

## Cancer Immunotherapy with Chimeric Immune Receptors (CIRs) : A Focus on Their Antitumor Activity

Hirotoomo SHIBAGUCHI, Motomu KUROKI, Tetsushi KINUGASA,  
Toshihiro TANAKA and Masahide KUROKI

*Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Fukuoka University*

**Abstract :** T cell immunotherapy is based on the assumption that tumor-associated antigen (TAA) peptides are correctly presented by HLA class I molecules on target tumor cells. However, human tumor cells are well known to often lose HLA class I molecules. This altered HLA class I expression constitutes the major tumor escape mechanism related to the tumor-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL)-mediated response. This fact also indicates that it is not easy to eliminate the target tumors by only activating tumor-specific CTLs. On the other hand, it can be easily confirmed by immunostaining whether or not antibody-recognized TAAs, such as carcinoembryonic antigen, exist on the cell surface of target tumor cells. Recently, strategies which combine the advantages of antibody-based and T cell-based immunotherapy by grafting CTLs with chimeric immune receptors (CIRs) have been attempted to improve the efficacy of T cell immunotherapy for cancer. CIRs are usually made up of antibody fragments of anti-tumor antibody and cellular activation domains of antigen-recognizing receptors on CTLs. Current mouse experiment data using human tumor xenograft models suggest this CIR strategy to be a potentially useful new therapy for TAA-expressing tumors, and several phase I / II clinical studies have just been started to evaluate this CIR strategy.

**Key words :** Chimeric immune receptor, Cancer immunotherapy, Tumor-associated antigen, Antitumor activity

### キメラ免疫受容体 (CIR) を利用したがんの免疫療法 —抗腫瘍効果を中心に—

芝口 浩智   黒木   求   衣笠   哲史  
田中   俊裕   黒木   政秀

福岡大学医学部生化学

**要旨 :** 細胞性免疫の主役であるT細胞は、強力な抗腫瘍効果を期待されながら、標的癌細胞側の HLA の欠如や機能不全のため、その機能を十分に発揮できないでいる。遺伝子組換えで作製されるキメラ免疫受容体 (CIR) は、その分子内に抗原を認識する抗体部分とT細胞などエフェクター細胞の細胞内活性化シグナル分子を有している。抗体部分を抗腫瘍関連抗原抗体 (抗 TAA 抗体) とし細胞内活性化シグナル部分を CD28/CD3 などとすることで、HLA を介せずに腫瘍細胞傷害性Tリンパ球を誘導しうる。各種の CIR を発現させたT細胞は、担癌マウスでの基礎研究において、対応する TAA を発現する腫瘍に対して有効な抗腫瘍効果を発揮しており、フェーズ I / II の臨床試験も始められている。

**キーワード :** がん免疫療法, キメラ免疫受容体, 腫瘍関連抗原, 抗腫瘍効果

## は じ め に

がんの免疫療法として、液性免疫の強化に基づく抗体療法と細胞性免疫の増強をめざすワクチン療法や活性化自己リンパ球移入療法とが試みられている<sup>1)</sup>。抗体療法においては、抗体ががん組織深部へ到達するのに時間がかかることやその半減期が短いことなどが障害となっている。一方細胞免疫においては、腫瘍細胞が免疫系に捕捉されるために必須である主要組織適合性抗原（ヒトでは HLA）の腫瘍細胞表面上における欠損や機能不全がしばしば問題となる<sup>2)</sup>。近年、T細胞や NK 細胞を活性化するための細胞内シグナル経路の詳細が明らかになるにつれ、これらの免疫細胞を活性化する遺伝子組換え分子を利用したがん免疫療法が試みられている。とくに注目を集めているのは、キメラ免疫受容体（chimeric immune receptor；CIR）を用いる方法であり<sup>3)</sup>、CIR はその分子内に抗原を認識する抗体部分と T細胞などエフェクター細胞の細胞内活性化シグナル分子を有している。前報において各種の CIR の遺伝子構築について紹介した<sup>4)</sup>。本報では、主として T細胞に利用される CIR の実際の抗腫瘍効果について紹介する。

### 1. CIR の主な標的抗原と遺伝子構築

T細胞を HLA 非依存的に腫瘍細胞に誘導する CIR の標的抗原は、抗体が認識する腫瘍関連抗原（tumor-associated antigen：TAA）である。表 1 に、最近報告

された CIR に組み込む抗体が認識する主な TAA と CIR の細胞内活性化シグナル領域の分子を示した。活性化シグナル領域は、多くの場合 TCR 複合体の CD3ζ や FcR の FcεRIγ か FcγRIγ が利用される。CIR の細胞外の抗原認識部分には、さまざまな TAA に対する Fab 抗体や単鎖(single-chain variable fragment：scFv) 抗体が組み込まれる。この表からも分かるように、極めて多彩な TAA が標的として利用され、またいろいろながんに対する免疫療法が種々の CIR を介して試みられている<sup>4)</sup>。

### 2. CIR 発現 T細胞の抗腫瘍メカニズム

CIR を発現した T細胞は、図 1 に示したように細胞外の scFv などの抗体部分が HLA に依存することなく TAA を認識し、細胞内の活性化シグナル分子によって活性化され、細胞質中の傷害顆粒に蓄えられているパーフォリンやグランザイム、グラヌリジン、リンホトキシン、TNF-α などの細胞傷害物質を放出する。パーフォリンは細胞外に放出されると Ca<sup>2+</sup> 依存的に標的細胞の細胞膜脂質二重層に入り込み、そこで重合してリング状の複合体（ポリパーフォリン）を形成し、細胞膜に孔を開ける。パーフォリンによって細胞膜に孔を開けただけでは細胞はネクロシスによって死ぬが、DNA の断片化、すなわちアポトーシスは起こらない。傷害顆粒中に共存するグランザイムと呼ばれる蛋白分解酵素がポリパーフォリンの孔から細胞に入り込み、一連のアポトーシスのシグナルカスケードが惹起される。グランザイム

表 1 最近報告された CIR 発現 T細胞の主な標的抗原と細胞内活性化シグナル領域

標的抗原	癌の種類	細胞内活性化シグナル領域	文献
CA19-9	大腸癌	CD3ζ, FcεRIγ, CD28-CD3ζ	12
CA72-4	大腸癌	CD3ζ, FcεRIγ, CD28-CD3ζ	12
CEA	大腸癌	CD3ζ, FcεRIγ, CD28-CD3ζ	12
CEA	大腸癌	FcεRIγ	7
	大腸癌	CD3ζ	5, 28
	大腸癌	CD28-CD3ζ	17
CD19	悪性リンパ腫	CD3ζ	25
	悪性リンパ腫	CD28-CD3ζ	9
CD33	急性骨髄性白血病	CD3ζ, CD28 (ICOS, CD134, CD137)-CD3ζ	14
CD44	各種の癌	CD3ζ	29
HER2	乳/肺/卵巣癌など	CD28-CD3ζ	10, 11, 22, 23
	乳/肺/卵巣癌など	FcγRIγ	24
	乳/肺/卵巣癌など	FcεRIγ	6
G250	腎細胞癌	FcεRIγ	27
GD2	神経細胞腫	CD3ζ	30
KDR	各種の癌	FcεRIγ	8
MICA/B	各種の癌	NKG2D-CD3ζ	15
Lewis-Y	上皮癌	CD28-CD3ζ	31
PSMA	前立腺癌	CD3ζ	32
	前立腺癌	CD28-CD3ζ	13

HER2, human epidermal growth factor receptor-2；KDR, angiogenic kinase insert domain-containing receptor；MICA/B, MHC class I chain-related A/B；PSMA, prostate-specific membrane antigen.

にはA, BのほかC, D, Mなど多くの種類があるが、グランザイムBの効果が最も強い。一方、T細胞表面上のFas リガンドは標的細胞上にFas がある場合はそれと結合し、一連のカスケード反応によって腫瘍細胞にアポトーシスを誘導する。パーフォリン経路で働くグランザイムBは、結果的にはFas 経路と同じ様式のアポトーシスを惹起することになる。ほとんどの腫瘍細胞はパーフォリンによる細胞傷害を受けると思われるが、CTL 自身の細胞膜はパーフォリンに対する抵抗性が強く、標的細胞が傷害される条件でも損傷を受けない。最近では、Fas リガンドとともにTNF の仲間にも属するトレイル (TNF-related apoptosis inducing ligand: TRAIL) を介した細胞傷害など第三の経路も明らかになってきている。

### 3. CIR 発現T細胞の抗腫瘍効果

#### 1) 担癌マウスでの基礎研究

CIR 発現T細胞の実際の抗腫瘍効果については、*in*

*vitro* での成果につづき *in vivo* での結果が相次いで報告されている (表1)。

Haynes らは、抗 CEA scFv 抗体を CD8 $\alpha$  分子のヒンジ機能を介して細胞内活性化シグナル領域と結合させた CIR を作製し、発現させたT細胞の抗腫瘍効果を活性化シグナル領域の違い (scFv-CD8 $\alpha$ -CD3 $\zeta$  と scFv-CD8 $\alpha$ -Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ ) で比較した<sup>5)</sup>。CEA を発現するヒト大腸癌の担癌マウスで試した結果、CD3 $\zeta$  を組み込んだ CIR 発現T細胞の方が Fc $\epsilon$ RI $\gamma$  を組み込んだ CIR 発現T細胞よりも皮下投与と静脈内投与のいずれにおいても強い抗腫瘍効果を示した (図2)。ただし、CEA を含む種々の抗原に対して、Fc $\epsilon$ RI $\gamma$  を組み込んだ CIR 発現T細胞が強い抗腫瘍効果を示したという報告もあり<sup>6)-8)</sup>、細胞内活性化シグナル領域として CD3 $\zeta$  の方が優れているとも言いきれない。一方、CIR の細胞内活性化シグナル領域として共刺激シグナルを担う CD28 を組み込んだ CIR が報告されている<sup>9)-13)</sup>。さらにT細胞で同じく共刺激シグナルを担う ICOS あるい

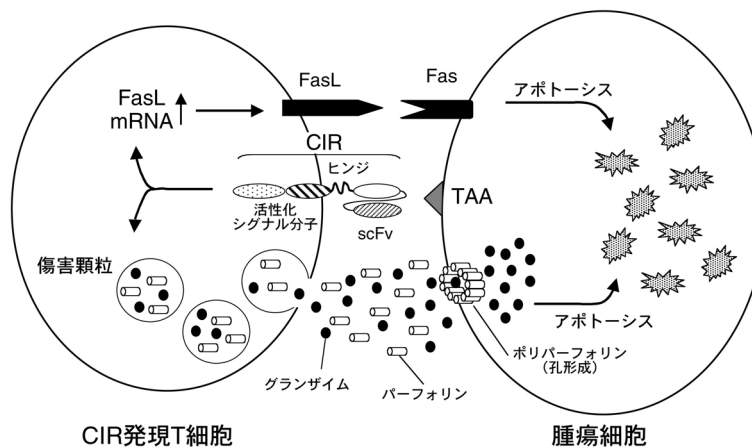


図1 キメラ受容体発現T細胞の腫瘍細胞傷害メカニズム

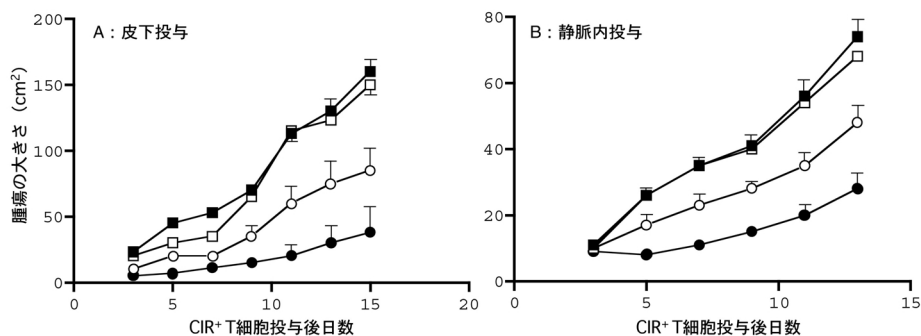


図2 ヒト大腸癌に対する CEA 特異的 CIR 発現T細胞の抗腫瘍効果

未処置群 (■), 細胞内活性化シグナル領域として CD3 $\zeta$  を有する CIR を発現させた T細胞を投与した群 (●), Fc $\epsilon$ RI $\gamma$  を有する CIR を発現させた T細胞を投与した群 (○), そして CIR 未発現T細胞を投与した群 (□) (文献5より改変引用)。

は CD134<sup>14)</sup> や、元来 NK 細胞受容体であり T 細胞でも発現している NKG2D など<sup>15)</sup> を導入した種々の CIR 分子も構築されている<sup>4)</sup>。現在 *in vitro* で解析が進んでおり、今後担癌動物での研究成果も報告されると思われる。

我々は抗 CEA-scFv 抗体を組み込んだ CIR (scFv-CD8 $\alpha$ -CD3 $\zeta$ ) を作製し、*in vitro* におけるその有用性

を報告した<sup>16)</sup>。Gyobu らは、この CIR を CD4<sup>+</sup> Th1 細胞と CD8<sup>+</sup> T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) に発現させ、CEA を発現するヒト胃癌の担癌マウスで調べた<sup>17)</sup>。その結果、期待通り CIR を発現した CD4<sup>+</sup> Th1 と CD8<sup>+</sup> CTL の両細胞が存在する場合に、より強力な抗腫瘍効果を示した (図 3)。ただ、興味深いことに CD4<sup>+</sup> Th1 細胞だけの場合も CD8<sup>+</sup> CTL 単独の場合

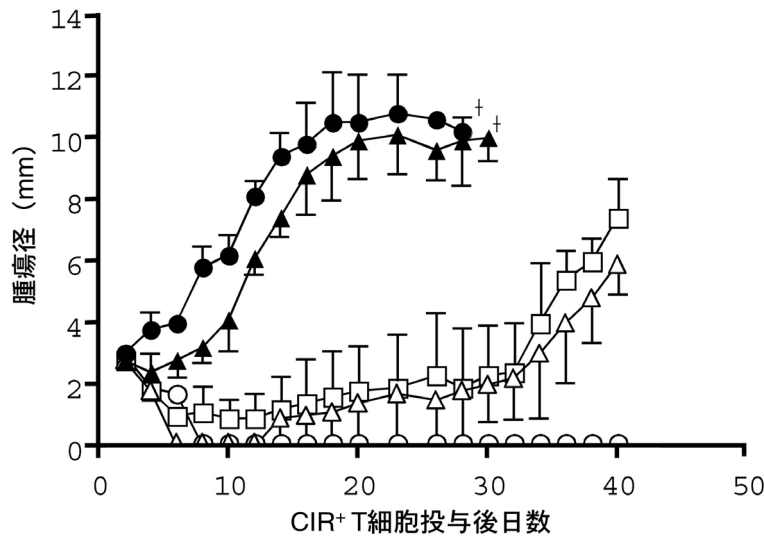


図 3 ヒト胃癌に対する CEA 特異的 CIR 発現 CD8<sup>+</sup> CTL と CD4<sup>+</sup> Th1 細胞の抗腫瘍効果  
未処置の群 (●), CIR 発現 CD4<sup>+</sup> Th1 細胞単独群 (△), CIR 発現 CD8<sup>+</sup> CTL 単独群 (□), CIR 発現 CD4<sup>+</sup> Th1 細胞と CIR 発現 CD8<sup>+</sup> CTL の併用群 (○), そして CIR 未発現の CD4<sup>+</sup> Th1 細胞と CD8<sup>+</sup> CTL の併用群 (▲) (文献17より改変引用)。

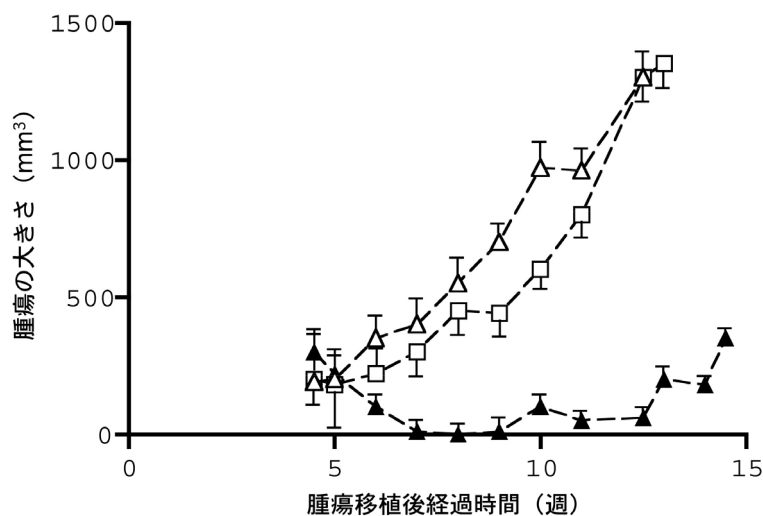


図 4 ヒト前立腺癌に対する HER2 特異的 CIR 発現 T 細胞と IL-2 併用による抗腫瘍効果  
IL-2 単独投与群 (△), CIR 発現 T 細胞投与群 (▲), そして無関係の抗体を組み込んだ CIR 発現 CD4<sup>+</sup> Th1 細胞単独群 (□) (文献24より改変引用)。

と同程度の効果が見られた(図3)。この結果は、CIR を介して CEA 発現腫瘍細胞から直接刺激を受けた  $CD4^+$  Th1 細胞が放出するサイトカインが、マウスが持っている NK 細胞やマクロファージなどのエフェクター細胞を活性化するという可能性を示唆するとともに、 $CD4^+$  Th1 細胞自身が細胞傷害活性を示すことがあるという報告とも一致する<sup>18)-21)</sup>。いずれにしても、CIR 発現T細胞を利用する場合、より強力な抗腫瘍効果を期待するには、 $CD8^+$  CTL と  $CD4^+$  Th1 の両細胞ががん局所に同時に存在する方が望ましいことを示している<sup>22)</sup>。

一方 Kershaw らは、抗 HER2 scFv 抗体を有する CIR (scFv-CD28-CD3 $\zeta$ ) を T 細胞に発現させた免疫療法と化学療法とを HER2 を発現するヒト類上皮癌の担癌マウスで比較した<sup>23)</sup>。それによると、腫瘍を外科的に切除した後の転移癌に対する延命効果は、代表的な抗癌剤の 5-FU あるいは doxorubicin では認められなかったのに対し、CIR 発現T細胞の投与では7例中2例について著効を示したという。化学療法剤との併用に関しては検討されていないが、この結果は、抗癌剤に不応性のがんにおいても CIR 発現T細胞による免疫療法により一定の成果が期待できることを示唆している。

さらに Pinthus らは、抗 HER2 scFv 抗体を有する CIR (scFv-CD28-Fc $\gamma$ RI $\gamma$ ) を T 細胞に発現させた免疫療法と IL-2 との併用療法を、HER2 を発現するヒト前立腺癌の担癌マウスで検討した(図4)<sup>24)</sup>。その結果、IL-2 の併用群でより強い抗腫瘍効果が発揮された。IL-2 はT細胞やNK細胞などのエフェクター細胞を強力に活性化するサイトカインであることからすれば期待通りの結果ともいえる。一方 Brentjens らは、抗 CD19 scFv 抗体を持つ CIR (scFv-CD8 $\alpha$ -CD3 $\zeta$ ) を発現させたT細胞を *in vitro* で増殖させるとき IL-15 を添加し、その効果を CD19 を発現するヒト悪性リンパ腫の担癌マウスで検討した<sup>25)</sup>。その結果、IL-15 存在下で増殖させた CIR 発現T細胞に顕著な延命効果を認めた。IL-15 はT細胞の増殖を促進し、またケモカイン受容体 CXCR4 の発現促進などによってT細胞の遊走能も増強させる効果を有している<sup>26)</sup>。したがって、IL-2 と同じように *in vitro* での増殖時のみならず、今後は CIR 発現T細胞との併用の可能性も期待される。

## 2) フェーズ I / II 臨床試験

最近 Lamers らは、抗 G250 scFv 抗体を有する CIR (scFv-CD8 $\alpha$ -Fc $\epsilon$ RI $\gamma$ ) を3人の腎細胞癌患者のT細胞に導入し、静注で体内に戻すフェーズ I / II 臨床試験をスタートさせた<sup>27)</sup>。現時点でのデータはまだ不十分であるが、患者の循環血中のT細胞では、CIR 遺伝子は30日以上にわたって高コピー数が有意に検出できた。しかしながら、機能的な CIR を細胞表面上に発現してい

るT細胞は、一週間程度しか検出できなかったという。彼らは、IL-2 を初めの3日間だけしか投与していないため、この IL-2 投与の中断によるあるいは遺伝子を導入したT細胞の培養・増殖過程における脆弱化などが原因ではないかと推測している。この結果は、あくまでも患者の循環血中での検討でがん局所での状況は不明であるものの、CIR 発現T細胞の増殖維持方法やサイトカイン併用療法の重要性を改めて指摘しているように思われる。

## おわりに

T細胞を抗体が認識する TAA を標的として癌細胞に誘導できる CIR につき、担癌マウスでの基礎研究とフェーズ I / II 臨床試験の現状を紹介した。担癌マウスでの研究における CIR 発現T細胞の抗腫瘍効果の実績から、今後フェーズ I / II 臨床試験における成果の報告がますます増えてくるものと期待される。

## 文 献

- 1) 黒木政秀, 芝口浩智, 黒木 求: 抗体を利用した癌治療法の現状と新展開. 日本補完代替医療学会誌 2: 15-21, 2005.
- 2) Kuroki Ma, Ueno A, Matsumoto H, Abe H, Li T, Imakiire T, Yamauchi Y, Uno K, Shiota K, Shibaguchi H and Kuroki Mo: Significance of tumor-associated antigens in diagnosis and therapy of cancer: an overview. Anticancer Res 22: 4255-4264, 2002.
- 3) Kuroki Ma, Kuroki Mo, Shibaguchi H, Hachimine K, Badran A and Kinugasa T: Strategies to endow cytotoxic T lymphocytes or natural killer cells with antibody activity against carcinoembryonic antigen. Tumor Biol 25: 208-216, 2004.
- 4) 芝口浩智, 黒木 求, 衣笠哲史, 黒木政秀: キメラ免疫受容体 (CIR) を利用したがんの免疫療法—遺伝子再構築を中心に—. 福岡大医紀 33: 143-150, 2006.
- 5) Haynes NM, Snook MB, Trapani JA, Cerruti L, Jane SM, Smyth MJ and Darcy PK: Redirecting mouse CTL against colon carcinoma: superior signaling efficacy of single-chain variable domain chimeras containing TCR-zeta vs Fc epsilon RI-gamma. J Immunol 166: 182-187, 2001.
- 6) Mamalaki A, Gritzapis AD, Kretsovali A, Belimezi M, Papamatheakis J, Perez SA, Papamichail M and Baxevanis CN: In vitro and in vivo antitumor activity of a mouse CTL hybridoma expressing chimeric receptors bearing the single chain Fv from HER-2/neu-specific antibody and the gamma-chain from Fc (epsilon) RI. Cancer Immunol Immunother 52: 513-522, 2003.

- 7) Darcy PK, Haynes NM, Snook MB, Trapani JA, Cerutti L, Jane SM and Smyth MJ : Redirected perforin-dependent lysis of colon carcinoma by ex vivo genetically engineered CTL. *J Immunol* 164 : 3705-3712, 2000.
- 8) Kershaw MH, Westwood JA, Zhu Z, Witte L, Libutti SK and Hwu P : Generation of gene-modified T cells reactive against the angiogenic kinase insert domain-containing receptor (KDR) found on tumor vasculature. *Hum Gene Ther* 11 : 2445-2452, 2000.
- 9) Rossig C, Bar A, Pscherer S, Altvater B, Pule M, Rooney CM, Brenner MK, Jurgens H and Vormoor J : Target antigen expression on a professional antigen-presenting cell induces superior proliferative antitumor T-cell responses via chimeric T-cell receptors. *J Immunother* 29 : 21-31, 2006.
- 10) Moeller M, Haynes NM, Trapani JA, Teng MW, Jackson JT, Tanner JE, Cerutti L, Jane SM, Kershaw MH, Smyth MJ, et al. : A functional role for CD28 costimulation in tumor recognition by single-chain receptor-modified T cells. *Cancer Gene Ther* 11 : 371-379, 2004.
- 11) Teng MW, Kershaw MH, Moeller M, Smyth MJ and Darcy PK : Immunotherapy of cancer using systemically delivered gene-modified human T lymphocytes. *Hum Gene Ther* 15 : 699-708, 2004.
- 12) Heuser C, Hombach A, Losch C, Manista K and Abken H : T-cell activation by recombinant immunoreceptors: impact of the intracellular signalling domain on the stability of receptor expression and antigen-specific activation of grafted T cells. *Gene Ther* 10 : 1408-1419, 2003.
- 13) Maher J, Brentjens RJ, Gunset G, Riviere I and Sadelain M : Human T-lymphocyte cytotoxicity and proliferation directed by a single chimeric TCRzeta/CD28 receptor. *Nat Biotechnol* 20 : 70-75, 2002.
- 14) Finney HM, Akbar AN and Lawson AD : Activation of resting human primary T cells with chimeric receptors : costimulation from CD28, inducible costimulator, CD134, and CD137 in series with signals from the TCR zeta chain. *J Immunol* 172 : 104-113, 2004.
- 15) Zhang T, Lemoi BA and Sentman CL : Chimeric NK-receptor-bearing T cells mediate antitumor immunotherapy. *Blood* 106 : 1544-1551, 2005.
- 16) Arakawa F, Shibaguchi H, Xu Z and Kuroki M : Targeting of T cells to CEA-expressing tumor cells by chimeric immune receptors with a highly specific single-chain anti-CEA activity. *Anticancer Res* 22 : 4285-4289, 2002.
- 17) Gyobu H, Tsuji T, Suzuki Y, Ohkuri T, Chamoto K, Kuroki M, Miyoshi H, Kawarada Y, Katoh H, Takeshima T, et al. : Generation and targeting of human tumor-specific Tc1 and Th1 cells transduced with a lentivirus containing a chimeric immunoglobulin T-cell receptor. *Cancer Res* 64 : 1490-1495, 2004.
- 18) Guo Y, Niiya H, Azuma T, Uchida N, Yakushijin Y, Sakai I, Hato T, Takahashi M, Senju S, Nishimura Y, et al. : Direct recognition and lysis of leukemia cells by WT1-specific CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in an HLA class II-restricted manner. *Blood* 106 : 1415-1418, 2005.
- 19) Homma S, Komita H, Sagawa Y, Ohno T and Toda G : Antitumor activity mediated by CD4<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes against MHC class II-negative mouse hepatocellular carcinoma induced by dendritic cell vaccine and interleukin-12. *Immunology* 115 : 451-461, 2005.
- 20) Wahid R, Cannon MJ and Chow M : Virus-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> cytotoxic T-cell responses and long-term T-cell memory in individuals vaccinated against polio. *J Virol* 79 : 5988-5995, 2005.
- 21) Lundin KU, Screpanti V, Omholt H, Hofgaard PO, Yagita H, Grandien A and Bogen B : CD4<sup>+</sup> T cells kill Id<sup>+</sup> B-lymphoma cells : FasLigand-Fas interaction is dominant in vitro but is redundant in vivo. *Cancer Immunol Immunother* 53 : 1135-1145, 2004.
- 22) Moeller M, Haynes NM, Kershaw MH, Jackson JT, Teng MW, Street SE, Cerutti L, Jane SM, Trapani JA, Smyth MJ, et al. : Adoptive transfer of gene-engineered CD4<sup>+</sup> helper T cells induces potent primary and secondary tumor rejection. *Blood* 106 : 2995-3003, 2005.
- 23) Kershaw MH, Jackson JT, Haynes NM, Teng MW, Moeller M, Hayakawa Y, Street SE, Cameron R, Tanner JE, Trapani JA, et al. : Gene-engineered T cells as a superior adjuvant therapy for metastatic cancer. *J Immunol* 173 : 2143-2150, 2004.
- 24) Pinthus JH, Waks T, Kaufman-Francis K, Schindler DG, Harmelin A, Kanety H, Ramon J and Eshhar Z : Immuno-gene therapy of established prostate tumors using chimeric receptor-redirected human lymphocytes. *Cancer Res* 63 : 2470-2476, 2003.
- 25) Brentjens RJ, Latouche JB, Santos E, Marti F, Gong MC, Lyddane C, King PD, Larson S, Weiss M, Riviere I, et al. : Eradication of systemic B-cell tumors by genetically targeted human T lymphocytes co-stimulated by CD80 and interleukin-15. *Nat Med* 9 : 279-286, 2003.
- 26) Ferrari-Lacraz S, Zheng XX, Kim YS, Li Y, Maslinski W, Li XC and Strom TB : An antagonist IL-15/Fc protein prevents costimulation blockade-resistant rejection. *J Immunol* 167 : 3478-3485, 2001.
- 27) Lamers CH, Gratama JW, Pouw NM, Langeveld SC, Krimpen BA, Kraan J, Stoter G and Debets R : Parallel detection of transduced T lymphocytes after immunogene therapy of renal cell cancer by flow cytometry and real-time polymerase chain reaction : implications for loss of transgene expression. *Hum Gene Ther* 16 : 1452-1462, 2005.
- 28) Sheen AJ, Sherlock DJ, Irlam J, Hawkins RE and Gil-

- ham DE : T lymphocytes isolated from patients with advanced colorectal cancer are suitable for gene immunotherapy approaches. *Br J Cancer* 88 : 1119–1127, 2003.
- 29) Dall P, Herrmann I, Durst B, Stoff-Khalili MA, Bauerschmitz G, Hanstein B and Niederacher D : In vivo cervical cancer growth inhibition by genetically engineered cytotoxic T cells. *Cancer Immunol Immunother* 54 : 51–60, 2005.
- 30) Rossig C, Bollard CM, Nuchtern JG, Merchant DA and Brenner MK : Targeting of G(D2)–positive tumor cells by human T lymphocytes engineered to express chimeric T–cell receptor genes. *Int J Cancer* 94 : 228–236, 2001.
- 31) Westwood JA, Smyth MJ, Teng MW, Moeller M, Trapani JA, Scott AM, Smyth FE, Cartwright GA, Power BE, Honemann D, et al. : Adoptive transfer of T cells modified with a humanized chimeric receptor gene inhibits growth of Lewis-Y–expressing tumors in mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 102 : 19051–19056, 2005.
- 32) Gade TP, Hassen W, Santos E, Gunset G, Saudemont A, Gong MC, Brentjens R, Zhong XS, Stephan M, Stefanski J, et al. : Targeted elimination of prostate cancer by genetically directed human T lymphocytes. *Cancer Res* 65 : 9080–9088, 2005.

（平成18. 5.10受付, 18. 6.28受理）