、治療効果を高めるために腫瘍組織に浸潤しているリンパ球を抽出し、IL-2 存在下の培養によって、LAK 細胞より 50~100 倍強いキラー活性を有する TIL を誘導し、悪性黒色腫の患

者に養子免疫療法を実施した。腫瘍特異的な TIL は、MHC 拘束性のキラー T 細胞であるが、TIL を用いた治療の場合、cyclophosphamide のような抗腫瘍薬の併用により治療効果が発揮するとされた。転移性悪性黒色腫に対する TIL + IL-2 併用の治療成績は、全体で 34% の奏効率であったが、誘導されるキラー細胞数の限界、培養の操作の煩雑さにより改良が必要であった。1991年、Boon らのグループ⁹⁾は CTL により認識されるヒト悪性黒色腫の抗原 (MAGE) を発見し、その後、腫瘍細胞 HLA class I 上に提示されるエピトープペプチドが相次いで報告された。しかし、同グループによるがんワクチン療法の臨床試験の報告¹¹⁾や、前治療のあるがん患者に対するペプチドワクチン療法の Rosenberg ら²⁾の総説からも、その奏効率は低く課題を残した。

IV 腫瘍免疫の課題

T 細胞の標的となる腫瘍細胞が排除されないのは、腫瘍細胞自身による機序として、① 腫瘍の抗原性が変化すること、② 腫瘍から産生される transforming growth factor- β (TGF- β) という免疫抑制性因子の影響や③ 可溶性 MHC クラス I 鎖関連分子 (soluble MHC class I chain-related molecule) が免疫からの逃避に作用することがあげられる¹⁰⁾⁻¹²⁾。腫瘍特異性が低い CTL では、標的腫瘍細胞を排除できないが、特異的 CTL が寛容的に作用する機序として、④ 活性化 T 細胞上の cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) を介した APC の抑制、⑤ CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞 (regulatory T cell, Treg) や⑥ CD4⁺NKT (natural killer T cells) による CTL の抑制¹³⁾¹⁴⁾が考えられている。また、⑦ 腫瘍辺縁ストローマ細胞がリンパ球浸潤の組織構造的な障壁となっているという報告もある¹⁵⁾。

V 免疫細胞療法の効果の鍵

ヒトのがん抗原分子は変異性に乏しく、ヒトの免疫システムはマウスのものに比べより寛容となっていることを考慮する必要があるが、免疫細胞療法の効果の鍵は、DC を介したワクチンにより腫瘍特異的な CTL が誘導され、CTL が自己の内因的な免疫反応に抑制されることなく腫瘍組織へ効果的にホーミングし、自己の腫瘍に対して強いキラー活性をいかに発揮するかである¹⁶⁾。腫瘍周囲の免疫環境を破壊した後に、腫瘍特異的 T リンパ球を移入することで免疫療法の効果が

高まることは、マウスやヒトにおいて確認されており、初期の TIL 療法⁷⁸⁾をはじめ、臨床的に化学療法や放射線治療後に免疫細胞療法を実施した場合、転移性がん患者の50%に反応を認めるとされる¹⁶⁾。Rosenbergらのグループ¹⁷⁾は、転移性悪性黒色腫の患者に対して、骨髄非破壊的前処置 (cyclophosphamide, fludarabine) の7日後、メラノサイト分化抗原 (MART-1) 特異反応性 T 細胞を高用量 IL-2 併用で移入する方法で実施した。In vivo でのリンパ球クローンの増幅、腫瘍細胞の破壊とともに、正常メラノサイトの破壊により白斑が発症することを確認した。自己免疫反応の耐用性がある場合、正常な自己抗原が免疫細胞療法の標的となり得ることから、他のがんに対する応用にも期待される。

したがって、効果的な免疫細胞療法の技術開発には3つの要素が鍵となる。① 細胞性免疫の恒常性の維持に必要な IL-7, IL-15, IL-21 などの γ_c -サイトカイン、いわゆるサイトカイン シンク (“sinks”) を一掃することが必要である。すなわち、移入された腫瘍反応性 CTL と内因的なリンパ球がこれらのサイトカインを競合してしまい、CTL の増殖、活性化を阻害することになるからである。② 腫瘍反応性 CTL を抑制する中心的役割を果たす CD4⁺CD25⁺Treg を除去することが重要である。③ 腫瘍細胞のアポトーシスや壊死による APC の活性化を効果的に誘導する技術開発が必要である (図1)¹⁸⁾。これらの要素は、独立

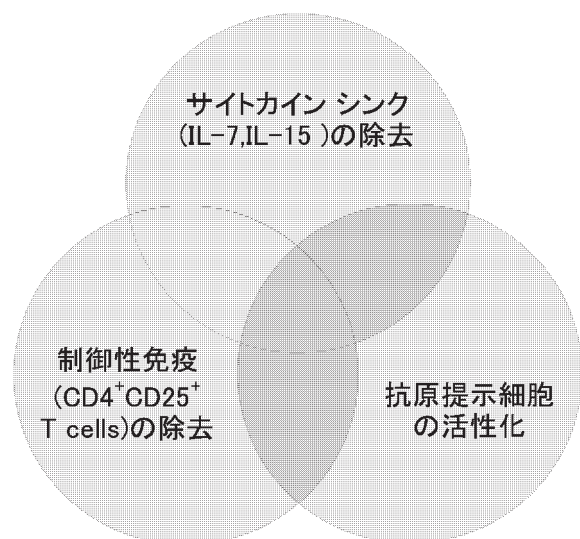


図1 がんの免疫細胞療法の鍵

化学療法あるいは放射線療法により腫瘍周囲の抑制性の免疫環境を壊すことで、移入された腫瘍反応性 T 細胞の機能が高まる。(文献18より改変)

して作用するが、相互に相乗効果がある。

以下、それぞれの要素について詳しく述べる。

A サイトカイン “シンク” (Cytokine sinks) の一掃

生理的な環境下における成熟 T リンパ球は、IL-7, IL-15, IL-21 といった γ_c -サイトカインによって刺激を受け、増殖が誘導される。IL-21 は IL-2 や IL-15 と相同性を有し、共通の γ_c 受容体に結合する新しいサイトカインである¹⁹⁾²⁰⁾。IL-7 は、抗原と反応前の T リンパ球 (naïve T cell) の増殖に重要であるが、抗原との反応後の T リンパ球 (memory T cell) にはほとんど作用しない。逆に、IL-15 は naïve T cell には作用しないが、CD8⁺ memory T cell の増殖、維持に重要なサイトカインである²¹⁾²²⁾。モデルマウスの検討により、IL-21 には移入された腫瘍特異的 T リンパ球の機能を亢進させる作用を持っていることが示されている^{20)23)–26)}。こうした IL-7, IL-15 や IL-21 は免疫状態の恒常性維持に作用するだけでなく、移入された腫瘍反応性 T リンパ球に対して in vivo での増殖、維持に重要な働きをしている¹⁸⁾。内因的なリンパ球を減らす前処置は、移入された腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞と、非反応性 T 細胞や NK 細胞とが内因性 IL-15 を巡って競合しない状態を形成すると考えられる¹⁸⁾。

B CD4⁺CD25⁺制御性 T 細胞 (Treg) の除去

胸腺外における末梢性の免疫寛容は、活性化自己反応性 T 細胞の細胞死 (欠失, deletion), 休眠状態の誘導 (アネルギー, anergy), 自己反応性 T 細胞の機能の抑制 (suppression) などさまざまな機序により形成されている²⁶⁾²⁷⁾。Treg は自然発生的に存在し、CD4⁺T 細胞から分画の 5~6% を占める。IL-2 受容体 α (CD25), glucocorticoid-induced tumor necrosis factor-receptor (GITR), FOXP3 分子を発現して、細胞間接着の機序により末梢における免疫寛容と恒常性維持に重要な役割を演じている²⁸⁾²⁹⁾。末梢性の自己反応性 T 細胞の抑制という重要な役割を果たしている Treg サブセットの除去により、あらゆる自己免疫疾患を発症する²⁹⁾³⁰⁾。自己免疫疾患と密接な関連のある Treg は、腫瘍に対する T 細胞の免疫寛容において重要な役割を果たしており³¹⁾³²⁾、Treg 由来の TGF- β により腫瘍特異的 CD8⁺T 細胞の細胞障害活性が抑制される³³⁾。Wang ら³⁴⁾は悪性黒色腫患者から CD4⁺CD25⁺TIL を単離して解析したところ、抗原特異的で Treg と形質および機能で相同であることを示した。臨床的に悪性黒色腫抗原のワクチンを実施した患者血中には Treg が検出され、CD4⁺CD25⁺多クロー

ン性Tリンパ球の増殖を抑制すること³⁴⁾³⁵⁾, Tregは癌組織に集積して腫瘍特異的CTLを抑制し^{36)–39)}, Tregの浸潤の程度により癌の予後にも影響することが報告された³⁹⁾⁴⁰⁾. 抗CD25抗体を用いたTregの除去は, 抗腫瘍効果を増強させ⁴¹⁾, 遺伝子組み換えIL-2にジフテリア毒素を標識したDAB₃₈₉IL-2を用いた, 転移性癌患者(腎癌)を対象としたTregの除去試験では, 腫瘍RNA導入の樹状細胞ワクチンによる腫瘍免疫を増強させた⁴²⁾. 一方, Toll-like receptor 8 (TLR8)は, 樹状細胞との相互作用に依存せずにTregの機能を抑制することが報告され, 免疫療法への応用が期待される⁴³⁾.

C 有効なAPCの作成を介したCTLの誘導

DCを介したワクチン療法²⁾は, *in vivo*における腫瘍反応性CTLを活性化させるが, 放射線照射や化学療法により腫瘍細胞の抗原遊離が助長され, APCを介した移入CTLの機能が高まる⁴⁴⁾. また, 放射線照射±化学療法は, tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-1, IL-4など炎症性サイトカイン, CD80分子を介してAPC機能に間接的な影響を及ぼしている⁴⁵⁾. DCの分離法は, ①末梢血単球にGranulocyte Macrophage colony-stimulating Factor (GM-CSF) +IL-4添加, ②CD34⁺骨髄幹細胞にGM-CSF+TNF α を添加してDCとLangerhans細胞の混合集団を形成, ③DC直接分離(比重遠心または磁気ビーズ)の方法があり, 成熟DCには抗原特異的CTL誘導能がある⁴⁶⁾. DCワクチン療法の臨床試験は, 濾胞性リンパ

腫⁴⁷⁾, 腎がん⁴⁸⁾, 悪性黒色腫⁴⁹⁾について実施されているが, 大規模な臨床試験成績の成果が必要である. 今後, APC機能を高めるDCの培養・調製法, 放射線療法や化学療法, サイトカイン併用療法の確立が待たれる.

VI 本邦におけるがん免疫細胞療法の現状

本邦におけるがんの免疫細胞療法は, 90年代よりLAK療法⁵⁾⁶⁾, CD3-LAK療法⁵⁰⁾, TIL療法⁷⁾⁸⁾, CTL療法³⁾を用いて実施されているが, 調製法は施設ごとに異なる. 厚生労働省の先進医療技術(平成20年3月までの時限的先進医療の扱い)として, 樹状細胞および腫瘍抗原ペプチドを用いたがんワクチン療法, 自己腫瘍(組織)を用いた活性化自己リンパ球移入療法, 自己腫瘍(組織)および樹状細胞を用いた活性化自己リンパ球移入療法が承認されている. 手術不能例および再発例を対象とした, 免疫細胞療法の後方視的研究では, 6カ月不変例を含まない有効例は23.8%と集計されている⁵¹⁾. 本邦における無作為化比較試験の成績を表2に示す. 卵巣腫瘍⁵²⁾, 肺がん⁵³⁾, 肝がん⁵⁴⁾の手術±化学療法, 放射線療法後に免疫細胞療法を実施した場合, 生存率, 再発率の有意差を認めており, Stage IVの胃がん⁵⁵⁾での化学療法併用CTL療法(注入)では, 生存率の改善を認めている. 残存腫瘍量が少ない場合, 再発予防あるいはアジュバント療法としての有効性が示唆される.

表2 本邦におけるがんの免疫細胞療法の無作為化比較試験

| 報告者 | 報告年 | 対象・方法 | 患者数 | | 効果 | 統計的有意差 | 文献 |
|------------|------|---|-----|---------|--------------------|------------------|----|
| | | | 治療群 | コントロール群 | | | |
| Fujitaら | 1995 | 卵巣腫瘍 放射線療法および化学療法後 TIL療法 | 13 | 11 | 生存率の改善 無病生存率の改善 | p<0.01 p<0.05 | 52 |
| Kimuraら | 1997 | 肺癌(病期II~IV) 放射線療法および化学療法後, または放射線療法後 LAK療法またはTIL療法 | 82 | 88 | 生存率の改善 | p<0.001 | 53 |
| Takayamara | 2000 | 肝癌 治癒切除後 CD3-LAK療法 | 74 | 76 | 生存率の改善 無病生存率の改善 | p<0.09 p<0.01 | 54 |
| Konoら | 2002 | 胃癌(病期IV) 化学療法 CTL療法, 腹膜内注入 | 22 | 22 | 生存率の改善 | p<0.05 | 55 |

文献51より改変

Ⅶ おわりに

免疫細胞療法に関する最近の知見を紹介した。移植免疫や自己免疫と密接に関連のある腫瘍免疫の基礎は重要であり、有効な免疫細胞療法の技術開発と治療法の有効性を示す臨床試験は不可欠である。今後の免疫細胞療法の技術的な課題として、① Treg など抑制的免疫担当細胞を効果的に排除する方法の確立、② DC による抗原提示能をさらに高める技術および *in vivo* においてその機能を発揮させるための最適条件の構築、③ CTL や DC の有効な移入法の確立が必要である。臨床的な課題として、適応となる疾患の種類、病期、

併用療法を明らかにする必要がある。さらに平成18年9月より「ヒト幹細胞を用いる臨床研究に関する指針」が施行されているように、人の治療として使用する CTL や DC の培養にも細胞プロセッシングセンター (CPC) の設置が求められる。本学の先端細胞治療センター (CPC) を有効に活用した臨床研究の推進に期待したい。

謝 辞

本稿を作成するにあたり、御校閲頂きました皮膚科学講座教授 齋田俊明先生、助手 木庭幸子先生に深謝致します。

文 献

- 1) Marchand M, van Baren N, Weynants P, Brichard V, Dréno B, Tessier MH, Rankin E, Parmiani G, Arienti F, Humblet Y, Bourlond A, Vanwijck R, Liénard D, Beauduin M, Dietrich PY, Russo V, Kerger J, Masucci G, Jäger E, De Greve J, Atzpondien J, Brasseur F, Coulie PG, van der Bruggen P, Boon T: Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by gene *MAGE-3* and presented by HLA-A1. *Int J Cancer* 80: 219-230, 1999
- 2) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 10: 909-915, 2004
- 3) Meada N, Hamasato S, Miyazawa H, Takata M, Yamamoto H, Fujimoto S: Augmentation of human cytotoxic T lymphocytes against autologous tumor by a factor released from human monocytic leukemia cell line. *Jpn J Cancer Res* 80: 537-545, 1989
- 4) Nestle FO, Aljagic S, Gilliet M, Sun Y, Grabbe S, Dummer R, Burg G, Schadendorf D: Vaccination of melanoma patients with peptide- or tumor lysate-pulsed dendritic cells. *Nat Med* 4: 328-332, 1998
- 5) Rosenberg SA, Lotze MT, Muul LM, Chang AE, Avis FP, Leitman S, Linehan WM, Robertson CN, Lee RE, Rubin JT, Seipp CA, Simpson CG, White DE: A progress report of the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N Engl J Med* 316: 889-897, 1987
- 6) Rosenberg SA, Lotze MT, Yang JC, Topalian SL, Chang AE, Schwarzenuber DJ, Aebersold P, Leitman S, Linehan WM, Seipp CA, White DE, Steinberg SM: Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer. *J Natl Cancer Inst* 85: 622-632, 1993
- 7) Rosenberg SA, Parkard BS, Aebersord PM, Solomon D, Topalian SL, Toy ST, Simon P, Lotze MT, Yang JC, Seipp CA, Simpson C, Carter C, Bock S, Schwarzenuber D, Wei JP, White DE: Use of tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2 in the immunotherapy of patients with metastatic melanoma. A preliminary report. *N Engl J Med* 319: 1676-1680, 1988
- 8) Rosenberg SA, Yannelli JR, Yang JC, Topalian SL, Schwarzenuber DJ, Weber JS, Parkinson DR, Seipp CA, Einhorn JH, White DE: Treatment of patients with metastatic melanoma with autologous tumor-infiltrating lymphocytes and interleukin-2. *J Natl Cancer Inst* 86: 1159-1166, 1994
- 9) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, Knuth A, Boon T: A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 254: 1643-1647, 1991
- 10) Groh V, Wu J, Yee C, Spies T: Tumor-derived soluble MIC ligands impair expression of NKG2D and T-cell activation. *Nature* 419: 734-738, 2002
- 11) Berzofsky JA, Ahlers JD, Belyakov IM: Strategies for designing and optimizing new generation vaccines. *Nat Rev Immunol* 1: 209-219, 2001

- 12) Pardoll DM : Spinning molecular immunology into successful immunotherapy. *Nat Rev Immunol* 2 : 227-238, 2002
- 13) Chambers CA, Kuhns MS, Egen JG, Allison JP : CTLA-4-mediated inhibition in regulation of T cell responses : mechanisms and manipulation in tumor immunotherapy. *Annu Rev Immunol* 19 : 565-594, 2001
- 14) Terabe M, Matsui S, Noben-Trauth N, Chen H, Watson C, Donaldson DD, Carbone DP, Paul WE, Berzofsky JA : NKT cell-mediated repression of tumor immunosurveillance by IL-13 and the IL-4R- STAT6 pathway. *Nat Immunol* 1 : 515-520, 2000
- 15) Yu P, Lee Y, Liu W, Chin RK, Wang J, Wang Y, Schietinger A, Philip M, Schreiber H, Fu YX : Priming of naive T cells inside tumor leads to eradication of established tumors. *Nat Immunol* 5 : 141-149, 2004
- 16) Rosenberg SA : Shedding light on immunotherapy for cancer. *N Engl J Med* 350 : 1461-1463, 2004
- 17) Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, Yang JC, Hwu P, Schwartzentruber DJ, Topalian SL, Sherry R, Restifo NP, Hubicki AM, Robinson MR, Raffeld M, Duray P, Seipp CA, Rogers-Freezer L, Morton KE, Mavroukakis SA, White DE, Rosenberg SA : Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* 298 : 850-854, 2002
- 18) Klebanoff CA, Khong HT, Antony PA, Palmer DC, Restifo NP : Sinks, suppressors and antigen presenters : how lymphodepletion enhances T cell-mediated tumor immunotherapy. *Trends Immunol* 26 : 111-117, 2005
- 19) Ozaki K, Spolski R, Feng CG, Qi CF, Cheng J, Sher A, Morse HC 3rd, Liu C, Schwartzberg PL, Leonard WJ : A critical role for IL-21 in regulating immunoglobulin production. *Science* 298 : 1630-1634, 2002
- 20) Moroz A, Eppolito C, Li Q, Tao J, Clegg CH, Shrikant PA : IL-21 enhances and sustains CD8⁺ T cell responses to achieve durable tumor immunity : comparative evaluation of IL-2, IL-15, and IL-21. *J Immunol* 173 : 900-909, 2004
- 21) Goldrath AW, Sivakumar PV, Glaccum M, Kennedy MK, Bevan MJ, Benoist C, Mathis D, Butz EA : Cytokine requirements for acute and Basal homeostatic proliferation of naive and memory CD8⁺ T cells. *J Exp Med* 195 : 1515-1522, 2002
- 22) Tan JT, Ernst B, Kieper WC, LeRoy E, Sprent J, Surh CD : Interleukin (IL)-15 and IL-7 jointly regulate homeostatic proliferation of memory phenotype CD8⁺ cells but not required for memory phenotype CD4⁺ cells. *J Exp Med* 195 : 1523-1532, 2002
- 23) King C, Ilic A, Koelsch K, Sarventick N : Homeostatic expansion of T cells during immune insufficiency generates autoimmunity. *Cell* 117 : 265-277, 2004
- 24) Li Y, Bleakley M, Yee C : IL-21 influences the frequency, phenotype, and affinity of the antigen-specific CD8 T cell response. *J Immunol* 175 : 2261-2269, 2005
- 25) He H, Wisner P, Yang G, Hu HM, Haley D, Miller W, O'hara A, Alvrod WG, Clegg CH, Fox BA, Urba WJ, Walker EB : Combined IL-21 and Low-Dose IL-2 therapy induces anti-tumor immunity and long-term curative effects in a murine melanoma tumor model. *J Transl Med* 4 : 24, 2006
- 26) Lechler R, Chai JG, Marelli-Berg F, Lombardi G : The contributions of T-cell anergy to peripheral T-cell tolerance. *Immunology* 103 : 262-269, 2001
- 27) Lechler RI, Garden OA, Turka LA : The complementary roles of deletion and regulation in transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 3 : 147-158, 2003
- 28) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M : Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chain (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 155 : 1151-1164, 1995
- 29) Sakaguchi S : Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol* 22 : 531-562, 2004
- 30) Shevach EM : CD4⁺CD25⁺ suppressor T cells : more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2 : 389-400, 2002
- 31) Shimizu J, Yamazaki S, Sakaguchi S : Induction of tumor immunity by removing CD25⁺CD4⁺ T cells : a common basis between tumor immunity and autoimmunity. *J Immunol* 163 : 5211-5218, 1999
- 32) Casares N, Arribillaga L, Sarobe P, Dotor J, Lopez-Diaz de Cerio A, Melero I, Prieto J, Borrás-Cuesta F, Lasarte JJ : CD4⁺/CD25⁺ regulatory T cells inhibit activation of tumor-primed CD4⁺ T cells with IFN- γ -dependent antiangiogenic activity, as well as long-lasting tumor immunity elicited by peptide vaccination. *J Immunol* 171 :

- 5931-5939, 2003
- 33) Chen ML, Pittet MJ, Gorelik L, Flavell RA, Weissleder R, von Boehmer H, Khazaie K: Regulatory T cells suppress tumor-specific CD8 T cell cytotoxicity through TGF- β signals *in vivo*. Proc Natl Acad Sci USA 102: 419-424, 2005
 - 34) Wang HY, Lee DA, Peng G, Guo Z, Li Y, Kiniwa Y, Shevach EM, Wang RF: Tumor-specific human CD4⁺ regulatory T cells and their ligands: implication for immunotherapy. Immunity 20: 107-118, 2004
 - 35) Javala LR, Rosenberg SA: CD4⁺CD25⁺ suppressor lymphocytes in the circulation of patients immunized against melanoma antigen. J Immunother 26: 85-93, 2003
 - 36) Woo EY, Chu CS, Goletz TJ, Schlienger K, Yeh H, Coukos G, Rubin SC, Kaiser LR, June CH: Regulatory CD4⁺ CD25⁺ T cells in tumors from patients with early-stage non-small cell lung cancer and late-stage ovarian cancer. Cancer Res 61: 4766-4772, 2001
 - 37) Woo EY, Yeh H, Chu CS, Schlienger K, Carroll RG, Riley JL, Kaiser LR, June CH: Cutting edge: Regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation. J Immunol 168: 4272-4276, 2002
 - 38) Liyanage UK, Moore TT, Joo HG, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, Drebin JA, Strasberg SM, Eberlein TJ, Goedegebuure PS, Linehan DC: Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. J Immunol 169: 2756-2761, 2002
 - 39) Curiel TJ, Coukos G, Zou L, Alvarez X, Cheng P, Mottram P, Evdemon-Hogan M, Conejo-Garcia JR, Zhang L, Burow M, Zhu Y, Wei S, Kryczek I, Daniel B, Gordon A, Myers L, Lackner A, Disis ML, Knutson KL, Chen L, Zou W: Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival. Nat Med 10: 942-949, 2004
 - 40) Sato E, Olson SH, Ahn J, Bundy B, Nishikawa H, Qian F, Jungbluth AA, Frosina D, Gnjatic S, Ambrosone C, Kepner J, Odunsi T, Ritter G, Lele S, Chen YT, Ohtani H, Old LJ, Odunsi K: Intraepithelial CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8⁺/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer. Proc Natl Acad Sci USA 102: 18538-18543, 2005
 - 41) Sakaguchi S, Sakaguchi N, Shimizu J, Yamazaki S, Sakihama T, Itoh M, Kuniyasu Y, Nomura T, Toda M, Takahashi T: Immunologic tolerance maintained by CD25⁺CD4⁺ regulatory T cells: their common role in controlling autoimmunity, tumor immunity, and transplantation tolerance. Immunol Rev 182: 18-32, 2001
 - 42) Dannull J, Su Z, Rizzieri D, Yang BK, Coleman D, Yancey D, Zhang A, Dahm P, Chao N, Gilboa E, Vieweg J: Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. J Clin Invest 115: 3623-3633, 2005
 - 43) Peng G, Guo Z, Kiniwa Y, Voo KS, Peng W, Fu T, Wang DY, Li Y, Wang HY, Wang RF: Toll-like receptor 8-mediated reversal of CD4⁺ regulatory T cell function. Science 309: 1380-1384, 2005
 - 44) Chernysheva AD, Kirou KA, Crow MK: T cell proliferation induced by autologous non-T cells is a response to apoptotic cells processed by dendritic cells. J Immunol 169: 1241-1250, 2002
 - 45) Torihata H, Ishikawa F, Okada Y, Tanaka Y, Uchida T, Suguro T, Kakiuchi T: Irradiation up-regulates CD80 expression through two differentiation mechanisms in spleen B cells, B lymphoma cells, and dendritic cells. Immunology 112: 219-227, 2004
 - 46) O'Neill DW, Adams S, Bhardwaj N: Manipulating dendritic cell biology for the active immunotherapy of cancer. Blood 104: 2235-2246, 2004
 - 47) Timmerman JM, Czerwinski DK, Davis TA, Hsu FJ, Benike C, Hao ZM, Taidi B, Rajapaksa R, Caspar CB, Okada CY, van Beckhoven A, Liles TM, Engleman EG, Levy R: Idiotype-pulsed dendritic cell vaccination for B-cell lymphoma: clinical and immune responses in 35 patients. Blood 99: 1517-1526, 2002
 - 48) Höftl L, Zelle-Rieser C, Gander H, Papesh C, Ramoner R, Bartsch G, Rogatsch H, Barsoum AL, Coggin JH Jr, Thurnher M: Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with tumor lysate-pulsed autologous dendritic cells. Clin Cancer Res 8: 3369-3376, 2002
 - 49) O'Rourke MG, Johnson M, Lanagan C, See J, Yang J, Bell JR, Slater GJ, Kerr BM, Crowe B, Purdie DM, Elliott SL, Ellem KA, Schmidt CW: Durable complete clinical responses in a phase I/II trial using an autologous melanoma cell/dendritic cell vaccine. Cancer Immunol Immunother 52: 387-395, 2003

- 50) Anderson PM, Bach FH, Ochoa AC: Augmentation of cell number and LAK activity in peripheral blood mononuclear cells activated with anti-CD3 and interleukin-2. Preliminary results in children with acute lymphocytic leukemia and neuroblastoma. *Cancer Immunol Immunother* 27 : 82-88, 1988
- 51) Egawa K : Immuno-cell therapy of cancer in Japan. *Anticancer Res* 24 : 3321-3326, 2004
- 52) Fujita K, Ikarashi H, Takakuwa K, Kodama S, Tokunaga A, Takahashi T, Tanaka K : Prolonged disease-free periods in patients with advanced epithelial ovarian cancer after adoptive transfer of tumor-infiltrating lymphocytes. *Clin Cancer Res* 1 : 501-507, 1995
- 53) Kimura H, Yamaguchi Y : A phase III randomized study of interleukin-2 lymphokine-activated killer cell immunotherapy combined with chemotherapy or radiotherapy after curative or noncurative resection of primary lung carcinoma. *Cancer* 80 : 42-49, 1997
- 54) Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, Yamasaki S, Kosuge T, Yamamoto J, Shimada K, Sakamoto M, Hirohashi S, Ohashi Y, Kakizoe T : Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma : a randomized trial. *Lancet* 356 : 802-807, 2000
- 55) Kono K, Takahashi A, Ichihara F, Amemiya H, Iizuka H, Fujii H, Sekikawa T, Matsumoto Y : Prognostic significance of adoptive immunotherapy with tumor-associated lymphocytes in patients with advanced gastric cancer : a randomized trial. *Clin Cancer Res* 8 : 1767-1771, 2002

(H 19. 1. 31 受稿)
