

<特集「腫瘍の生化学と分子生物学：最新の理解」>

腫瘍に対する細胞遺伝子治療の進歩

柳生 茂希*, 細井 創

京都府立医科大学大学院医学研究科小児発達医学

Advances of Cell and Gene therapy for Cancer Treatment

Shigeki Yagyū and Hajime Hosoi

Department of Pediatrics, Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

抄 録

腫瘍に対する細胞免疫治療や遺伝子治療は、従来の医療では治療し得なかった難治性がん患者に対しても有効な新規治療法として期待されている。本稿では、腫瘍細胞に対する遺伝子導入、T細胞遺伝子改変による細胞免疫療法、細胞治療の安全性を改善する遺伝子治療に焦点を当て、現在の腫瘍に対する細胞遺伝子治療の現状と可能性について概説する。

キーワード：細胞遺伝子治療、自殺遺伝子、腫瘍溶解性ウイルス、キメラT細胞受容体。

Abstract

Cell and gene therapy promises to provide an innovative and effective treatment even for the patients who fail to be treated by the current standard therapy. In this review, we outlined the advances of cells and gene therapy for cancer treatment, mainly focusing on the approaches that directly targeted the tumor, genetic modification of T cells, and gene transfer to improve safety of cell therapies.

Key Words: Cell therapy, Gene therapy, Suicide gene, Oncolytic virus, Chimeric antigen receptor.

はじめに

細胞遺伝子治療は従来の治療では治療し得なかった進行がんに対する新規治療法として大いに期待されている。腫瘍を細胞遺伝子治療の標的とする方法として、①腫瘍細胞に対して直接的に遺伝子導入し治療の標的とする②腫瘍細胞

を選択的に標的とするように宿主の免疫担当細胞を遺伝子改変する③宿主の造血幹細胞に遺伝子改変を加え、薬剤耐性を向上や安全性を改善して移植治療に応用する、など種々の方法が研究され、それぞれ臨床試験として応用されている。本稿では、腫瘍に対する細胞遺伝子治療の現状と最近の進歩について概説する。

平成27年10月29日受付

*連絡先 柳生茂希 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町465番地
shigeky@koto.kpu-m.ac.jp

腫瘍細胞を標的とした細胞遺伝子治療

腫瘍細胞を直接的に遺伝子治療の標的とするために、高い遺伝子導入効率を持つベクターを用いて選択的に腫瘍細胞にのみ遺伝子を導入し、腫瘍だけを特異的に傷害できるシステムが開発されてきた。その一部はすでに臨床試験として応用され始めてきているが、その中でも自殺遺伝子を用いた細胞遺伝子治療と腫瘍溶解性ウイルスを用いた遺伝子治療について述べる。

自殺遺伝子を用いた 腫瘍細胞に対する細胞遺伝子治療

自殺遺伝子とは、その遺伝子産物によって細胞死を誘導することが出来る遺伝子を指す。中でも、ヘルペスウイルス由来チミジンキナーゼ遺伝子 (*HSV-tk*) とガンシクロビル (GCV) を用いた遺伝子治療システムが最も詳細に研究さ

れている。GCVはヘルペスウイルス属感染症の治療薬として開発され、広く臨床現場で使用されているが、その抗ウイルス薬としての作用機序は、がんの遺伝子治療にも応用されてきた。ヘルペスウイルス属のゲノム中にコードされるチミジンキナーゼ遺伝子 (*HSV-tk*) は、GCVをGCV-triphosphateに代謝する。このGCV-triphosphateが標的細胞のDNAに取り込まれ、chain terminatorとしてDNAの伸長を阻害することで、HSV感染細胞の細胞死が誘導される¹⁾。この機構を応用し、*HSV-tk*を腫瘍細胞に遺伝子導入し、GCVを投与することによって、*HSV-tk*遺伝子を持つ腫瘍細胞を選択的に死滅させることが可能となる²⁾ (図1)。*HSV-tk*システムはその作用機序から主に分裂細胞に作用するため、適切なベクターを用いて腫瘍細胞に遺伝子導入することにより、増殖活性の高い腫瘍細胞にのみ選択的に抗腫瘍効果を発揮させることができ

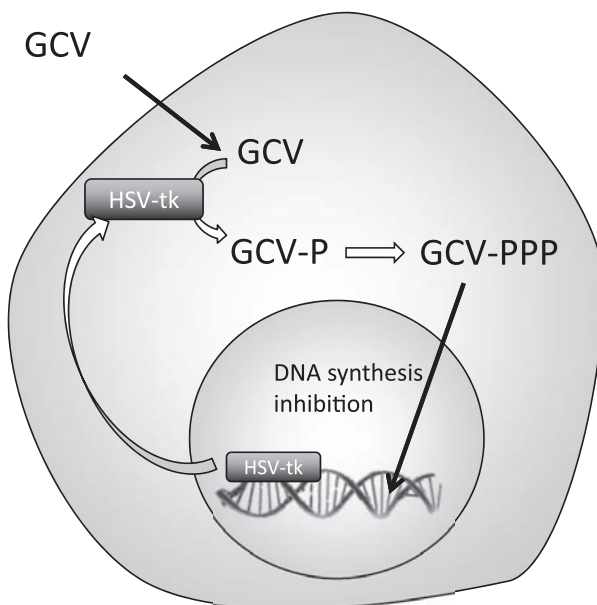


図1 *HSV-tk* システムによる細胞死誘導機構

遺伝子導入された *HSV-tk* は、GCVをGCV-monophosphate (GCV-P) にリン酸化し、さらに cellular phosphatase によって GCV-triphosphate (GCV-PPP) に代謝される。GCV-triphosphate は chain terminator として DNA 合成を阻害する。

る。さらには、GCV-triphosphateが細胞間結合を介して隣接する細胞に伝播されることにより、隣接細胞に対しても殺細胞効果を発揮する(bystander効果)ため³、*HSV-tk* 遺伝子が遺伝子導入されなかった周辺組織や腫瘍微小環境に対しても効果が期待される。

この*HSV-tk* システムを用いたがん遺伝子治療は実際に脳腫瘍や卵巣がんで臨床試験として応用されている⁴⁻⁹。膠芽腫を対象とした第3相臨床試験では、*HSV-tk* システムが組み込まれたアデノウイルスベクターを腫瘍内に直接投与することで遺伝子導入を行い、GCVの全身投与により*HSV-tk* システムを活性化させることで抗腫瘍効果が期待された。しかしながら、*HSV-tk* アデノウイルスベクターの高い安全性が報告されたものの、生存期間の延長は認められなかった⁹。その大きな理由として、アデノウイルスベクターの感染効率は極めて高いものの、導入された遺伝子発現が一時的であること、また、中和抗体の産生により、ウイルスベクター自身が宿主から排除されてしまうことが考えられている¹⁰。さらには、宿主の免疫学的機構によるベクター排除を回避するためには腫瘍内局所投与が必須となり、転移性腫瘍に対しては効果を発揮させることが出来ない。そのため、腫瘍に対する遺伝子治療をより有効にするためには、全身投与が可能な、標的組織への安全、かつ確実な遺伝子デリバリーシステムの確立が必要である。

このような問題点を回避するために、神経幹細胞、間葉系幹細胞など、細胞を用いたベクターデリバリーシステムが開発されてきた¹¹⁻¹⁶。間葉系幹細胞(MSC)は、骨髄や脂肪組織から単離され、それ自身高い増殖活性を持ち、adipocyte, osteoblast, chondroblastへの分化能を持つ。興味深いことに、MSCは炎症部位や腫瘍組織に特異的に遊走する性質を持つため¹²、腫瘍組織へのcellular carrierとしてMSCを用いる研究が進められている。マウス肺がんモデルの研究では、自殺遺伝子が導入されたアデノウイルスベクターをMSCに搭載し、MSCをマウスに全身投与することで、MSCが肺がん組織に特異的に

集積すること、MSCからアデノウイルスベクターが周囲組織に放出され、腫瘍組織に感染すること^{17,18}、また、自殺遺伝子の活性化により肺がんの縮小効果が見られ、マウス生存期間が延長することが報告され^{15,16}、新規の腫瘍に対する細胞遺伝子治療として注目を浴びている。

腫瘍溶解性ウイルスを用いた遺伝子治療

腫瘍溶解性ウイルスとは、選択的に腫瘍細胞内でのみウイルスが複製されるように遺伝子改変されたウイルスを指す。感染した腫瘍細胞は変性・融解するため、複製されたウイルス粒子は周囲に放出されて他の腫瘍細胞に感染し、さらに複製されることで抗腫瘍効果が増幅される。さらには、感染細胞の直接的な細胞死誘導のみではなく、宿主の免疫活性を増強させることでの抗腫瘍効果も期待される¹⁹。

20世紀初頭に、ウイルス感染後の腫瘍縮小効果が報告されて以来、種々の腫瘍溶解性をもつウイルスが単離され、腫瘍細胞のみで選択的に感染、複製する様にウイルスゲノムが改変されてきた。現在では、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、レオウイルス、ムンプスウイルス、ワクシニアウイルスなどが用いられている。選択的に腫瘍細胞のみでウイルス複製が行われるように、ウイルス複製に必須の遺伝子の欠失やプロモーターの改変など、特異性を高める工夫が行われている。例として、腫瘍溶解性アデノウイルス dl1520 (Onyx-015) は、そのウイルスゲノム中からウイルス複製に必須の蛋白をコードする*E1B* 遺伝子が欠失しており、p53が欠損した腫瘍細胞内でのみウイルス複製が行われるように改変されているため、選択的に抗腫瘍効果を発揮することが出来る²⁰。欧米ではすでに頭頸部腫瘍患者を対象として Onyx-015 の腫瘍内投与と全身化学療法の併用を行う臨床試験が施行され、高い奏効率を示したと報告されている²¹。しかし、Onyx-015 は頭頸部腫瘍患者を対象として、中国でその使用が承認されたにもかかわらず²²、その持続性奏効率の低さから米国をはじめその他の国々では、治療薬とし

での承認には至っていない。

これに対し、腫瘍細胞への選択的な導入効率の改善と、宿主の免疫反応を惹起することによる持続的な抗腫瘍効果を目的として、新規腫瘍溶解性ウイルス治療薬である Talimogene laherparepvec (T-vec) が開発された²³⁾。T-vec は腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルスに、免疫賦活作用を期待して GM-SCF を分泌させるようにゲノム改変することで作成されており、転移性悪性黒色腫に対して高い持続的奏効率を示すことが報告された²⁴⁾。この結果を受けて、T-vec は新規の免疫調整薬として米国 FDA の承認が推奨されており、早期の承認と臨床への応用が期待されている。

T 細胞に対する遺伝子改変 遺伝子改変キメラ受容体 T 細胞療法

がん患者では、腫瘍細胞に対する免疫機構の破綻により、腫瘍細胞が宿主の免疫機構によって排除できない状態となっている。がん患者の腫瘍免疫機構を回復させるために、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) がもつ T 細胞受容体 (TCR) に対して遺伝子改変を加え、直接的かつ選択的に腫瘍細胞を CTL に認識させ、抗腫瘍効果を発揮するという遺伝子改変キメラ受容体 T 細胞 (chimeric antigen receptor T-cell; CAR-T) 治療が近年開発されてきた²⁵⁾。CAR-T は、腫瘍抗原に特異的なモノクローナル抗体の変換領域軽鎖 (V_L) と重鎖 (V_H) を直列に結合させた抗体 (single chain Fv; scFv) を N 末端側に、TCR 複合体 CD3 細胞内ドメインである ζ 鎖 (CD3 ζ) を C 末端側に、一本鎖の状態で配列させたキメラ蛋白である (図 2)。CAR-T 細胞は、腫瘍細胞の主要組織適合遺伝子複合体 class I の発現とは無関係に、scFv で腫瘍抗原を認識するとそのシグナルは CD3 ζ を介して T 細胞内に伝達され、T 細胞が活性化する。さらに、キメラ受容体と T 細胞の共刺激分子である CD28 や CD137 (4-1BB) の共発現や²⁶⁾²⁷⁾ (第 2 世代 CAR)、T 細胞増殖因子 IL-15 の同時発現²⁸⁾ などの改変が加えられ、CAR-T 細胞の抗腫瘍効果がより改善されている。

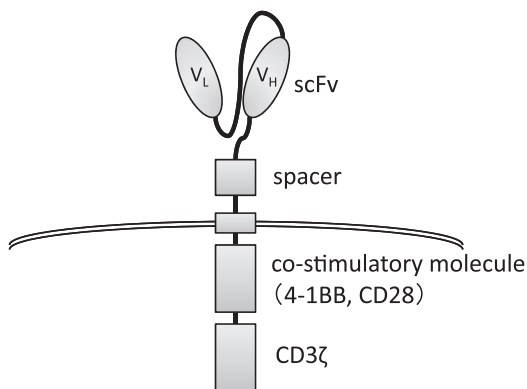


図 2 キメラ T 細胞受容体 (第 2 世代 CAR)

CAR-T 細胞を用いたがん治療はすでに臨床試験として応用されている。CD19 陽性 B リンパ球系腫瘍を対象とした第 3 相臨床試験では、再発急性リンパ性白血病患者に対して、患者よりあらかじめ T 細胞を採取した上で CD19 特異的 CAR を遺伝子導入し、培養、増殖させた上で患者体内に輸注され、投与を受けた 5 例全例で骨髓での分子生物学的寛解が得られたと報告されている²⁹⁾。また、CAR-T 細胞療法では、細胞膜表面たんぱくのみならず、がん糖鎖抗原を標的とすることも可能であるため、様々ながん腫に対して CAR-T 細胞療法を提案することができる。実際に、小児悪性固形腫瘍の代表である神経芽腫患者を対象に、神経芽腫細胞が特異的に発現する糖脂質である disialoganglioside 2 (GD2) を標的とした GD2-CAR-T 細胞療法が臨床応用されている。治療不応性あるいは再発性神経芽腫患者を対象とした臨床試験では、患者 T 細胞より作成された GD2-CAR-T 細胞が輸注され、活動性病変を有する腫瘍残存例 11 例のうち 3 例に完全寛解が得られたと報告されている³⁰⁾。これ以外にも、ERBB2 (HER2/neu) 特異的 CAR-T 細胞 (大腸がん、膠芽腫など)、CD20 特異的 CAR-T 細胞 (B 細胞性リンパ腫) など、種々の標的に対して CAR-T 細胞が作成、臨床試験に応用されており³¹⁾³²⁾、その結果が待たれている。

腫瘍免疫回避機構を 標的とした遺伝子改変

上記のようにT細胞を用いた細胞遺伝子治療は次世代のがん治療を担う治療として大きく期待されているものの、多くの腫瘍細胞が有する腫瘍免疫回避機構により、その抗腫瘍効果は低減される可能性を有している。そのため、次なる工夫として腫瘍免疫回避機構に対抗するためのさらなる遺伝子改変が試みられるようになってきた。

腫瘍免疫機構回避の一例として、腫瘍細胞からのTGF β 分泌による免疫制御があげられる。腫瘍細胞は、組織中にTGF β を分泌し、腫瘍組織へと遊走してきたCTLの増殖や活性化を阻害し、制御性T細胞(regulatory T cell; Treg)を活性化させる。TGF β は、T細胞上に発現するTGF β 受容体に結合し、これによってTGF β 受容体が四量体化することで抑制性シグナルがT細胞内に伝達される。興味深いことに、TGF β 受容体の細胞内ドメインを欠失させた遺伝子改変型TGF β 受容体(dominant negative TGF β receptor II; dnTGF β RII)をT細胞に遺伝子導入し、腫瘍由来のTGF β シグナル伝達を遮断することで、腫瘍免疫回避機構を低減させ、CTLによる抗腫瘍効果が増強することが明らかとなった³³⁾。実際に、Epstein-Barr virus (EBV) 抗原陽性Hodgkinリンパ腫、非Hodgkinリンパ腫患者を対象とした臨床試験では、EBV特異的CTL治療に反応しなかった患者に対しても、dnTGF β RII導入EBV特異的CTLでは抗腫瘍効果を認めたと報告されている³⁴⁾。dnTGF β RII以外にも、遺伝子改変によるPDL1-PD1経路やCTLA4経路遮断による腫瘍免疫の増強など、腫瘍免疫機構回避を標的とした遺伝子治療の報告が相次いでおり³⁵⁾、さらなる進歩が望まれる。

細胞治療の安全性を 高めるための遺伝子改変

腫瘍細胞を標的とする細胞免疫治療や遺伝子治療では、常に予想しない有害事象が発生する危険性を伴う。例えば、最も古典的な細胞免疫

治療である同種造血幹細胞移植では、有害事象として宿主細胞に対する過剰な免疫反応によるcytokine release syndrome (CRS)やgraft versus host disease (GvHD)が大きな問題となる。薬剤による有害事象とは異なり、細胞治療や遺伝子治療に伴う有害事象は、導入遺伝子の残存や輸注細胞の体内での増殖のために、その有害事象が持続、増幅しやすい。そのため、細胞遺伝子治療を安全に臨床応用するためには、予期せぬ有害事象を軽減し、安全性を高める工夫が不可欠となる。

この問題に対して、自殺遺伝子による細胞死誘導機構を細胞治療のセーフティ・スイッチとして応用する試みがなされている。つまり、先述したHSV-*tk*システムをあらかじめT細胞に遺伝子導入し、造血幹細胞移植後感染症や再発の際にHSV-*tk*導入ドナーT細胞を患者に輸注することで、抗ウイルス効果、抗腫瘍効果を期待する反面、重症GvHDが惹起された際には、GCVを投与してHSV-*tk*導入T細胞に細胞死を誘導する³⁶⁾。HSV-*tk*導入ドナーT細胞を用いた移植後感染症治療はすでに第3相臨床試験でその効果が実証され、極めて有効かつ安全に治療を行うことが出来ることが報告されている³⁷⁾³⁸⁾。一方で、HSV-*tk*システムは宿主細胞のDNA合成システムに干渉することで細胞死を誘導するため、その効果が発現するまでには数日程度要し、かつ細胞分裂能の低い細胞には効果が弱い。また、HSV-*tk*遺伝子産物はウイルス由来であり免疫原性を持つため、宿主の免疫細胞の標的となり、遺伝子導入細胞は宿主免疫機構によって排除される。そのため、HSV-*tk*導入ドナーT細胞は宿主免疫機能によって排除されること、また、症状出現から症状消失までに数日以上かかってしまうという問題点も明らかとなった。

最近、caspaseによる内因性アポトーシス機構を応用した新たな人為的細胞死誘導システムが細胞治療のセーフティ・スイッチとして応用され始めている³⁹⁾。Caspase 9は、その酵素活性が不活化された前駆体(pro-caspase 9)として合成される。細胞が傷害を受けると、ミトコン

ドリアから放出される cytochrome C や Apaf-1 が複合体を形成し、この複合体が pro-caspase 9 の caspase recruit domain (CARD) と会合し、caspase-9 は二量体化する。これによって pro-caspase-9 はプロテアーゼによる切断を受けて活性化され、下流である caspase-3 をさらに活性化させることでアポトーシスを誘導する (図3)。この機構を応用したセーフティ・スイッチシステムとして、inducible caspase 9 (iC9) が開発された⁴⁰⁾。iC9 は CARD をコードする遺伝子領域が *FK binding protein 12 (FKBP12)* 遺伝子に置き換えられる事によって、tacrolimus 誘導体である AP1903 (chemical inducer of dimerization; CID) 存在下でのみ二量体化し、活性化す⁴⁰⁾⁴¹⁾ (図3)。iC9 はヒト由来の変換たんぱくであり免疫原性がないと考えられること、CID は生物学的に不活性であり、生体に対する毒性が報告されていないこと⁴²⁾、アポトーシス経路を直接的に活性化させることか

ら効果発現が極めて早いこと³⁹⁾ から、細胞治療に対して理想的なセーフティ・スイッチといえる。実際に、iC9 が導入された T 細胞は、CID 投与で30分以内にアポトーシスが誘導され、24 時間後には90%以上の iC9 導入 T 細胞で細胞死が誘導されたと報告されている³⁹⁾。さらに、造血幹細胞移植後のウイルス感染症患者に対する iC9 導入 T 細胞 (iC9-T) を用いた臨床試験では、iC9-T 輸注後に重症 GvHD を発症した患者に対して CID が投与され、投与後30分でおおよそ90%以上の iC9-T が体内から排除され、24 時間以内に GvHD に伴う症状が消失したと報告されている⁴³⁾⁴⁴⁾。iC9 を用いたセーフティ・スイッチシステムは、造血幹細胞移植後のドナー T 細胞輸注のみならず、CAR-T 細胞療法²⁸⁾ や間葉系幹細胞を用いた細胞治療⁴⁵⁾、さらに、iPS 細胞を用いた再生医療⁴⁶⁾⁴⁷⁾ にも応用することが可能であり、その発展が大いに期待されている。

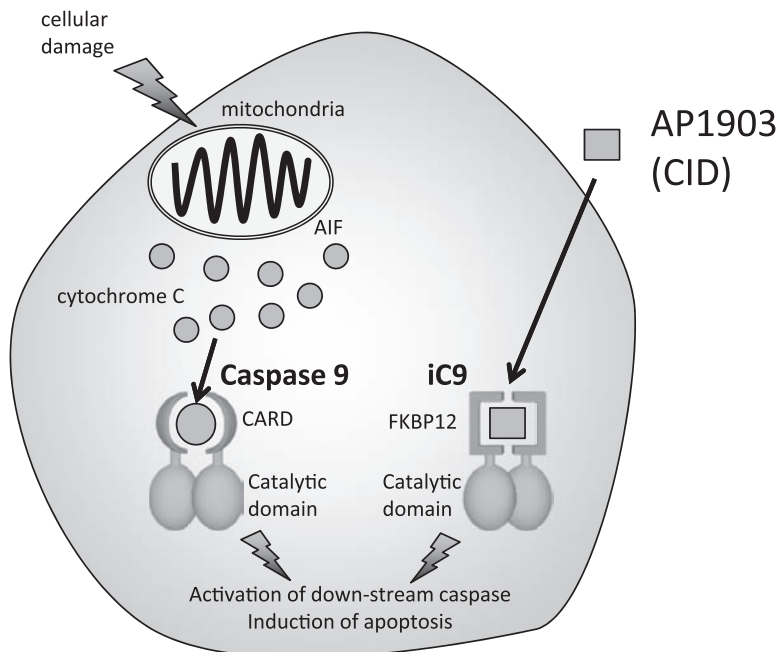


図3 inducible caspase 9 (iC9) システムによる細胞死誘導機構

iC9 は、AP1903 (chemical inducer of dimerization; CID) の存在下で二量体化し、下流の apoptosis cascade を活性化させることによって細胞死を誘導する。

おわりに

以上のように、腫瘍に対する細胞遺伝子治療の発展はめざましく、一部はすでに臨床応用され始めている。しかしながら、多くの薬剤開発とは異なり、大きな開発費用が生じること、さらには、細胞遺伝子治療の臨床応用が始まって以降も、疾患や患者ごとに製剤が個別化されるために治療に莫大な費用がかかることから、商業面での制約が極めて大きく、臨床応用への大きなハードルとなっている。また、本稿で概説

した細胞遺伝子治療の治療効果、安全性という面でも、安全、確実な遺伝子デリバリーシステムの確立、導入細胞・遺伝子の生体内での挙動、腫瘍細胞への高い選択性をもったベクター開発など、克服しなければいけない問題点も多い。しかしながら、従来の治療では治癒し得なかった難治性がんに対して極めて有効な新規治療法である可能性を大いに秘めており、早期の実用化に向けてさらなる進歩が待たれる。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) Niculescu-Duvaz I, Springer CJ. Introduction to the background, principles, and state of the art in suicide gene therapy. *Mol Biotechnol* 2005; 30: 71-88.
- 2) Pulkkanen KJ, Yla-Herttuala S. Gene therapy for malignant glioma: current clinical status. *Mol Ther* 2005; 12: 585-598.
- 3) Aghi M, Hochberg F, Breakefield XO. Prodrug activation enzymes in cancer gene therapy. *J Gene Med* 2000; 2: 148-164.
- 4) Ram Z, Culver KW, Oshiro EM, Viola JJ, DeVroom HL, Otto E, Long Z, Chiang Y, McGarrity GJ, Muul LM, Katz D, Blaese RM, Oldfield EH. Therapy of malignant brain tumors by intratumoral implantation of retroviral vector-producing cells. *Nat Med* 1997; 3: 1354-1361.
- 5) Izquierdo M, Martin V, de Felipe P, Izquierdo JM, Perez-Higueras A, Cortes ML, Paz JF, Isla A, Blazquez MG. Human malignant brain tumor response to herpes simplex thymidine kinase (HSVtk)/ganciclovir gene therapy. *Gene Ther* 1996; 3: 491-495.
- 6) Packer RJ, Raffel C, Villablanca JG, Tonn JC, Burdach SE, Burger K, LaFond D, McComb JG, Cogen PH, Vezina G, Kapcala LP. Treatment of progressive or recurrent pediatric malignant supratentorial brain tumors with herpes simplex virus thymidine kinase gene vector-producer cells followed by intravenous ganciclovir administration. *J Neurosurg.* 2000; 92: 249-254.
- 7) Palu G, Cavaggioni A, Calvi P, Franchin E, Pizzato M, Boschetto R, Parolin C, Chilosi M, Ferrini S, Zanusso A, Colombo F. Gene therapy of glioblastoma multiforme via combined expression of suicide and cytokine genes: a pilot study in humans. *Gene Ther* 1999; 6: 330-337.
- 8) Prados MD, McDermott M, Chang SM, Wilson CB, Fick J, Culver KW, Van Gilder J, Keles GE, Spence A, Berger M. Treatment of progressive or recurrent glioblastoma multiforme in adults with herpes simplex virus thymidine kinase gene vector-producer cells followed by intravenous ganciclovir administration: a phase I/II multi-institutional trial. *J Neurooncol* 2003; 65: 269-278.
- 9) Westphal M, Yla-Herttuala S, Martin J, Warnke P, Menei P, Eckland D, Kinley J, Kay R, Ram Z. Adenovirus-mediated gene therapy with sitimagene ceradenovec followed by intravenous ganciclovir for patients with operable high-grade glioma (ASPECT): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 823-833.
- 10) Chirmule N, Probert K, Magosin S, Qian Y, Qian R, Wilson J. Immune responses to adenovirus and adeno-associated virus in humans. *Gene Ther* 1999; 6: 1574-1583.
- 11) Aboody KS, Brown A, Rainov NG, Bower KA, Liu S, Yang W, Small JE, Herrlinger U, Ourednik V, Black PM, Breakefield XO, Snyder EY. Neural stem cells display extensive tropism for pathology in adult brain: evidence from intracranial gliomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 12846-12851.
- 12) Mosca JD, Hendricks JK, Buyaner D, Davis-Sproul J, Chuang LC, Majumdar MK, Chopra R, Barry F, Murphy M, Thiede MA, Junker U, Rigg RJ, Forestell

- SP, Bohnlein E, Storb R, Sandmaier BM. Mesenchymal stem cells as vehicles for gene delivery. *Clin Orthop Relat Res* 2000; S71-90.
- 13) Brown AB, Yang W, Schmidt NO, Carroll R, Leishear KK, Rainov NG, Black PM, Breakefield XO, Aboody KS. Intravascular delivery of neural stem cell lines to target intracranial and extracranial tumors of neural and non-neural origin. *Hum Gene Ther* 2003; 14: 1777-1785.
 - 14) Ahmed AU, Alexiades NG, Lesniak MS. The use of neural stem cells in cancer gene therapy: predicting the path to the clinic. *Curr Opin Mol Ther* 2010; 12: 546-552.
 - 15) Ando M, Hoyos V, Yagyu S, Tao W, Ramos CA, Dotti G, Brenner MK, Bouchier-Hayes L. Bortezomib sensitizes non-small cell lung cancer to mesenchymal stromal cell-delivered inducible caspase-9-mediated cytotoxicity. *Cancer Gene Ther* 2014; 21: 472-482.
 - 16) Hoyos V, Del Bufalo F, Yagyu S, Ando M, Dotti G, Suzuki M, Bouchier-Hayes L, Alemany R, Brenner MK. Mesenchymal Stromal Cells for Linked Delivery of Oncolytic and Apoptotic Adenoviruses to Non-small-cell Lung Cancers. *Mol Ther* 2015; 23: 1497-1506.
 - 17) Stoff-Khalili MA, Rivera AA, Mathis JM, Banerjee NS, Moon AS, Hess A, Rocconi RP, Numnum TM, Everts M, Chow LT, Douglas JT, Siegal GP, Zhu ZB, Bender HG, Dall P, Stoff A, Pereboeva L, Curiel DT. Mesenchymal stem cells as a vehicle for targeted delivery of CRAbs to lung metastases of breast carcinoma. *Breast Cancer Res Treat* 2007; 105: 157-167.
 - 18) Hai C, Jin YM, Jin WB, Han ZZ, Cui MN, Piao XZ, Shen XH, Zhang SN, Sun HH. Application of mesenchymal stem cells as a vehicle to deliver replication-competent adenovirus for treating malignant glioma. *Chin J Cancer* 2012; 31: 233-240.
 - 19) Chiocca EA. Oncolytic viruses. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 938-950.
 - 20) Heise C, Sampson-Johannes A, Williams A, McCormick F, Von Hoff DD, Kirn DH. ONYX-015, an E1B gene-attenuated adenovirus, causes tumor-specific cytolysis and antitumoral efficacy that can be augmented by standard chemotherapeutic agents. *Nat Med* 1997; 3: 639-645.
 - 21) Khuri FR, Nemunaitis J, Ganly I, Arseneau J, Tannock IF, Romel L, Gore M, Ironside J, MacDougall RH, Heise C, Randlev B, Gillenwater AM, Bruso P, Kaye SB, Hong WK, Kirn DH. A controlled trial of intratumoral ONYX-015, a selectively-replicating adenovirus, in combination with cisplatin and 5-fluorouracil in patients with recurrent head and neck cancer. *Nat Med* 2000; 6: 879-885.
 - 22) Yu W, Fang H. Clinical trials with oncolytic adenovirus in China. *Curr Cancer Drug Targets* 2007; 7: 141-148.
 - 23) Liu BL, Robinson M, Han ZQ, Branston RH, English C, Reay P, McGrath Y, Thomas SK, Thornton M, Bullock P, Love CA, Coffin RS. ICP34.5 deleted herpes simplex virus with enhanced oncolytic, immune stimulating, and anti-tumour properties. *Gene Ther* 2003; 10: 292-303.
 - 24) Andtbacka RH, Kaufman HL, Collichio F, Amatruda T, Senzer N, Chesney J, Delman KA, Spitler LE, Puzanov I, Agarwala SS, Milhem M, Cranmer L, Curti B, Lewis K, Ross M, Guthrie T, Linette GP, Daniels GA, Harrington K, Middleton MR, Miller WH Jr, Zager JS, Ye Y, Yao B, Li A, Doleman S, VanderWalde A, Gansert J, Coffin RS. Talimogene Laherparepvec Improves Durable Response Rate in Patients With Advanced Melanoma. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2780-2788.
 - 25) Eshhar Z, Waks T, Gross G, Schindler DG. Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993; 90: 720-724.
 - 26) Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, Riviere I, Sadelain M. Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta/CD28 receptor. *Nat Biotechnol* 2002; 20: 70-75.
 - 27) Imai C, Mihara K, Andreansky M, Nicholson IC, Pui CH, Geiger TL, Campana D. Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 2004; 18: 676-684.
 - 28) Hoyos V, Savoldo B, Quintarelli C, Mahendravada A, Zhang M, Vera J, Heslop HE, Rooney CM, Brenner MK, Dotti G. Engineering CD19-specific T lymphocytes with interleukin-15 and a suicide gene to enhance their anti-lymphoma/leukemia effects and safety. *Leukemia* 2010; 24: 1160-1170.
 - 29) Brentjens RJ, Davila ML, Riviere I, Park J, Wang X, Cowell LG, Bartido S, Stefanski J, Taylor C, Olszewska M, Borquez-Ojeda O, Qu J, Wasielewska T, He Q,

- Bernal Y, Rijo IV, Hedvat C, Kobos R, Curran K, Steinherz P, Jurcic J, Rosenblat T, Maslak P, Frattini M, Sadelain M. CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med* 2013; 5: 177ra38.
- 30) Louis CU, Savoldo B, Dotti G, Pule M, Yvon E, Myers GD, Rossig C, Russell HV, Diouf O, Liu E, Liu H, Wu MF, Gee AP, Mei Z, Rooney CM, Heslop HE, Brenner MK. Antitumor activity and long-term fate of chimeric antigen receptor-positive T cells in patients with neuroblastoma. *Blood* 2011; 118: 6050-6056.
- 31) Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, Robertson C, Ghazi A, Gerken C, Liu E, Dakhova O, Ashoori A, Corder A, Gray T, Wu MF, Liu H, Hicks J, Rainusso N, Dotti G, Mei Z, Grilley B, Gee A, Rooney CM, Brenner MK, Heslop HE, Wels WS, Wang LL, Anderson P, Gottschalk S. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. *J Clin Oncol* 2015; 33: 1688-1696.
- 32) Till BG, Jensen MC, Wang J, Qian X, Gopal AK, Maloney DG, Lindgren CG, Lin Y, Pagel JM, Budde LE, Raubitschek A, Forman SJ, Greenberg PD, Riddell SR, Press OW. CD20-specific adoptive immunotherapy for lymphoma using a chimeric antigen receptor with both CD28 and 4-1BB domains: pilot clinical trial results. *Blood* 2012; 119: 3940-3950.
- 33) Bollard CM, Rossig C, Calonge MJ, Huls MH, Wagner HJ, Massague J, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM. Adapting a transforming growth factor beta-related tumor protection strategy to enhance antitumor immunity. *Blood* 2002; 99: 3179-3187.
- 34) Bollard CM, Dotti G, Gottschalk S, Mims M, Liu H, Gee AP, Brenner MK, Heslop HE, Rooney CM. Administration of TGF β -Resistant Tumor-Specific Cytotoxic T Lymphocytes (CTL) to Patients with EBV-Associated Hodgkin's Lymphoma (HL) and Non-Hodgkin Lymphoma (NHL) *Mol Ther* 2012; 20: S54.
- 35) Engeland CE, Grossardt C, Veinalde R, Bossow S, Lutz D, Kaufmann JK, Shevchenko I, Umansky V, Nettelbeck DM, Weichert W, Jager D, von Kalle C, Ungerechts G. CTLA-4 and PD-L1 checkpoint blockade enhances oncolytic measles virus therapy. *Mol Ther* 2014; 22: 1949-1959.
- 36) Ciceri F, Bonini C, Gallo-Stampino C, Bordignon C. Modulation of GvHD by suicide-gene transduced donor T lymphocytes: clinical applications in mismatched transplantation. *Cytotherapy* 2005; 7: 144-149.
- 37) Ciceri F, Bonini C, Marktel S, Zappone E, Servida P, Bernardi M, Pescarollo A, Bondanza A, Peccatori J, Rossini S, Magnani Z, Salomoni M, Benati C, Ponzoni M, Callegaro L, Corradini P, Bregni M, Traversari C, Bordignon C. Antitumor effects of HSV-TK-engineered donor lymphocytes after allogeneic stem-cell transplantation. *Blood* 2007; 109: 4698-4707.
- 38) Traversari C, Marktel S, Magnani Z, Mangia P, Russo V, Ciceri F, Bonini C, Bordignon C. The potential immunogenicity of the TK suicide gene does not prevent full clinical benefit associated with the use of TK-transduced donor lymphocytes in HSCT for hematologic malignancies. *Blood* 2007; 109: 4708-4715.
- 39) Straathof KC, Pule MA, Yotnda P, Dotti G, Vanin EF, Brenner MK, Heslop HE, Spencer DM, Rooney CM. An inducible caspase 9 safety switch for T-cell therapy. *Blood* 2005; 105: 4247-4254.
- 40) Spencer DM, Wandless TJ, Schreiber SL, Crabtree GR. Controlling signal transduction with synthetic ligands. *Science* 1993; 262: 1019-1024.
- 41) Fan L, Freeman KW, Khan T, Pham E, Spencer DM. Improved artificial death switches based on caspases and FADD. *Hum Gene Ther* 1999; 10: 2273-2285.
- 42) Iulucci JD, Oliver SD, Morley S, Ward C, Ward J, Dalgarno D, Clackson T, Berger HJ. Intravenous safety and pharmacokinetics of a novel dimerizer drug, AP1903, in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol* 2001; 41: 870-879.
- 43) Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, Fujita Y, Kennedy-Nasser A, Martinez C, Straathof K, Liu E, Durett AG, Grilley B, Liu H, Cruz CR, Savoldo B, Gee AP, Schindler J, Krance RA, Heslop HE, Spencer DM, Rooney CM, Brenner MK. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med* 2011; 365: 1673-1683.
- 44) Zhou X, Dotti G, Krance RA, Martinez CA, Naik S, Kamble RT, Durett AG, Dakhova O, Savoldo B, Di Stasi A, Spencer DM, Lin YF, Liu H, Grilley BJ, Gee AP, Rooney CM, Heslop HE, Brenner MK. Inducible caspase-9 suicide gene controls adverse effects from alloplete T cells after haploidentical stem cell transplantation. *Blood* 2015; 125: 4103-4113.

- 45) Ramos CA, Asgari Z, Liu E, Yvon E, Heslop HE, Rooney CM, Brenner MK, Dotti G. An inducible caspase 9 suicide gene to improve the safety of mesenchymal stromal cell therapies. *Stem Cells* 2010; 28: 1107-1115.
- 46) Yagyu S, Hoyos V, Del Bufalo F, Brenner MK. An Inducible Caspase-9 Suicide Gene to Improve the Safety of Therapy Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Mol Ther* 2015; 23: 1475-1485.
- 47) Ando M, Nishimura T, Yamazaki S, Yamaguchi T, Kawana-Tachikawa A, Hayama T, Nakauchi Y, Ando J, Ota Y, Takahashi S, Nishimura K, Ohtaka M, Nakanishi M, Miles JJ, Burrows SR, Brenner MK, Nakauchi H. A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Rejuvenated T Cell Therapy. *Stem Cell Reports* 2015; 5: 597-608.

著者プロフィール



柳生 茂希 Shigeki Yagyu

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科小児発達医学・助教

略歴：2000年3月 京都府立医科大学医学部 卒業

2000年4月 京都府立医科大学小児科

2005年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科 入学

2009年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科 修了
博士（医学）

2009年4月 京都府立与謝の海病院小児科

2011年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科小児発達医学 助教

2013年2月 Postdoctoral Associate, Center for Cell and Gene Therapy,
Baylor college of Medicine, Texas Children's Hospital, and
Houston Methodist Hospital

2015年8月～現職

専門分野：小児腫瘍学

- 主な業績：1. Hoyos V, Del Bufalo F, Yagyu S, Ando M, Dotti G, Suzuki M, Bouchier-Hayes L, Alemany R, Brenner MK. Mesenchymal Stromal Cells for Linked Delivery of Oncolytic and Apoptotic Adenoviruses to Non-small-cell Lung Cancers. *Mol Ther* 2015; 23: 1497-1506.
2. Yagyu S, Hoyos V, Del Bufalo F, Brenner MK. An Inducible Caspase-9 Suicide Gene to Improve the Safety of Therapy Using Human Induced Pluripotent Stem Cells. *Mol Ther* 2015; 23: 1475-1485.
3. Ninomiya S, Narala N, Huye L, Yagyu S, Savoldo B, Dotti G, Heslop HE, Brenner MK, Rooney CM, Ramos CA. Tumor indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) inhibits CD19-CAR T cells and is downregulated by lymphodepleting drugs. *Blood* 2015; 125: 3905-3916.
4. Farzad L, Cerullo V, Yagyu S, Bertin T, Hemminki A, Rooney C, Lee B, Suzuki M. Combinatorial treatment with oncolytic adenovirus and helper-dependent adenovirus augments adenoviral cancer gene therapy. *Mol Ther Oncolytics* 2014; 14008.
5. Ando M, Hoyos V, Yagyu S, Tao W, Ramos CA, Dotti G, Brenner MK, Bouchier-Hayes L. Bortezomib sensitizes non-small cell lung cancer to mesenchymal stromal cell-delivered inducible caspase-9-mediated cytotoxicity. *Cancer Gene Ther* 2014; 21: 472-482.
6. Yagyu S, Iehara T, Hosoi H. MYCN Nonamplified Neuroblastoma: Detection of Tumor-Derived Cell-Free DNA in Serum for Predicting Prognosis of Neuroblastoma. *Pediatric Cancer, Volume 4*, Hayat, M.A. (Ed.), ISBN 978-94-007-6591-7, Springer Netherlands, DOI 10.1007/978-94-007-6591-7. 2013.
7. Yagyu S, Iehara T. A Novel Diagnostic Tool for Therapy Stratification of Neuroblastoma: Preoperative Analysis of Tumor Biology Using Circulating Tumor-released DNA in Serum. *Neuroblastoma*, Prof. Hiroyuki Shimada (Ed.) ISBN: 978-953-51-1128-3, In Tech, DOI: 10.5772/55793. 2013.
8. Sugimoto T, Gotoh T, Yagyu S, Kuroda H, Iehara T, Hosoi H, Ohta S, Ohira M, Nakagawara A. A MYCN-amplified cell line derived from a long-term event-free survivor among our sixteen established neuroblastoma cell lines. *Cancer Lett* 2013; 331: 115-121.
9. Yagyu S, Iehara T, Gotoh T, Miyachi M, Katsumi Y, Kikuchi K, Tsuchiya K, Osone S, Kuroda H, Sugimoto T, Sawada T, Hosoi H. Preoperative analysis of 11q loss using circulating tumor-released DNA in serum: a novel diagnostic tool for therapy stratification of neuroblastoma. *Cancer Lett* 2011; 309: 185-189.
10. Miyachi M, Kakazu N, Yagyu S, Katsumi Y, Tsubai-Shimizu S, Kikuchi K, Tsuchiya K, Iehara T, Hosoi H. Restoration of p53 pathway by nutlin-3 induces cell cycle arrest and apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4077-4084.
11. Yagyu S, Gotoh T, Iehara T, Miyachi M, Katsumi Y, Tsubai-Shimizu S, Kikuchi K, Tamura S, Tsuchiya K, Imamura T, Misawa-Furihata A, Sugimoto T, Sawada T, Hosoi H. Circulating methylated-DCR2 gene in serum as an indicator of prognosis and therapeutic efficacy in patients with MYCN nonamplified neuroblastoma. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 7011-7019.
12. Yagyu S, Morimoto A, Kakazu N, Tamura S, Fujiki A, Nakase Y, Iehara T, Hosoi H, Kuroda H. Late appearance of a Philadelphia chromosome in a patient with therapy-related acute myeloid leukemia and high expression of EVI1. *Cancer Genet Cytogenet* 2008; 180: 115-120.
13. Yagyu S, Kuroda H, Fujiki A, Tamura S, Iehara T, Morimoto A, Hosoi H, Sugimoto T, Imashuku S. Successful non-T-cell-depleted HLA-haploidentical 3-loci mismatched bone marrow transplantation. *Eur J Haematol* 2005; 74: 529-532.