(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第6278597号
(P6278597)

(45)発行日　平成30年2月14日(2018.2.14)　(24)登録日　平成30年1月26日(2018.1.26)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 39/00	(2006.01)	A61K	39/00	H
A61K 9/10	(2006.01)	A61K	9/10	
A61K 35/17	(2015.01)	A61K	35/17	
A61K 39/39	(2006.01)	A61K	39/39	
A61K 39/395	(2006.01)	A61K	39/395	N

請求項の数 11　(全 14 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号	特願2012-544736 (P2012-544736)
(86)(22)出願日	平成22年12月15日 (2010.12.15)
(65)公表番号	特表2013-514365 (P2013-514365A)
(43)公表日	平成25年4月25日 (2013.4.25)
(86)国際出願番号	PCT/US2010/060431
(87)国際公開番号	WO2011/084451
(87)国際公開日	平成23年7月14日 (2011.7.14)
審査請求日	平成25年11月29日 (2013.11.29)
審判番号	不服2016-713 (P2016-713/J1)
審判請求日	平成28年1月15日 (2016.1.15)
(31)優先権主張番号	61/286,551
(32)優先日	平成21年12月15日 (2009.12.15)
(33)優先権主張国	米国 (US)
(31)優先権主張番号	12/967,910
(32)優先日	平成22年12月14日 (2010.12.14)
(33)優先権主張国	米国 (US)

(73)特許権者　513276477
イミュノバティブ　セラピーズ，リミテッド
イスラエル国　９６９５１　エルサレム　マルカ　テクノロジー　パーク　ビルディング　ナンバー　１　ファースト　フロア
(74)代理人　110000578
名古屋国際特許業務法人
(72)発明者　ハー－ノイ　マイケル
イスラエル国　エルサレム　モディン　エメック　ゼブルン　２２／１

最終頁に続く

(54)【発明の名称】腫瘍の一掃のための方法および組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

腫瘍一掃治療用組成物であって、

少なくとも１つの外来抗原、

少なくとも１つの１型炎症性サイトカイン、および

樹状細胞の成熟を引き起こすことが可能な少なくとも１つのエフェクター分子を含み、

前記外来抗原はＴｈ１細胞で発現される同種抗原であり、

前記炎症性サイトカインは、ＩＦＮ－ガンマ、ＩＬ－２、ＴＮＦ－アルファ、ＴＮＦ－ベータ、ＧＭ－ＣＳＦ、ＩＬ－１２のうち１つ以上から選ばれ、

前記エフェクター分子はＣＤ４０Ｌであり、

前記Ｔｈ１細胞はＣＤ３とＣＤ２８の表面分子が架橋結合されることによって活性化され、

前記組成物は、肝臓に転移性の病変がある患者に対して投与され、

前記組成物の使用は、腫瘍の一掃をもたらす、

腫瘍一掃治療用組成物。

【請求項２】

前記エフェクター分子は免疫細胞の表面で発現される請求項１に記載の組成物。

【請求項３】

前記エフェクター分子はＴｏｌｌ（トル）様受容体（ＴＬＲ）を介して信号を発信する請求項１に記載の組成物。

【請求項４】
前記ＣＤ３とＣＤ２８の表面分子の架橋結合は、固定化された抗ＣＤ３モノクローナル抗体と抗ＣＤ２８モノクローナル抗体で達成される請求項１に記載の組成物。
【請求項５】
前記抗ＣＤ３モノクローナル抗体と抗ＣＤ２８モノクローナル抗体はナノ微粒子またはミクロ微粒子上に固定される請求項４に記載の組成物。
【請求項６】
前記ナノ微粒子またはミクロ微粒子は生分解性である請求項５に記載の組成物。
【請求項７】
注入に適した媒体中に懸濁される請求項１に記載の組成物。
【請求項８】
前記組成物は注入器に詰められる請求項７に記載の組成物。
【請求項９】
ウエハまたはチップ上に埋め込まれる請求項１に記載の組成物。
【請求項１０】
請求項１から９の何れか１項に記載の組成物であり、治療のために使用される治療用組成物。
【請求項１１】
請求項１から９の何れか１項に記載の組成物であり、
ｉ）腫瘍の一掃のために使用される、治療用組成物。
【発明の詳細な説明】
【発明の詳細な説明】
【０００１】
［技術分野］
本発明は、疾病の治療のための免疫療法的な手法に関する。さらに具体的には、腫瘍の一掃をもたらす疾病治療のための薬剤および方法に関する。
［背景技術］
既知の最も的確で強力で安全な疾病の予防と治療のメカニズムは、医療行為を施すことなしに、様々な外来性の病原体を取り除く先天性免疫および適応免疫の両要素を組合せた自然「滅菌」免疫応答である。免疫システムは、再感染に際して迅速に免疫応答を開始するために取り除かれた外来抗原を「記憶する」よう設計されている。免疫システムは、癌患者でさえ、ウイルスやバクテリアで見られるような外来抗原に対して、完全に破壊し身体から外来抗原を除去するのに十分な外来抗原に対する応答を認識して開始することができる。この滅菌する免疫応答の強烈性と特異性は、自己組織では控え目であるが、不完全に抑制された免疫システムでは腎臓、肝臓または心臓のような大きな移植器官を完全に破壊することができるということで実証することができる。外来抗原に対する免疫の破壊効果は、免疫の破壊効果が腫瘍にも転用できるならば、癌治療にとって有効なものとなるであろう。
【０００２】
免疫療法は、疾病、特に癌に対する免疫応答を利用し、誘導し、制御する方法の開発に専念される。治療用癌ワクチンは、腫瘍細胞が外来のものであることを認識するために、癌の存在する患者の免疫システムの能力を導きだすために設計された免疫療法の一種である。もし腫瘍が免疫システムによって外来病原体として認識されると、免疫応答は理論的に誘発され、免疫応答は免疫細胞が大きな腫瘍を破壊することを引き起こすことが可能であり、体内のどこに存在するとしても転移性腫瘍細胞を探し出して破壊させることができる。有効な免疫治療を行った後は、除去された外来細胞を「記憶する」免疫システムの能力は、免疫システムが日和見的感染を防止するのと同様に、付加的な治療を施すことなくどんな再発性の癌細胞でも除去するための免疫システムを可能にするだろう。
【０００３】
癌治療への免疫療法のアプローチは、現在の癌治療戦略においては極めて望ましい選択

である。免疫介在抗腫瘍メカニズムとは異なり、現在の手術、放射線療法や化学療法の方法では、単一細胞レベルに対して抗腫瘍のために、抗腫瘍特異性を発揮することはできない。そのため、手術、放射線療法や化学療法のような現在の方法では、最後の腫瘍細胞まで全て除去することは技術的には不可能である。最後の腫瘍細胞まで全て除去されないと治療の後、よく癌の再発という結果になる。さらに現在の方法は、腫瘍除去の「メモリ」よりも、むしろ治療に対する腫瘍の抵抗性を招くものである。

【０００４】

癌ワクチン研究の分野においては、多くは腫瘍特異性抗原（ＴＳＡ）と称される（通常の細胞では見られない）腫瘍特有の抗原を見つけるか、または癌細胞に過剰発現される腫瘍関連抗原（ＴＡＡ）を探す研究に焦点をおくことによる古典的なワクチン開発戦略に従ってきた。ＴＡＡは自己抗原なので外来抗原として腫瘍の認識をもたらさない、むしろ腫瘍対通常細胞の免疫学的な区別を可能にする。またＴＡＡを含む癌ワクチンは、抗腫瘍免疫応答を刺激するために、ＴＡＡのような抗原の能力を増進させる方法を組み込む。

【０００５】

癌ワクチンの開発は、治療用の免疫を刺激して使用されることができるようにこれらＴＡＡの免疫原性増加に対するアプローチを模索する経路を辿っている。免疫アジュバント（例えば、ＭＦ５９、不完全フロイント・アジュバント、サポニンＱＳ－２１およびカルメット・ゲラン菌（ＢＣＧ）など）との混合、より多くの免疫原性誘導体の合成、免疫原性タンパク質との共役、および樹状細胞への直接パルス発生、などの方法が顕著な成功を収めることなく探求された。臨床における免疫療法の成功率は極めて低いままである。

【０００６】

現在の免疫治療法のアプローチによって誘発される臨床的に重要な抗腫瘍反応をほぼ全く得られないのにも拘わらず、現在の免疫治療法のような方法を用いた多数の臨床試験が産業的及び学術的なスポンサーによって未だ現在行われている。臨床においてこれら免疫療法による治療に対する継続的な開発の理由の１つは、進行性癌患者に対して現在提供される高い罹病率治療への代替が要望されているためであり得る。免疫療法は画期的な治療効果を持つものとは言えないが、ほとんど毒性がないことが証明されているアプローチである。一方では、高い毒性を示す化学治療に対する応答率は、過去２０年間で増大しているかもしれないが、全体として５年生存率への影響は少ない。化学療法レジメンに示される生存率の緩やかな上昇は、生活の質に関して厳しい犠牲を強いられる。

［発明の概要］

少なくとも１つの外来抗原、少なくとも１つのＩ型炎症性サイトカイン、および樹状細胞の成熟を引き起こすことができる少なくとも１つのエフェクター分子、を含む治療用組成物。

【０００７】

また腫瘍を液化状態に形質転換する方法が開示されている。この方法は、外来抗原に対しＴｈ１免疫を創出する外来抗原を含む治療用組成物でプライミング（priming）すること、選別された１つまたは複数の腫瘍をアブレーション（切除）し、アブレーションは少なくともある種の腫瘍の死滅をもたらす、ことを含む。

【０００８】

また、死滅した腫瘍損傷に近接した炎症性微小環境を創出すること、適応免疫細胞および先天性免疫細胞を活性化すること、を含む方法を開示する。

また、少なくとも１つの外来抗原と、樹状細胞の成熟を引き起こすことができる少なくとも１つのエフェクター分子と、少なくとも１つのＴｈ１サイトカインとを含む治療用組成物で患者をプライミングすること、定期的に患者に治療用組成物を投与すること、を含む、患者のＴｈ１応答を刺激して維持する方法を開示する。

【０００９】

少なくとも１つの外来抗原、樹状細胞の成熟を引き起こすことができる少なくとも１つのエフェクター分子、および少なくとも１つのＴｈ１サイトカインを含む治療用組成物で患者をプライミングすること、腫瘍の壊死をもたらす方法を用いて腫瘍をアブレーション

すること、腫瘍内に治療用組成物を投与すること、および適応免疫細胞または先天性免疫細胞が活性化するために治療用組成物を注入することを含む、患者の腫瘍を一掃する別の方法を開示する。

【００１０】

患者のＴｈ２応答を抑制しながらｄｅ　ｎｏｖｏＴｈ１応答を創出すること、癌細胞の壊死によって生じる腫瘍抗原の発生源を提供すること、腫瘍抗原に応答する樹状細胞の成熟のためのＴｈ１応答に呼応する炎症性環境を提供すること、およびＴｈ１応答を維持することによって腫瘍の免疫回避メカニズムを不能にすること、を含む患者の腫瘍を一掃する別の方法を開示する。

【図面の簡単な説明】

【００１１】

【図１】図１は幾つかのＣＴスキャン画像である。

【図２】図２は生体組織検査（生検）の結果を示す画像である。

【発明を実施するための形態】

【００１２】

［発明の詳細な説明］

本発明は、癌患者ための治療用組成物および治療方法を開示するものである。本発明では癌患者に適切に投与することで、腫瘍の全身性の一掃をもたらす治療用薬剤を開示する。通常前記組成物は以下の主要成分を含んでいる：（１）外来抗原、（２）１型サイトカイン、および（３）樹状細胞（ＤＣ）の成熟を引き起こすことが可能なエフェクター分子、好ましくはＣＤ４０Ｌ。

【００１３】

また本発明は、腫瘍を有する患者の効果的なＴｈ１免疫応答を刺激すること、ｉｎ－ｓｉｔｕでワクチン法を使用して抗腫瘍免疫素を開発すること、および患者の先天性免疫および適応免疫を活性化し同時に腫瘍の免疫回避メカニズムを不能にすること、によって腫瘍の一掃のための方法を開示する。また本発明の方法は、通常Ｔｈ１応答を刺激することにより達成されることができるＴｈ２の抑制を含む。さらに本発明の方法は、Ｔｒｅｇ細胞（調節性Ｔ細胞）を介して達成される免疫抑制メカニズムの逆調節を含む。

【００１４】

腫瘍の「一掃」は、腫瘍が縮小するか血液供給が全くなくなることを意味し、ＣＴスキャンにおいて病変は治療前のベースラインに比べて低密度または暗黒となり、生検試料は凝固壊死の形跡を示す。

【００１５】

本明細書では「治療用組成物」、「薬剤（medicants）」および「薬物（medicaments）」の用語が言及されている。これらの用語は互換性があり患者に投与する組成物として言及される。

【００１６】

通常治療用組成物は外来抗原を含む。外来抗原は同種抗原などの任意の非自己抗原であり得る。外来抗原は、抗原がプロフェッショナル抗原提示細胞によって貪食されるように提供されなければならず、また処理されてＴ細胞に提供されるために免疫システムに供与されなければならない。抗原は生きた細胞の天然部分であるが、分子生物学の技術を用いて変形もしくは生体工学処理されることができる。抗原は可溶であるか、または生体あるいは生きた細胞の無傷部分または弱毒化された生体の一部の表面に固定できる。

【００１７】

また治療用組成物中には種々のサイトカインを含むことができる。サイトカインなる用語は、通常ナノモルからピコモルまでの濃度で調節剤として作用し、また通常状態または病的状況下では、個々の細胞や組織の機能的な活動を調節する可溶性タンパク質やペプチドの様々なグループに対する総称として使用される。またこれらのタンパク質は細胞間の相互作用を直接調節し、また細胞外環境で行われる作用を調節する。１型サイトカインは炎症性反応中に含まれ、２型サイトカインは体液の免疫応答中に含まれる。１型サイトカ

インは、例えばＩＬ－２、ＩＬ－１２、ＩＬ－１５、ＩＦＮガンマ、ＴＦＮアルファ、ＴＦＮベータ、ＧＭ－ＣＳＦ及びＣ－Ｃケモカインを含む。サイトカインの成分は、自然のまたは遺伝子組換えサイトカインであるか、サイトカインの受容体と相互作用をするように設計された生物工学で作られた分子であることができる。サイトカインは直接治療用組成物に含まれる。あるいは、治療用組成物は生きた細胞またはサイトカインを産出し分泌する他の成分を含む。ある例示的な実施の形態では、治療用組成物は、治療用組成物中でサイトカインを産出し分泌する活性状態でＴ細胞を含むので、それにより治療用組成物中でサイトカインの発生源として作用する。

【００１８】

また、治療用組成物は、未熟ＤＣｓの成熟を引き起こす１つの因子または因子群も含むことができる。ＤＣｓの免疫調整能力はＤＣの成熟度に依存する。種々の因子はＤＣｓ内への取り込みと処理を伴った以下の抗原の成熟を誘発することができる：全バクテリアまたはバクテリア由来の抗原（たとえば、リポ多糖、ＬＰＳ）、ＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、ＩＬ－１、ＧＭ－ＣＳＦなどの炎症性サイトカイン、細胞選択表面受容体（たとえば、ＣＤ４０）のライゲーションおよびウイルス生成物（たとえば、２本鎖ＲＮＡ）。未熟細胞から成熟細胞への変換に伴って、ＤＣｓは幾つかの形質転換と機能変換が行われる。通常ＤＣの成熟過程では、細胞内の形質膜陥入コンパートメントからＤＣ表面への主要組織適合遺伝子複合体（ＭＨＣ）分子の再分配、抗原の内部化のダウンレギュレーション、共刺激分子の表面発現の増加、形態学的変化（たとえば、樹状結晶の形成）、細胞骨格の再編成、ケモカイン、サイトカインおよびプロテアーゼの分泌、および接着分子とケモカイン受容体の表面発現、が含まれる。ある好ましい実施の形態では、ＣＤ４０Ｌは、ＤＣｓ成熟のための因子として含まれる。

【００１９】

他の実施の形態では、ＤＣ成熟を生じる物質は、トル様受容体（ＴＬＲｓ）を介して信号を発信する。ＴＬＲｓはマクロファージおよび樹状細胞上に発現され、主に先天性免疫内に含まれる。現在、ＴＬＲ２、ＴＬＲ３、ＴＬＲ４、ＴＬＲ５、ＴＬＲ６およびＴＬＲ９のような幾つかのＴＬＲｓのリガンドが確認されている。これらのリガンドの多くは病原体から得られ、宿主には発見されないことは、ＴＬＲｓが微生物の侵入を感知するために重要であるとを示唆している。ＴＬＲｓにより病原体が確認されると、炎症促進性サイトカインの創出と共刺激性分子のアップレギュレーションが誘発されることで、先天性免疫が速やかに活性化される。次に活性化先天性免疫は効果的な適応免疫につながる。実施例には、細菌性のリポタンパク質及びペプチドグリカンを含むＴＬＲ２へのリガンド、および２本鎖ＲＮＡ、リポポリサッカライド、細菌性フラジェリン、イミキモドおよび細菌性ＤＮＡをそれぞれ認識するＴＬＲ－３、ＴＬＲ－４、ＴＬＲ－５、ＴＬＲ－７およびＴＬＲ－９へのリガンドを含む。ＤＣｓの成熟を引き起こすＴＬＲｓのリガンドおよびその他の因子は、また本発明の範囲に含まれる。

【００２０】

一般的には、本発明の組成物は上記の３つの主要な成分要素を含む。これらの成分、すなわち外来抗原、Ｔｈ１サイトカインおよびＤＣ成熟分子は組成物を形成するために相互に結合され得る。あるいは、これらの成分の一部または全部は、形成前または形成後のいずれであっても生きた細胞から生み出される可能性があり、それによりサイトカインおよび／またはエフェクター分子の発生源として作用する。

【００２１】

本発明の例示的な一実施形態では、医療用組成物は、Ｔ細胞で発現される同種抗原を含む。Ｔ細胞はＣＤ４+Ｔ細胞であることが好ましく、Ｔｈ１細胞であることがさらに好ましい。Ｔｈ１細胞はｉｎ　ｖｉｔｒｏで通常の献血者から得られたナイーブＣＤ４＋先駆体細胞から分化、拡張、活性化されることが可能である。細胞は、ミクロビーズもしくはナノビーズに結合された抗ＣＤ３モノクローナル抗体または抗ＣＤ２８モノクローナル抗体を投与されると同時に活性状態になることが好ましい。ビーズは生分解性のビーズであり得る。これらの細胞はＩＦＮガンマ、ＴＮＦアルファ、およびＧＭ－ＣＳＦのような炎

症性サイトカインを多量に生み出すことができ、細胞表面にＣＤ４０Ｌのようなエフェクター分子を発現することができ、それらはＴｈ１免疫の進展を促進するのに作用する。

【００２２】

医療用組成物は、活性化された同種異系Ｔｈ１細胞を含む。これらの活性化されたＴｈ１細胞は強力な炎症性物質である。これらの活性化されたＴｈ１細胞と活性化されたＴｈ１細胞の製造方法は米国特許第７４３５５９２号、第７６７８５７２号、第７４０２４３１号および第７５９２４３１号に記載されており参照することにより明細書に援用される。活性化された同種異系Ｔｈ１細胞は意図的に患者にミスマッチされる。

【００２３】

好適な医療用組成物の腫瘍内投与は、１型抗腫瘍免疫の発生のための強力なアジュバント効果を与えることができ、腫瘍の免疫性回避メカニズムのダウンレギュレーションを与えることができる。組成物のアジュバント効果は細胞の３つの主要な特徴、すなわち、（１）１型サイトカインを大量に産出する能力、（２）ＣＤ４０Ｌの表面発現、および（３）細胞の同種異系性に基づく。異種抗原、同種抗原又はウイルス抗原のような外来抗原も強力なアジュバント効果を与えることができる。

【００２４】

組成物の同種異系Ｔｈ１細胞は大量の１型サイトカイン、すなわちＩＦＮガンマ（ＩＦＮ－γ）、ＴＮＦアルファ（ＴＮＦ－α）、およびＧＭ－ＣＳＦを産出することが好ましい。ＩＦＮガンマは、１型抗腫瘍免疫を促進するために必要な重要な１型サイトカインである。ＩＦＮガンマは、直接腫瘍細胞の成長を妨げＴ細胞が媒介する抗腫瘍反応を誘発することで抗腫瘍効果を媒介することができる。ＩＦＮガンマの分泌は、個別にＮＫ細胞応答に寄与して、ＩＬ－１２によって活性化されたＮＫ細胞応答を高めることができる。

【００２５】

ＴＮＦアルファの重要性は、１型サイトカインのみの注入である種の確立された動物腫瘍が十分に治癒されたという事実によって立証することができる。ＴＮＦアルファは、１型サイトカインのファミリーの１つで、アポトーシスを誘導することで効果的に癌細胞を破壊することができるリガンドである。ＩＦＮガンマおよびＴＮＦアルファは、抗腫瘍エフェクター細胞にアジュバント効果を有するのみならず、直接的に腫瘍のアポトーシスを誘発することもできる。

【００２６】

ＧＭ－ＣＳＦもまた強力なアジュバント効果を与えることができる。ＧＭ－ＣＳＦは、ヒトＰＢＭＣ、Ｔリンパ球およびＡＰＣにより１型サイトカインの産出物を誘導することができる。ＧＭ－ＣＳＦは２型サイトカインの発現をダウンレギュレートすることができ、ＤＣ１（ＩＬ－１２産生ＤＣ）の優先的な拡大を伴った単球のＤＣへの分化とＮＫ活性の活性化を促進することができる。

【００２７】

薬剤の未熟ＤＣとの混合は、ＤＣを成熟させる原因となりＩＬ－１２を産出することができる。ＩＬ－１２は１型免疫応答の一次開始剤として知られており、ＮＫ細胞およびＴｈ１細胞からのＩＦＮガンマを産出するための上流の正の調節因子として作用する。ＩＬ－１２は、細胞溶解性Ｔ細胞を活性化することができ、Ｔｈ１表現型にＣＤ４＋リンパ球の分化を引き起こす原因となり、１型が有利になるように１型免疫応答および２型免疫応答間の平衡を傾ける。ＩＬ－１２は１型免疫の促進において強いアジュバント効果があることが知られている。

【００２８】

活性同種異系Ｔｈ１細胞を含む１つの薬剤は、通常の選別された血液ドナーから純化された先駆体から得ることができる。細胞は、皮内注射や腫瘍内注射あるいは静脈内注入のいずれかのために配合された、無菌性の低エンドトキシン投与の形式で供給される。また細胞は、腹腔内注入、胸膜腔内注入、節内注入、膀胱腔内注入または硬膜外注入用に配合され得る。好ましくはドナーは、ＨＩＶ１、ＨＩＶ２、ＨＴＬＶ１、ＨＴＬＶ２、ＨＢＶ、ＨＣＶ、ＲＰＲ（梅毒）に対し陰性であることをテストされ、また好ましくは細胞はマ

イコプラズマ、ＥＢＶおよびＣＭＶに対し陰性であることがテストされる。好ましい実施の形態においては、活性同種異系細胞は患者に対してＨＬＡ不適格であった。

【００２９】

本発明の方法は、一般的に本発明の組成物を、患者の免疫システムを設計して腫瘍を一掃するために投与することを含む。本明細書に記載される本発明の第１ステップは、Ｔｈ２環境からＴｈ１環境に平衡を移し、癌患者のＴｈ１免疫細胞の循環数の増加を図るように通常設計される。第２ステップでは、抗腫瘍特異性Ｔｈ１免疫を引き出すことができ、さらに第３ステップでは、腫瘍の免疫忌避をダウンレギュレートするために先天性および適応性免疫応答の成分を活性化することができ、持続的なＴｈ１サイトカイン環境を発生させることができる。

【００３０】

個々の免疫システムは、疾病生物に対する応答で産出され、及びＴｈ１応答あるいはＴｈ２応答であることができるサイトカインの平衡に基づいて評価されることができる。より一般的になっているこの分類方法は、Ｔｈ１／Ｔｈ２平衡と呼ばれる。インターロイキンおよびインターフェロンは「サイトカイン」と称され、これらはＴｈ１型細胞により分泌されるものとＴｈ２型細胞によって分泌されるものとにグループ化が可能である。Ｔｈ１細胞は細胞媒介免疫を促進し、一方Ｔｈ２細胞は体液性免疫を誘発する。細胞免疫（Ｔｈ１）は感染部位において異常細胞や微生物を攻撃するようにナチュラルキラー細胞（ＮＫ）、Ｔ細胞およびマクロファージに指令する。体液性免疫（Ｔｈ２）は外部侵入物質を中和するために用いられる抗体を産出する。一般的にＣＤ４+Ｔ細胞のＴｈ２分極化は、多くのヒトや動物の癌研究において、癌の進行との関連が示されており、一方Ｔｈ１分極化は腫瘍縮小や抗腫瘍免疫と相関する。Ｔｈ１細胞はＩＬ－２およびＩＦＮガンマを産出して１型免疫を媒介するのに対して、Ｔｈ２細胞はＩＬ－４、ＩＬ－５およびＩＬ－１０を産出して２型免疫を媒介する。Ｔｈ１応答とＴｈ２免疫応答は相互に逆調節を行うので、その結果増加した１型応答が２型応答をダウンレギュレートし、増加した２型応答が１型応答をダウンレギュレートする。

【００３１】

この明細書に記載されている方法は、外来抗原に対して患者内にＴｈ１免疫を創出するために外来抗原を含む組成物を投与することで患者をプライミングすることを含む。さらにこの明細書に記載されている方法は、少なくとも一部の腫瘍が壊死する結果をもたらす腫瘍の全てまたは一部の腫瘍の切除を含む。患者の腫瘍を壊死させるために、例えば冷凍アブレーション、放射線療法、化学治療、塞栓法および電気穿孔法のような様々な方法を用いることができる。またこの明細書に記載されている方法は、腫瘍壊死部位、すなわち腫瘍病巣部位に近接して炎症性微小環境を作り出すことを含んでいる。さらに、この明細書に記載されている方法は長期にＴｈ１環境を維持するために患者の適応免疫細胞および先天性免疫細胞を活性化することを含む。好ましい実施の形態では、この明細書に記載されている方法の重要な構成要素は、上記のＴｈ１サイトカインを産出する活性化同種異系免疫細胞を含む薬剤または組成物の使用を含む。

【００３２】

多くのヒト癌の患者は分極化されたＴｈ２免疫を示すことができるので、ヒト癌の治療方法の第１部分の目的は癌患者の循環性Ｔｈ１細胞の量を増加させることである。癌患者において、患者の循環性Ｔｈ１の数は、外来抗体を含む治療用組成物でプライミングするかワクチン接種を施すことで高められる。また治療用組成物は患者にＴｈ１環境内で外来抗原に遭遇させることができるＴｈ１サイトカインを含むことができる。例示的な実施の形態では、患者は皮内注射された活性化同種異性Ｔｈ１細胞でプライミングされる。好ましい実施態様では、皮内注射は週１回３週間の週間スケジュールで行われる。しかし、皮内注射は２日に一度や数年に一度のような間隔でも投与することができる。注射スケジュールは循環時におけるＴｈ１メモリ細胞のフットプリントを向上させるように設定されるべきである。外来細胞に発現された異種抗原は強力な免疫拒否反応を刺激することができる。さらに、組成物中におけるＴｈ１サイトカインの存在もしくは同種異系の細胞による

Ｔｈ１サイトカインの発現は、Ｔｈ１メモリ免疫に向けて同種抗原の免疫応答を誘導するために必要な炎症性のアジュバント環境を提供することができる。炎症性のアジュバント環境を提供することができることにより同種異系Ｔｈ１細胞内に含まれる同種抗原に特異的な循環性メモリＴｈ１細胞の増加プールを創出できる。複数回の投与はブースタ注射として作用することができ、同種抗原に特異的な循環系でメモリＴｈ１細胞の数を増加させる。一般的に、細胞１×１０^{6}～２×１０^{7}個の用量より少ない用量で３日から７日離して各注射を投与することは好ましい。循環系でＴｈ１記憶細胞の滴定量をさらに増加させるために、活性同種異系細胞の用量を静脈内に投与できる。好ましい実施の形態では、細胞１～２×１０^{7}個のスケジュールで２～３週間は週に１度～３度皮内に投与され、次に細胞３～１０×１０^{7}個の静脈内注入が行われる。治療方法において次のステップは腫瘍を認識するために免疫システムの能力を導き出すことである。

【００３３】

腫瘍がもたらす危険性に対し免疫システムの能力を導き出し、腫瘍の液化を引き起こすことができる抗腫瘍特異性免疫を開発するために、ｉｎ－ｓｉｔｕワクチン法が用いられる。ｉｎ－ｓｉｔｕワクチン法の戦略は、好ましくは同種異系細胞を含む治療用組成物の投与と腫瘍を切除する方法との組合せにより行われることができる。この明細書に記載される方法では、腫瘍抗原の発生源は、選別した腫瘍病変部の切除によりｉｎ－ｓｉｔｕで創出される。壊死により少なくとも一部で腫瘍が死滅する原因となる任意の切除法をも用いることができる。またアポト－シスにより腫瘍を死滅させる原因となる方法も用いられるが、壊死により少なくとも一部で腫瘍が死滅する原因となる任意の切除法や、アポト－シスにより腫瘍を死滅させる原因となる方法は壊死を誘発する方法と同様には効果的でない。腫瘍切除法には化学療法、放射線療法、冷凍アブレーション、高周波アブレーション、電気穿孔法、アルコールアブレーション法、生物学的療法、抗血管新生療法、その他の切除方法、またはこれらの組合せにより行われる方法を含む。腫瘍細胞を減少させる化学療法もまた使用することができる。

【００３４】

低侵襲性の画像誘導経皮的な（皮膚を通した）冷凍アブレーションまたはアルコール切除法（触知できる病変部の切除に最もよく使用される）が用いられる。切除に望ましい腫瘍病変部は、例えば肝臓、皮膚、頭部または頸部、リンパ節、膵臓、骨、副腎、膀胱、胃腸管、または腎臓中に存在し、必要があればＣＴまたは超音波画像ガイダンスを使用して安全に経皮的アクセスを許すこれらの器官内の場所に位置する。

【００３５】

切除手術は、腫瘍の微小環境内に多量の腫瘍残骸を放出させ、それが患者に特異的な腫瘍抗体の発生源として作用する。通常体内の細胞は、細胞交代（ターンオーバ）の継続的な副産物として生ずるアポトーシスとして知られる自然過程を経て死滅する。免疫システムは、アポトーシス細胞に応答しないようにプログラムされており、アポトーシス細胞に応答しないようにプログラムされていることによリ自己免疫が回避される。しかし、切除の結果として生じる壊死による細胞死は、腫瘍部位に免疫細胞を補充することができ、免疫細胞の内部コンテンツは応答する免疫細胞に対し「イート・ミー（eat me）」シグナルを発信する。しかしながら、活性化Ｔｈ１細胞の強力なアジュバント効果は、免疫応答を刺激しないアポト－シス細胞死に打ち勝つことができる。従って、腫瘍細胞死を生じる任意の方法も好適な活性同種異系Ｔｈ１細胞組成物と組み合わせて使用することができる。

【００３６】

抗原は、プロフェッショナル抗原提示細胞（ＡＰＣｓ）または樹状細胞（ＤＣｓ）として知られる特殊化細胞のネットワークによって免疫システム中に提示される。ＤＣｓはナイーブＴ細胞に抗原を提供することで病原体または腫瘍に対して免疫を誘発させる。その結果Ｔ細胞はその抗原に特異的なエフェクター細胞およびメモリＴ細胞に分化する。主にＣＤ８＋細胞溶解性Ｔ細胞（ＣＴＬ）であるエフェクターＴ細胞は、抗原を発現する細胞を破壊することができる。メモリＴ細胞は再発生または再感染に対して免疫防御を提供する。強力なＡＰＣｓへのＤＣｓの分化は組織障害および局部的炎症反応の結果として放出

される分子刺激によって引き起こされる。

【００３７】

貪食物質中に含まれる腫瘍抗原を処理するＤＣｓは、貪食抗原に特異的なＴｈ１免疫の発生を促進させることができる方法で、炎症性危険シグナルの存在、すなわちTh1条件下で成熟するようにプログラムされることができる。切除または、医療用組成物（好ましくは炎症性危険シグナルを生成する活性同種異系Ｔｈ１細胞を含む）の腫瘍内投与を有する化学療法による腫瘍の病理的な死滅又は自然死との組合せによって、Ｔｈ１腫瘍特異性免疫を創出することができる。体内の炎症危険シグナルの存在下に露出された腫瘍抗体の組合せは、ｉｎ－ｓｉｔｕワクチン法と呼ばれる。

【００３８】

本発明の範囲には、治療用組成物の主要な成分、すなわち、（ａ）外来抗原、(ｂ)ＤＣの成熟を引き起こす分子、および（ｃ）炎症性サイトカイン、を埋め込まれたチップ又はウエハの開発も含まれる。例えばＧＭ－ＣＳＦ及び／またはＩＦＮガンマなど、同種抗原に埋め込まれたウエハや、埋め込みまたは外因性サイトカインを埋め込まれたＣＤ４０Ｌなどは本発明の範囲に入る。

【００３９】

腫瘍抗原を貪食する未熟なＤＣｓは、炎症性シグナルの存在下で腫瘍抗原を処理することができ、次に成熟、分化、及び体内のどこにあっても明確に腫瘍を探知して破壊することができる細胞溶解性Ｔ細胞（ＣＴＬ）を含む、Ｔｈ１免疫における免疫Ｔ細胞を予備刺激することができる排出リンパ節に移動させることができる。このプロセスを正確に発生させるために、腫瘍抗原を取り込んだ未熟な樹状細胞は、高い炎症性環境内で抗原を処理しなければならない。Ｔｈ１免疫を予備刺激するために樹状細胞の成熟を駆動するために必要な炎症性環境のタイプは、自然には発生せず、また切除手術のみでは発生しないので、アジュバントが必要となる。

【００４０】

正確なＤＣ成熟を駆動するためのアジュバントを提供するために、この明細書に記載される活性同種異系Ｔｈ１細胞を好ましくは含む治療用組成物は、好ましくは切除手術後１時間以内に、切除された腫瘍病変の壊死中心部に投与することができる。同種異系免疫細胞は、ＣＤ３／ＣＤ２８モノクローナル抗体で被覆されたミクロビーズと接触することで注射時に活性化されることができる。同種異系免疫細胞のような免疫細胞は、炎症性サイトカインを多量に産出し、樹状細胞の成熟を引き起こしＴｈ１抗腫瘍免疫の発生を促進することで知られている分子（例えばＣＤ４０Ｌ）の表面に発現する。さらに患者は、前以ての皮内プライミング注射により同種抗原に免疫があるであろうから、腫瘍内投与は同種抗原のような同種異系細胞を拒絶するためのＴｈ１細胞の強力なメモリ応答を誘導することができる。これら全ての要因は抗腫瘍特異Ｔｈ１免疫を予備刺激するためにＤＣの成熟を促進することでアジュバントとして働く。腫瘍内注射のタイミングを、治療効果を高めるために変更することができる。活性メモリ同種異系Ｔｈ１細胞が、樹状細胞が切除された腫瘍病変に進入すると同時に投与される場合には、活性メモリ同種異系Ｔｈ１細胞のアジュバント効果は最適化される。切除手術後、破壊された組織に進入する樹状細胞の波（ｗａｖｅ）はおよそ３日間生じることが知られているので、切除手術後３日間、同種異系細胞が投与されることが好ましい。この腫瘍内注射は、切除時の腫瘍内注射に加え、または切除時の腫瘍内注射の代わりになることができる。

【００４１】

腫瘍はＴｈ１免疫応答を回避することが可能であることが知られているので、この明細書に記載されている方法の追加のステップは、Ｔｈ１免疫応答を回避するような腫瘍免疫回避メカニズムを不能にするように設計される。炎症が自己組織抗原に対する耐性を破壊して自己免疫を促進するのとほぼ同じ方法で、高い炎症性環境は腫瘍免疫回避を抑え腫瘍抗原に対する耐性を破壊する効果を有することができる。高い炎症性環境を創出して維持するために、本明細書で記載される活性同種異系Ｔｈ１細胞を含む薬剤を患者の静脈に注入することができる。あるいは、本明細書で記載される活性同種異系Ｔｈ１細胞を含む薬

剤を動脈内に投与することができる。活性同種異系Ｔｈ１細胞は、患者を最初に予備刺激するために使用された同種異系細胞と同じドナーからのものであると好ましい。

【００４２】

薬剤の注入は、患者の予備刺激された免疫システムがＴｈ１細胞を拒絶するように活性化するので高い炎症性環境をもたらす。さらに、同種異系細胞の拒絶は、全身性腫瘍を液状化して除去するのに必要な、またＴｈ１細胞の免疫攻撃を回避するために腫瘍能力を抑制するのに必要な、免疫学的事象のカスケードを開始するホスト先天性免疫システム（ＮＫ細胞やマクロファージなど）の構成要素を活性化する二次的な効果を有する。同種異系細胞の拒絶反応は、同種異系移植設定において創出されたＧＶＨＤ環境と同様の免疫学的環境を創出することができる。しかし、本発明の方法によれば、同種異系細胞の拒絶に関して毒性はない。

【００４３】

この明細書で記載される方法は、樹状細胞成熟分子ＣＤ４０Ｌ（ＣＤ１５４）を患者に提供することを含む。ＣＤ４０Ｌは、ホスト造血前駆細胞、上皮細胞や内皮細胞、および全てのＡＰＣ、ＤＣ、活性単球、活性Ｂリンパ球、濾胞樹状細胞およびＮＫ細胞上に構成的に発現されたＣＤ４０と相互作用することができる。ＣＤ４０Ｌは、Ｔｈ１応答の強力な誘導因子の１つであり、ＣＤ４０Ｌ刺激はＴｒｅｇ細胞(調節性Ｔ細胞)の抑制効果を抑止する。またＣＤ４０Ｌは、先天性ＮＫ細胞を活性化しまたＤＣの最も有効な活性体の１つである。ＤＣのＣＤ４０－ＣＤ４０Ｌ活性は、共刺激分子の成熟、アップレギュレーション、及びＩＬ－１２の大量の産出につながり、共刺激分子の成熟、アップレギュレーション、及びＩＬ－１２の大量の産出は、強力な抗腫瘍とＴｈ１のステアリング特性を有する。またＣＤ４０Ｌは、腫瘍の成長を抑制することと広範囲に腫瘍を死滅させることの両方において、直接的な抗腫瘍効果を有することが示されている。またＣＤ４０Ｌ活性化は、腫瘍のＣＴＬ媒介による溶解を高めることができる。ＣＤ４０Ｌは、単独あるいは治療用組成物の一部として患者に投与可能である。ＣＤ４０Ｌが、組成物内に存在する抗ＣＤ３／抗ＣＤ２８架橋結合抗体で活性化される活性同種異系Ｔｈ１細胞によりアップレギュレートされるので、ＣＤ４０Ｌは、活性同種異系Ｔｈ１細胞を含む治療用組成物として患者に提供可能である。

【００４４】

また、組成物の同種異系Ｔｈ１細胞により産生されるＴｈ１サイトカインと、同種異系Ｔｈ１細胞の細胞上でのＣＤ４０Ｌ発現により、ＣＤ４０Ｌの発現をアップレギュレートするために本発明の方法のプライミングステップで生成される循環自己特異的なＴｈ１細胞と他のホスト免疫細胞を活性化することができる。これは、組成物がホスト活性細胞上のＣＤ４０Ｌ発現を維持することで拒絶された後、持続的なＣＤ４０Ｌシグナルを提供する。持続的なホストＣＤ４０Ｌ発現は、腫瘍の免疫回避をダウンレギュレーションするのに必要な持続的な炎症性環境を提供し、抗腫瘍効果を媒介する本発明の第２のｉｎ　ｓｔｉｕワクチン相を生成する腫瘍特異ＣＴＬを可能にする。

［実施例］

患者

試験において、少なくとも１ラウンドの化学療法では難治の進行性転移癌(ステージＩＶ)の患者が適格であった。完全な病歴、精密検査、完全な血球数、臨床化学および胸部と腹部と骨盤のコンピュータ断層撮影（ＣＴ）を使って各患者の臨床病期が評定された。骨転移の病歴のある患者にはＣＴ／ＰＥＴスキャンも行われた。全ての患者の臨床病期は、改定された米国合同委員会（ＡＪＣ）システムに基づき決定された。

【００４５】

さらに適格となる要件は以下の通りであった。書面による自発的なインフォームド・コンセント、年齢が１８歳以上、経皮的冷凍アブレーションのために安全に評価できると思われる場所にある少なくとも１つの転移性病変の大きさを測定できる疾患、東部共同腫瘍学グループ（ＥＣＯＧ）のパフォーマンスステータスが２以下、余命が２ヶ月以上、血液機能と腎機能と肝機能が適切であること、すなわち全ビリルビンが１．５ｍｇ/ｄＬより

小さく、ＡＳＴ／ＡＬＴが２．５ＵＬＮ以下、クレアチニンが１．５ｍｇ/ｄＬ以下、アルカリホスファターゼが２．５ＵＬＮ以下（肝臓が関与する場合は通常の５倍以下）、絶対顆粒球数が１，２００ｍｍ^{3}以上、血小板数が７５，０００ｍｍ^{3}以上、ＰＴ／ＩＮＲが１．５以下およびヘモグロビンが９ｇ/ｄＬ以上。患者は、ベバシズマブを入症（ａｃｃｒｕａｌ）から３週間以内（冷凍アブレーションの６週間前）に用いてはならないし、また入症から２週間以内は化学療法をおこなってはならない。

【００４６】

臨床試験除外基準は、計画された治療を受けるための能力を損なうであろう先在の病歴であり、過去に同種異系骨髄／骨髄幹細胞移植または臓器移植、実験薬剤を投与した最初の日から３０日以内に副腎皮質ステロイド剤を生理学的用量（用量はプレドニゾンを５ｍｇ/日より多く）を超えて連用（２週間より長く)し、活性自己免疫疾患（例えば、慢性関節リウマチ、多発性硬化症、自己免疫性甲状腺疾患、ぶどう膜炎）を付随し、過去の実験的癌ワクチン治療（例えば、樹状細胞療法、熱ショックワクチン）、試験開始から３ヶ月以内にシクロスポリン、抗胸腺細胞グロブリンまたはタクロリムスを含む免疫抑制治療、輸血反応歴、進行性細菌およびウイルス感染症、症候性心臓病または心駆出率が４５％より小さく、症候性肺疾患またはＦＥＶ１、ＦＶＣ及びＤＬＣＯ予測値が５０％以下、ＨＩＶ陽性歴またはＡＩＤＳ歴（ＨＢＶおよび／またはＨＣＶ陽性は許可）、があることであった。ほとんどの患者は入症時に不適切にカロリーと水分を摂取していたが、入症時に不適切にカロリーと水分を摂取していたという理由ではこれらの患者は除外されなかった。

【００４７】

患者４２名について評価した。平均年齢は６０．２歳（範囲は５０－８９歳）で４０％が男性で６０％が女性であった。患者は１ライン平均７コースで平均２．７ラインの化学療法で前治療された。４５％は前もって放射線治療され９０％は腫瘍病変を外科的に切除した。また患者は全身腫瘍組織量が高く患者１人あたり平均２２の転移性の病変があった。一般的な適応症として乳がん（４２％）で次に結腸直腸がん(１９％）であり、また卵巣癌、肉腫癌、扁平上皮癌、肺癌、前立腺と泌尿器癌、膵臓癌、メラノーマおよび転移性食道癌も含まれた。

皮内注射

ＣＤ３／ＣＤ２８を被覆したミクロビーズと結合する同種異系Ｔｈ１細胞を含む薬剤の皮下注射は、細胞１×１０^7～４×１０^{7}個の用量で投与された。ＣＤ３／ＣＤ２８を被覆したミクロビーズと結合する同種異系Ｔｈ１細胞は１ｍＬに１×１０^{7}個の細胞密度となるプラズマライトＡ（PlasmaLyteA）と１％のヒト血清アルブミンを含む緩衝液中に浮遊させた。１～４回１ｍＬ注射が、１度に異なる箇所(上腕、太もも上部と腹部)に投与された。皮内注射は、多くとも２日毎少なくとも９日毎に投与され、少なくとも３週間は毎週注射されるのが好ましい。

腫瘍内注射

薬剤の腫瘍内注射は、切除後１時間以内に切除された腫瘍の壊死中心部で行うが、切除の一週間以内であればよい。好適な薬剤の１×１０^7～６×１０^{7}細胞の腫瘍内注射を投与した。複数の腫瘍がある場合には、１つの腫瘍のみを切除した。時として切除手術は繰り返された。

静脈内注入、腹腔内注入、胸腔内注入、静脈内注入、硬膜外注入

薬剤の静脈内注入、腹腔内注入、胸腔内注入、静脈内注入は、細胞１×１０^7～１×１０^{9}個の範囲の用量で、通常では１×１０^{8}個の用量で投与された。腹腔への薬剤の注入は、癌腫症と悪性の腹水症を治療するために用いることができる。同様に、胸腔内注入は悪性の胸水を治療することができ、硬膜外注射は脳脊髄腔の悪性腫瘍を治療することができる。これらの注入は腫瘍が完全に根絶するまで必要に応じて繰り返された。

【００４８】

第１のステップのプロトコルは、「プライミング」ステップと呼ばれる。プライミングステップは、２日以上別々に、好ましくは８日を超えず別々に、細胞１×１０^7～４×１０^{7}個の範囲の用量で薬剤の皮内注射を３回以上含む。患者は注射の後、いくつかの副作

用のため少なくとも３０分間観察された。
【００４９】
方法の第２のステップは、「ｉｎ－ｓｉｔｕ　ワクチン接種」ステップと呼ばれる。このステップは前記プライミングステップ終了後２日間から８日間行われた。この処置は選別した腫瘍病変を切除してから一時間以内に細胞１×１０^{7}～６×１０^{7}個の用量の薬剤の腫瘍内注射を含む。あるいは、悪性の腹水がある患者は、腫瘍冷凍アブレーションを行ってもまたは行わなくとも腹腔内注入するのに適しており、触知病変のある患者は、腫瘍冷凍アブレーションを行ってもまたは行わなくともアルコールアブレーションに適していた。腹膜癌症の患者は、細胞１×１０^{8}～１×１０^{9}個の用量の好適な薬剤を腹腔内に投与された。
【００５０】
冷凍アブレーションに使用される方法は、ＣｒｙｏＣａｒｅ－２８経皮的プローブシステム（Ｅｎｄｏｃａｒｅ，米国カリフォルニア州）を使用した。このシステムは、ジュール・トムソン効果を使用して、閉システム中でクリオプローブの末端を冷却するものである。ガス係数とノズルの寸法により、前記ノズルに近接する場所では、異なる気体要素は異なる熱交換事象を生じる。アルゴンガスは冷却する(－１８７℃)ために使用され、ヘリウムは加熱する（６７℃）ために使用される。
【００５１】
必要に応じて、計画された標的腫瘍病変はＣＴ画像ガイダンスにより特定され位置づけられた。滅菌野が生成され局所麻酔が計画されたプローブ挿入サイトに施された。ガイドプローブは、経皮的に挿入されＣＴにより前記標的腫瘍病変内にあることが確認された。凍結融解サイクルが１回または２回行われた。標的腫瘍の大きさにより２ｍｍから５ｍｍの１つのプローブが使用された。ＣＴに現れる「アイスボール」の出来具合により凍結時間はおよそ１５から２０分であった。融解は第２の凍結プロセス（行った場合）が始まる前に凍結時間と同じ時間ヘリウムを注入することで達成された。この処置で唯一必要なのは前記腫瘍病変のサンプルを切除することであり、断端に腫瘍がない完全な腫瘍の切除は必要としない。
【００５２】
切除された病変は、好適な薬剤の注射前に、冷却サイクルに続いて１０分から１時間冷却することを許された。
免疫刺激ステップである方法の最後のステップは、冷凍アブレーションと同日から冷凍アブレーション処置後８日以内に行われた。このステップは、１×１０^{7}～１×１０^{8}細胞の用量の薬剤を少なくとも２日以上別々に１回以上の静脈内注入を含む。ほとんどの患者はブースタ注射として毎月ＩＶ注入を受けた。
応答
本発明の方法で治療された患者は、最後の治療からほぼ３０日後にＣＴで評価された。静脈造影がない場合のＣＴでは、腫瘍は通常中間密度である。腫瘍、血管、筋肉およびリンパ節は、全て同じ密度を有し得る。ヨウ化造影剤を静脈内に（ＩＶ）投与した後、腫瘍は変動の度合いが高まる。すなわち、まさに血管であるパラガングリオーマは非常に高められるが、存在しているより多くの細胞質である扁平上皮細胞は、ほとんど、または全く高められ得ない。壊死巣または以前の出血はＣＴでは暗黒（低密度）となる。血液供給が不足すると壊死巣は造影剤を投与した後でも高められない。
【００５３】
治療が成功すると、３０日間でＣＴスキャンに、ベースラインと比べて低密度（暗黒）となる全ての腫瘍の病変の膨張を示した（大きくなる）。ＣＴ上でより大きい腫瘍の外観には、均一な低密度嚢腫または中心壊死部分と生存する進行周縁部のある進行性腫瘍とは対照的に、低密度のドット状の異種斑点が現れる。低濃度で不均一な外観は腫瘍が液化したことを示す。
結果
図１は、２００９年６月に肝臓に転移性疾患のある転移性結腸直腸癌の患者（８９歳）

、及びＦＯＬＦＯＸとＦＯＬＦＩＲＩ化学療法、及びアバスチンと共にＦＯＬＦＩＲＩのラインで治療された、冠状断像を示す。２０１０年６月には、進行して化学療法では難治となり、２０１０年９月には肝臓に１１の転移性病変を抱えた。患者に対しては、３週間隔で、細胞１×１０^{7}個の用量の本明細書に記載される薬剤を皮内に投与し、次に１週間後に肝臓に転移した病変の１つを冷凍アブレーションにより処置し、２１日目に腫瘍内に好適な薬剤を注入し、２８日目に細胞１×１０^{9}細胞の静脈内ＩＶ注入を行った。

【００５４】

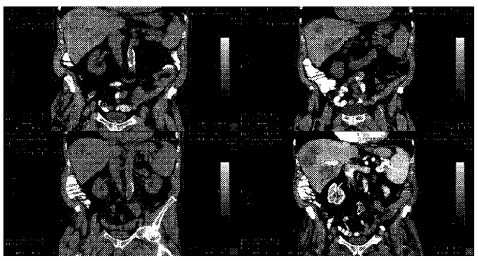
図１は、肝臓の転移性病変の選別された薄片のベースラインの所見を示す。６０日後には、腫瘍はより大きくより低密度になり液状化反応と一致する。９０日後には、腫瘍はその大きさを維持したが、恐らく水を再吸収したために低密度ではなくなった。次に患者は、９５日目にブースタＩＶ注入を投与され、１２０日目にさらにＣＴ画像を撮影した。画像は低密度が戻り大きさが増加したことを示す。実際にこれは液状化を示すためで単に進行性腫瘍を示すためのものではなく、腫瘍は病理学者により生検され評価された。図２に示すように、生検では、免疫が介在した腫瘍液状化と一致する大きな凝固壊死と繊維症を示す。

【００５５】

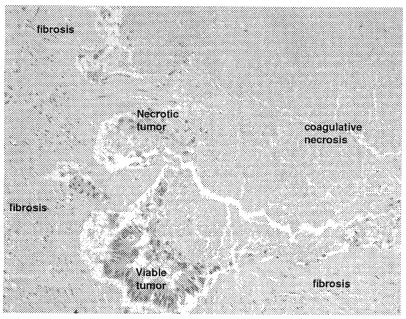
本発明は、好ましい実施の形態に関して記載されているが、本発明の精神と範囲を逸脱することなく当業者は変更が形式上のおよび詳細で行われ得ることは理解されるべきである。

【図１】

Figure 1



【図２】



ｆｉｂｒｏｓｉｓ：繊維症
Ｎｅｃｔｒｏｔｉｃ ｔｕｍｏｒ：壊死腫瘍
Ｖｉａｂｌｅ ｔｕｍｏｒ：生存腫瘍
ｃｏａｇｕｌａｔｉｖｅ ｎｅｃｒｏｓｉｓ：凝固壊死

フロントページの続き

(51)Int.Cl. F I

Ａ６１Ｐ 35/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/00
Ａ６１Ｐ 37/04	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	37/04

合議体
審判長 關 政立
審判官 清野 千秋
審判官 田村 聖子

(56)参考文献 国際公開第２００９／１３５１９９（WO, Ａ1）
特表２００７－５００２１７（ＪＰ, Ａ）
特表２００７－５２６３１４（ＪＰ, Ａ）
米国特許出願公開第２００８／１１２９６３（ＵＳ, Ａ1）
Ｌｅｕｋｅｍｉａ Ｒｅｓ.，２００８，３２，１２，ｐ.１９０３～１９１３

(58)調査した分野(Int.Cl., ＤＢ名)
A61K39/00, 39/395, 38/21
ＣＡｐｌｕｓ／ＭＥＤＬＩＮＥ／ＢＩＯＳＩＳ／ＥＭＢＡＳＥ（ＳＴＮ）
ＪＳＴＰｌｕｓ／ＪＭＥＤＰｌｕｓ／ＪＳＴ７５８０（ＪＤｒｅａｍＩＩＩ）