

ガンやエイズの免疫抵抗性を高める
ヒト樹状細胞の簡易で短期間での分化培養方法

末梢血単核球からヒト樹状細胞(DC)の
短期分化培養

琉球大学 大学院医学研究科 免疫学講座

田中勇悦

技術の概要

ガンの免疫療法で第4の選択肢として注目を浴びている免疫療法は、樹状細胞免疫療法である。この細胞は患者の免疫力を促進するために重要な働きを持つことから、試験管内で大量の調製し、患者に戻すことにより、ガンへの抵抗力を増強できる。本発明は、簡単にしかも短期に患者の樹状細胞を分化させる方法である。ガンやエイズ等の難治性の感染症への応用が期待される。

従来技術との比較

現在、臨床でがんの免疫療法で使われている樹状細胞は、患者末梢血液に含まれる単球を精製して、IL-4とGM-CSFと呼ばれるサイトカインを添加して培養されたものである。この方法は世界的に広く使われている方法であり、約1週間で末梢血の単球から樹状細胞を分化する。

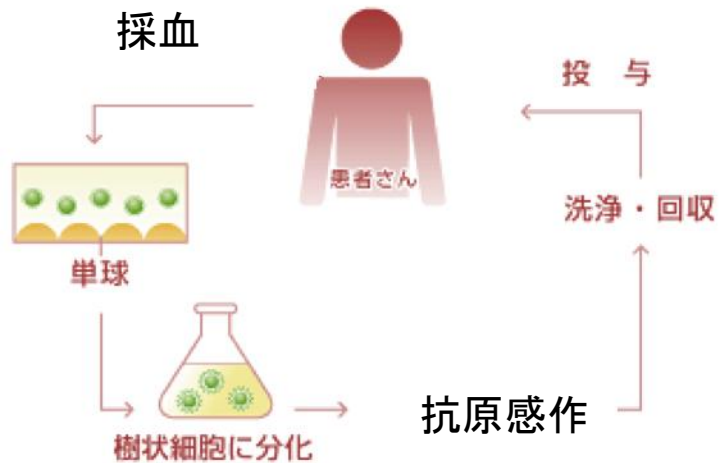
本方法は、**未精製単球から**、**2日間**で樹状細胞を得る方法である。

樹状細胞免疫療法に関するテレビ放映

World Business Satellite
12/20/2010

樹状細胞を用いたガンや感染症の免疫療法

免疫刺激活性を持つ樹状細胞は単球から分化培養できる



疾患	抗原の選択
ガン	癌細胞抽出液 ガン関連抗原 ガンウイルス抗原
HIV-1感染症	不活化HIV-1粒子 HIV-1ペプチド

DCを用いたAIDS治療法の臨床試験

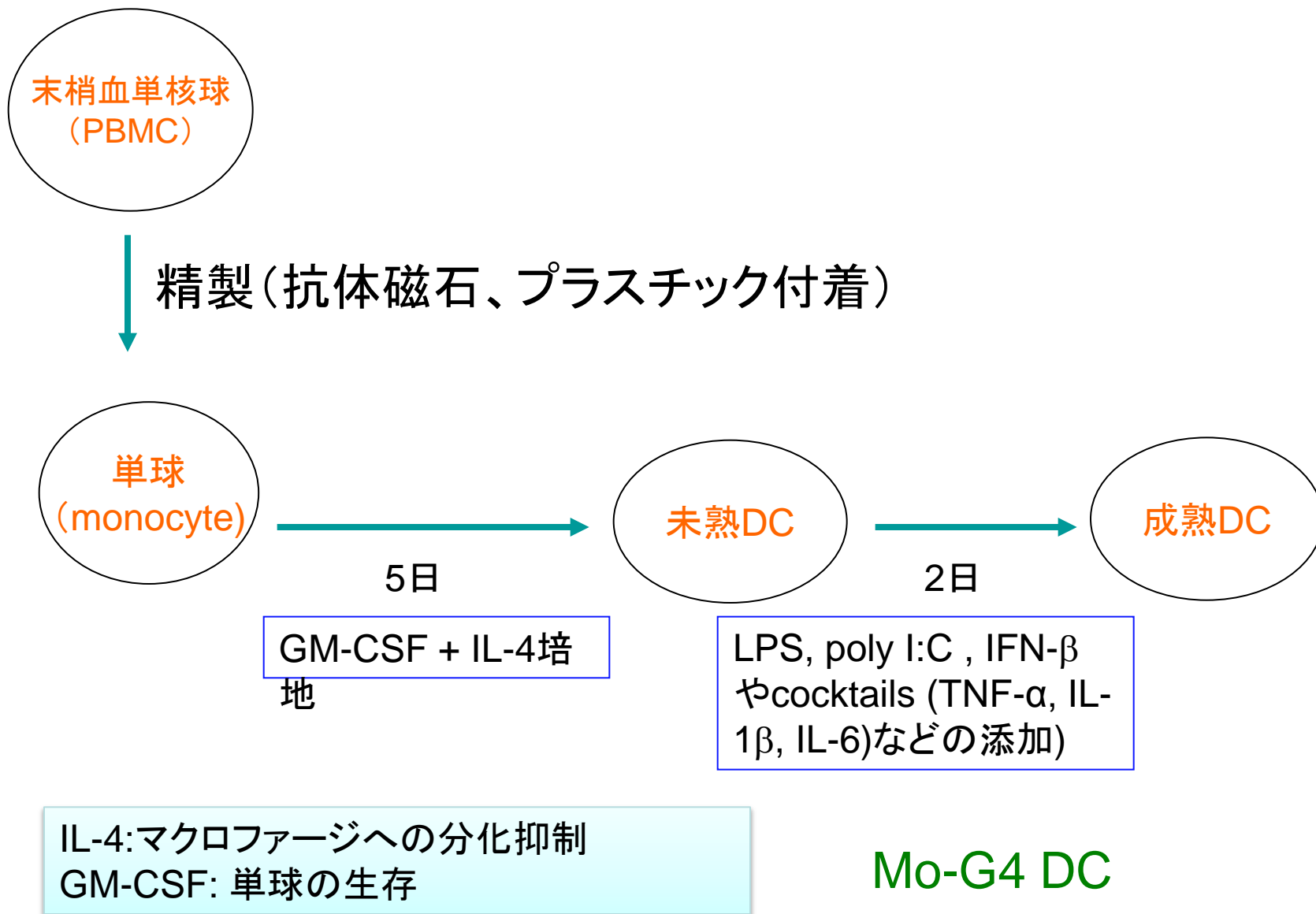
実験系	ヒト18名、治療無し（ブラジル）
感染ウイルス	HIV-1 野生株
治療効果	顕著（80%の患者でウイルス量低下（112日まで）、44%の患者では1年）
感染防御効果	nd
ウイルス抑制メカニズム	IL-2, IFN-g 産生 CD4+T/CD8+CTL
投与 DC 数	3×10^7 /回
移植サイト	両腋窩、鼠蹊部リンパ節付近
頻度	2週間ごと3回
観察期間	~1年
DC 培養:GM-CSF 濃度	2000 U/ml
DC 培養:IL-4 濃度	50 ng/ml
DC 成熟法	TNF- α (50ng/ml), IL-1 β (10 ng/ml), IL-6 (100 ng/ml)
DC 感作ウイルス	AT-2 autologous HIV-1
感作ウイルス量	1×10^9 粒子
ref.	Lu et. al., Nature Medicine 10: 1359, 2004.

AT-2: aldrithiol-2 処理

ヒト単球からのDC分化培養法の例

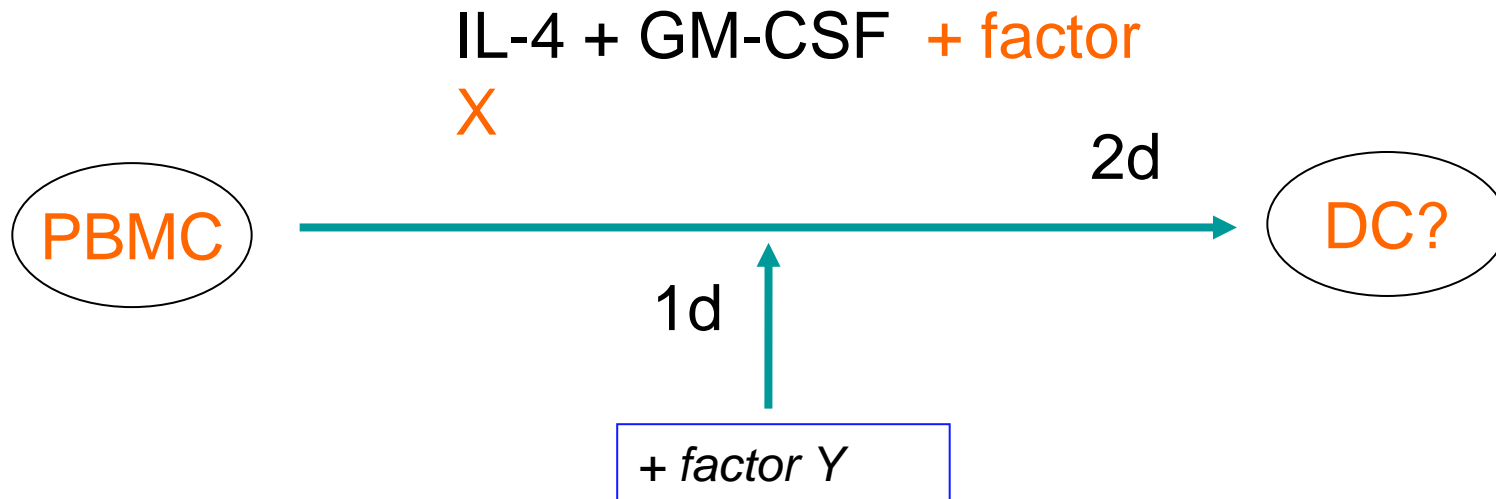
添加するサイトカイン	培養日数	成熟法	誘導するTh型
GM-CSF, IL-4	7	LPS, TNF- α CD40L, or IFN- β	Th1
GM-CSF, IFN- α	7	CD40L and IFN- γ	Th1
GM-CSF, IFN- β	7	Poly I:C	Th1
IL-3, IFN- β	7	Poly I:C	Th1
IL-3, IL-4	7	TNF- α , IL-1 β , IL-6, and PGE2	Th2
GM-CSF	7	LPS	Th1
GM-CSF, IL4, IFN- α	2	TNF- α , IL-1 β , IL-6, and PGE2	Th1
GM-CSF, IL4, IFN- α	3	OK432 and PGE2	Th1
GM-CSF, IL4, IFN- β	2	LPS, HIV, or KLH	Th1

一般的なDC分化培養



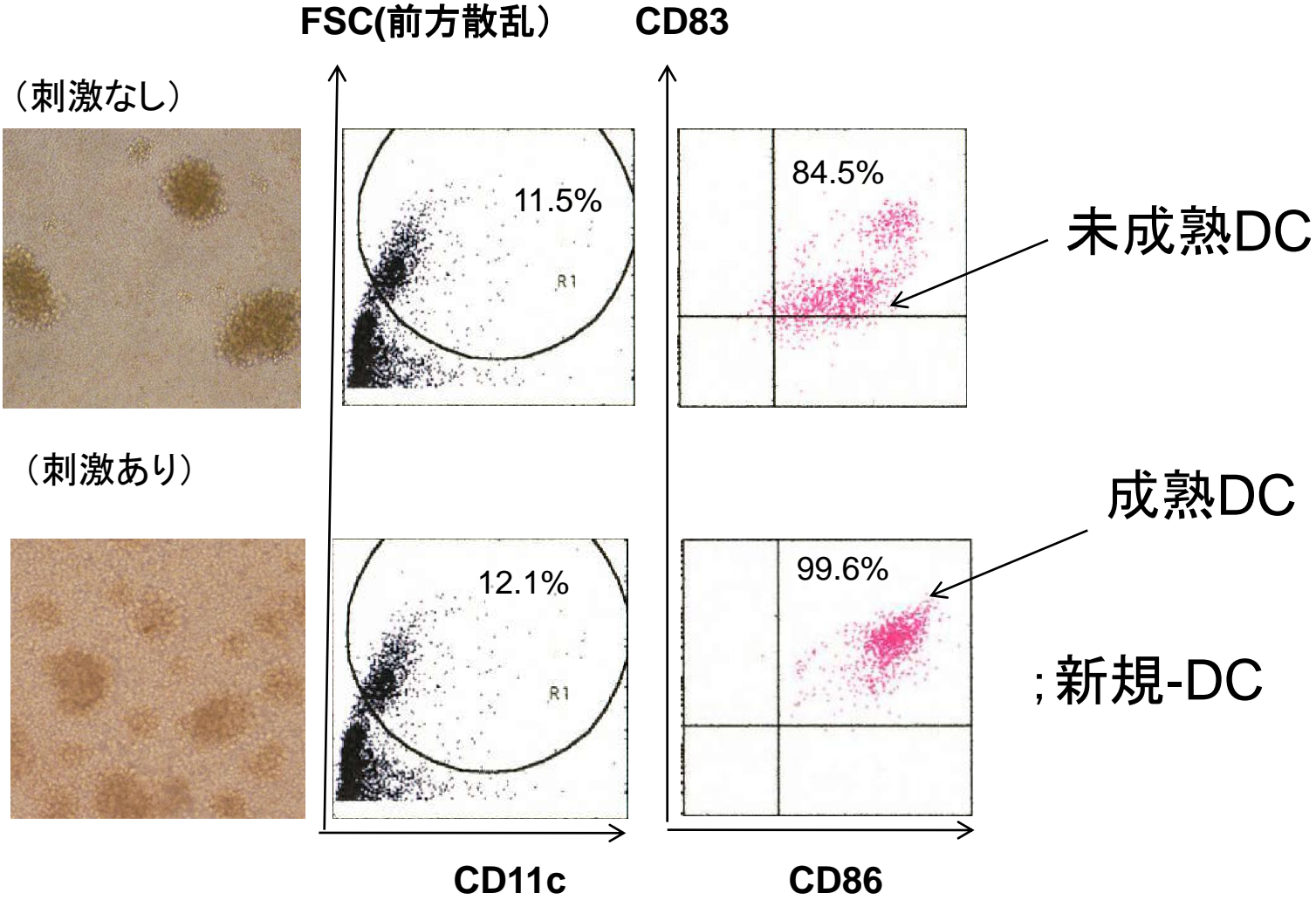
新規DC分化培養法の試み

末梢血単核球(PBMC)からの短期培養法

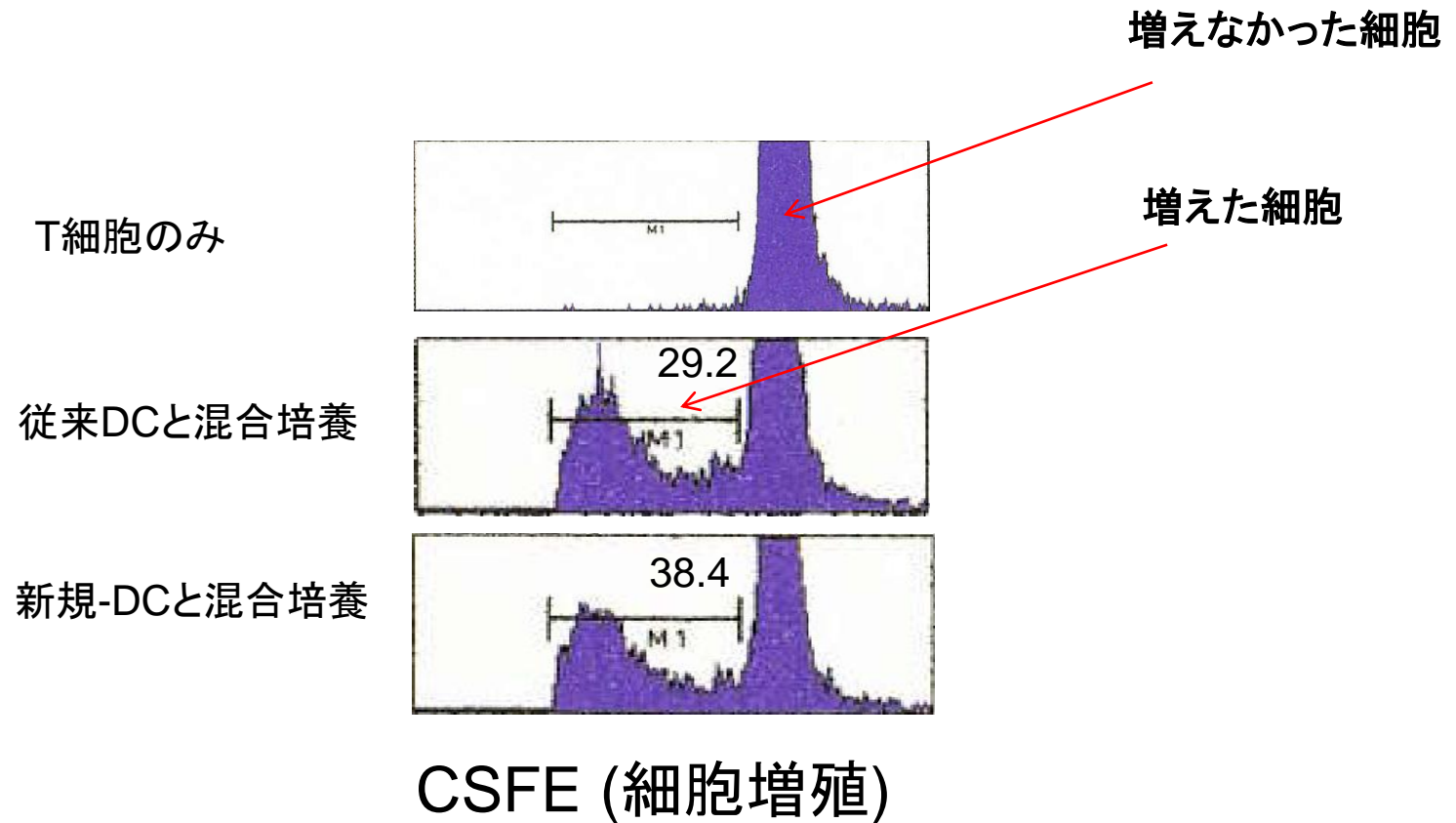


New

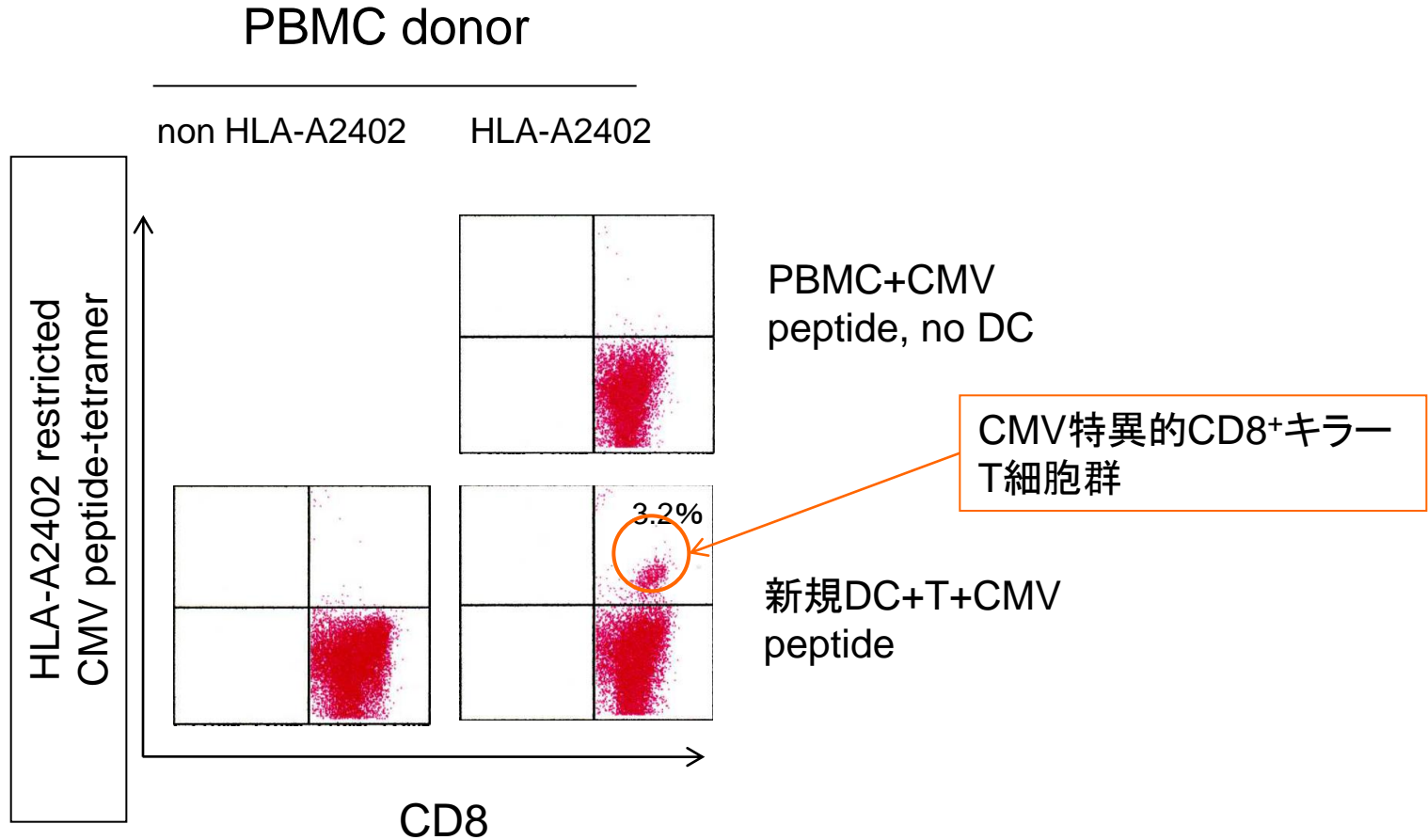
2日間でPBMCからDCを分化させる



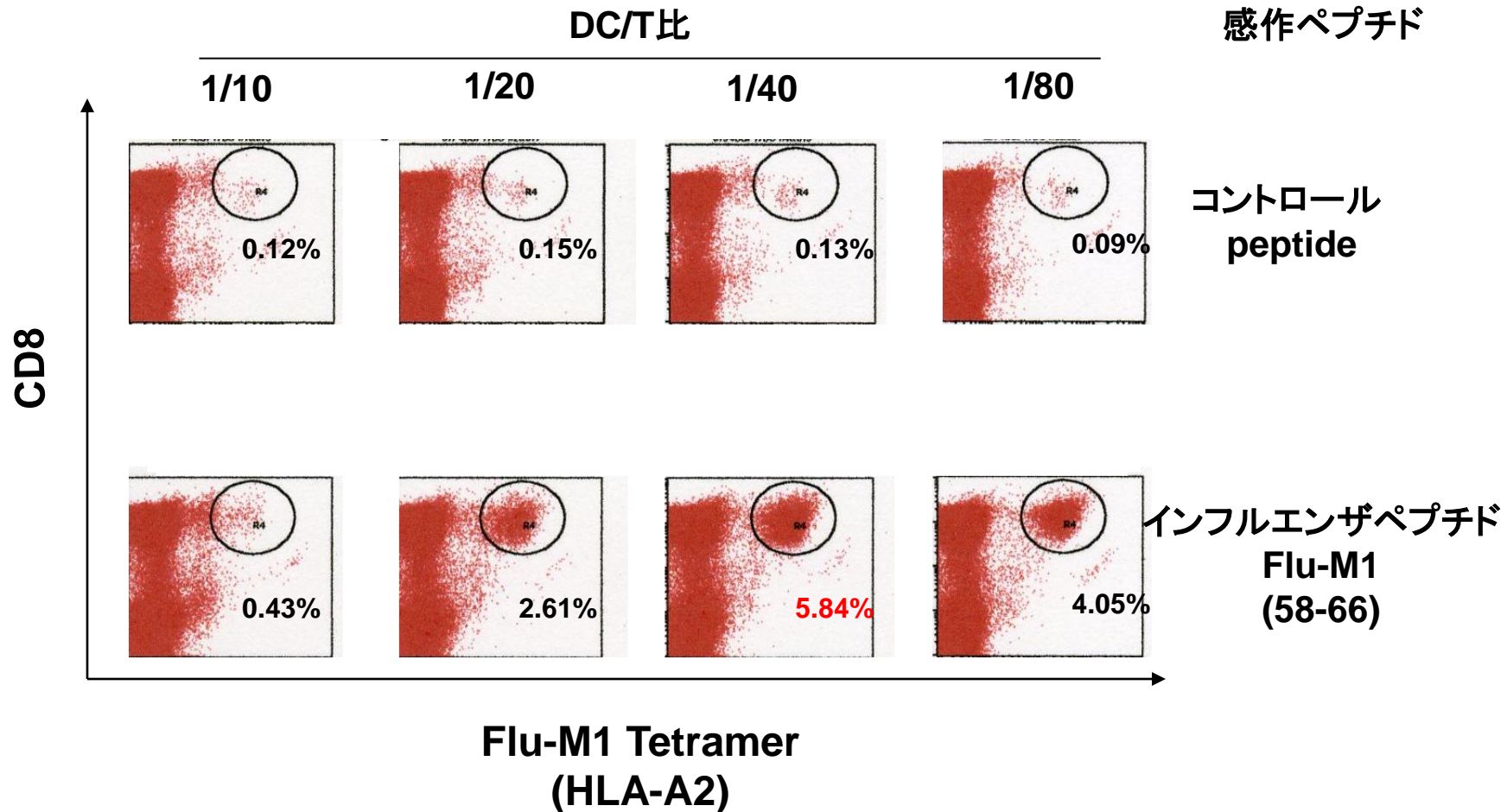
新規DCの免疫活性化能 (アロCD4⁺T細胞刺激活性能)



新規DCによるサイトメガロウイルス(CMV)抗原 に対する特異的CD8⁺T細胞のin vitro 誘導能

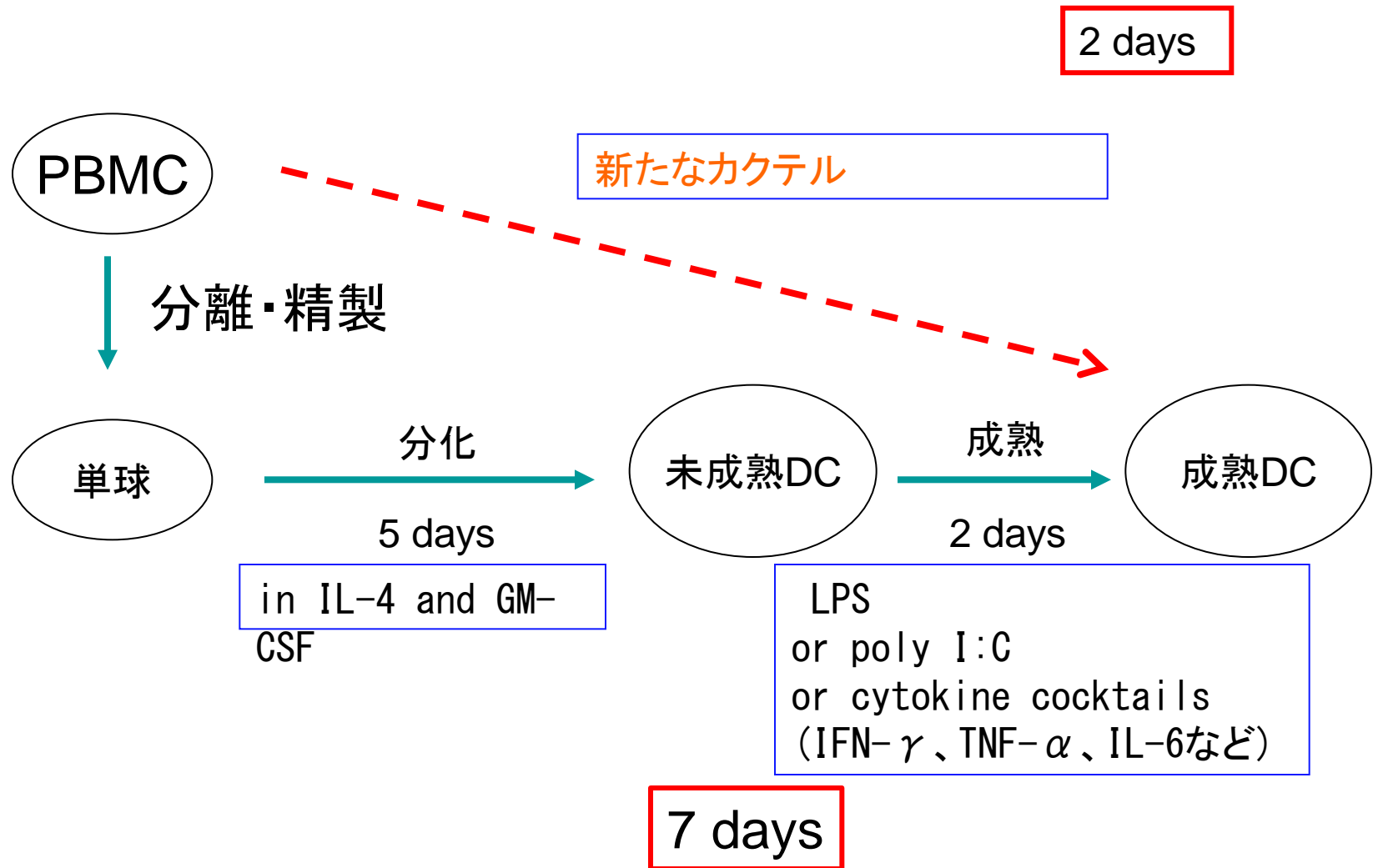


新規DCのインフルエンザウイルス特異的CD8⁺ T 細胞の誘導能



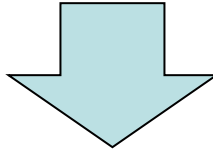
まとめ:新規DC分化培養法を開発した

新規DC培養法

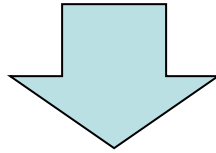


結論

未精製のPBMCから2日間で免疫賦活能をもつDCを分化誘導する新規の簡易培養方法の開発に成功した。



さらなるチューンアップ



臨床試験にそなえる

本技術に関する知的財産権

- ・発明の名称 : 樹状細胞の分化・培養方法
- ・出願番号 : PCT/JP2011/062131
- ・公開番号 : 未公開
- ・出願人 : 琉球大学、株式会社 琉球免疫研究所
- ・発明者 : 田中勇悦

お問い合わせ先

国立大学法人琉球大学

産学官連携推進機構

教授 近藤義和

TEL:098-895-8598 FAX:098-895-8957

E-mail: kondoyos@lab.u-ryukyu.ac.jp

准教授 宮里大八

TEL:098-895-8599 FAX:098-895-8957

E-mail: daiya@lab.u-ryukyu.ac.jp