

現低下に関する最近のエピジェネティクスに関する知見を紹介するものである。

### エピジェネティクスによる遺伝子発現抑制機序とは

遺伝子発現抑制を生じる機序についてはジェネティック、エピジェネティックなそれに大別される。近年後者の機序、すなわち遺伝子の欠失や変異を伴わないが癌抑制遺伝子発現が失われる現象のあることが知られており、それが可逆的変化であることから発現回復を望むことができるため、その制御による治療への応用に期待が寄せられている。エピジェネティックな変化として注目されている現象の代表的なものとしてヒストン脱アセチル化現象が挙げられる。その概要(図3)をより詳細に解説する形で以下に説明する。

遺伝子のプロモーター領域にシトシン・グアニン配列(CpG配列)の豊富なDNA配列として特徴づけられるCpGアイランドが存在する。そのシトシンがDNAメチル化酵素(DNA methyltransferase: DNMT)によってメチル化を生じ(図4)、メチル化シトシンとなる。ここに

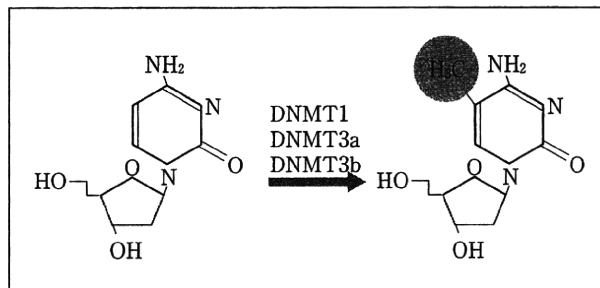


図4 DNAメチル化部位

methyl-CpG-binding protein (MBP)が結合し(図5A)、さらにこのMBPにヒストン脱アセチル化酵素(histone acetylase: HDAC)が結合する(ヒストン脱アセチル化現象、図5B)。脱アセチル化により電化(イオン化)を伴っていたヒストンテールの喪失からクロマチンが凝集することとなる。その結果、このプロモーター領域に転写因子のアクセスが失われ遺伝子発現が抑制される(図6)。このプロセスが代表的なヒストン脱アセチル化によるエピジェネティクス遺伝子発現抑制機序である。この機序がHLAクラスI発現に作用しているとするならば、免疫エスケープ機序の一つとなることから、そのエピジェネティクス変化の修飾化により、エスケープ機

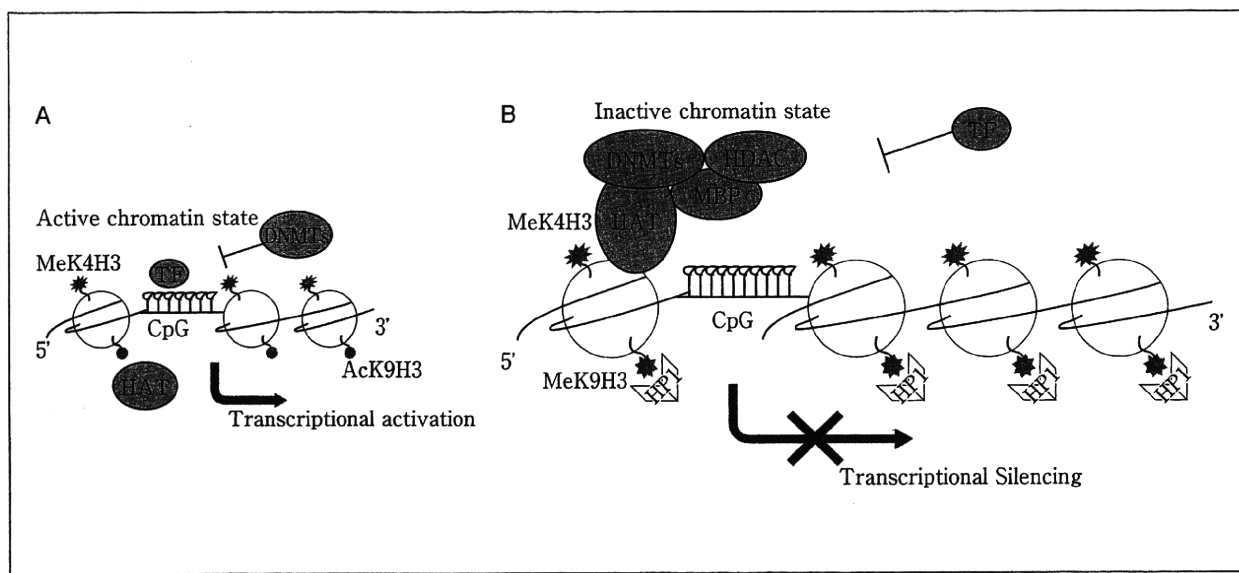


図5 遺伝子転写制御系の epigenetic 変化—activation と silencing—

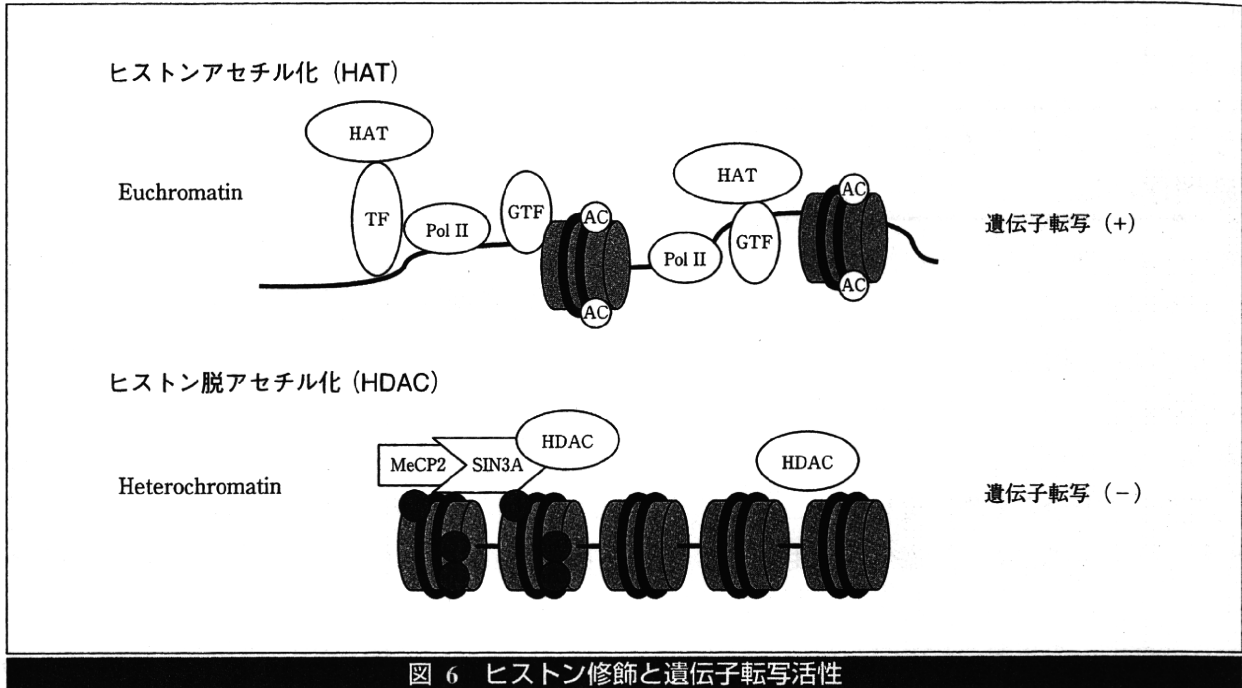


表 3 各種固型癌における HLA クラス I 発現性

Origin	Total	Positive	Down/Negative (%)
Oral cancer	78	33	45 (58%)
Breast cancer	41	6	35 (85%)
Lung cancer	35	28	7 (20%)
Colon cancer	15	11	4 (27%)
Renal cell cancer	45	29	16 (36%)
Bladder cancer	53	35	18 (34%)
Prostate cancer	49	9	40 (82%)

構からの解除の可能性が想定される。

### 抗原提示関連分子の発現低下とその原因

著者らは、独自に提案しえたヒト HLA クラス I 発現性を検証するシステムによって、各種の癌組織における HLA クラス I 分子の発現レベルを検討したところ、発現低下例の頻度が癌種別に大きな差を生じていること、例えば、乳癌や前立腺癌ではその割合が多く(表 3)、この発現低下が独立した予後因子となりうることも明らかとなった<sup>3,4)</sup>。さらに HLA クラス I 分子は重鎖と軽鎖  $\beta_2$ -microglobulin ( $\beta_2$ M) とのヘテ

ロダイマーから構成されるため、これらのいずれかの遺伝子発現低下を生じると、癌細胞膜上での MHC クラス I の発現低下につながる。重鎖については HLA-A, B, C の 3 種があるものの  $\beta_2$ M は共通な分子として存在するため、 $\beta_2$ M は HLA のすべての発現に関与する。前立腺癌や乳癌の多くにみられる HLA クラス I 分子発現低下の原因が  $\beta_2$ M 遺伝子のヒストン脱アセチル化であることが解明された<sup>4)</sup>。

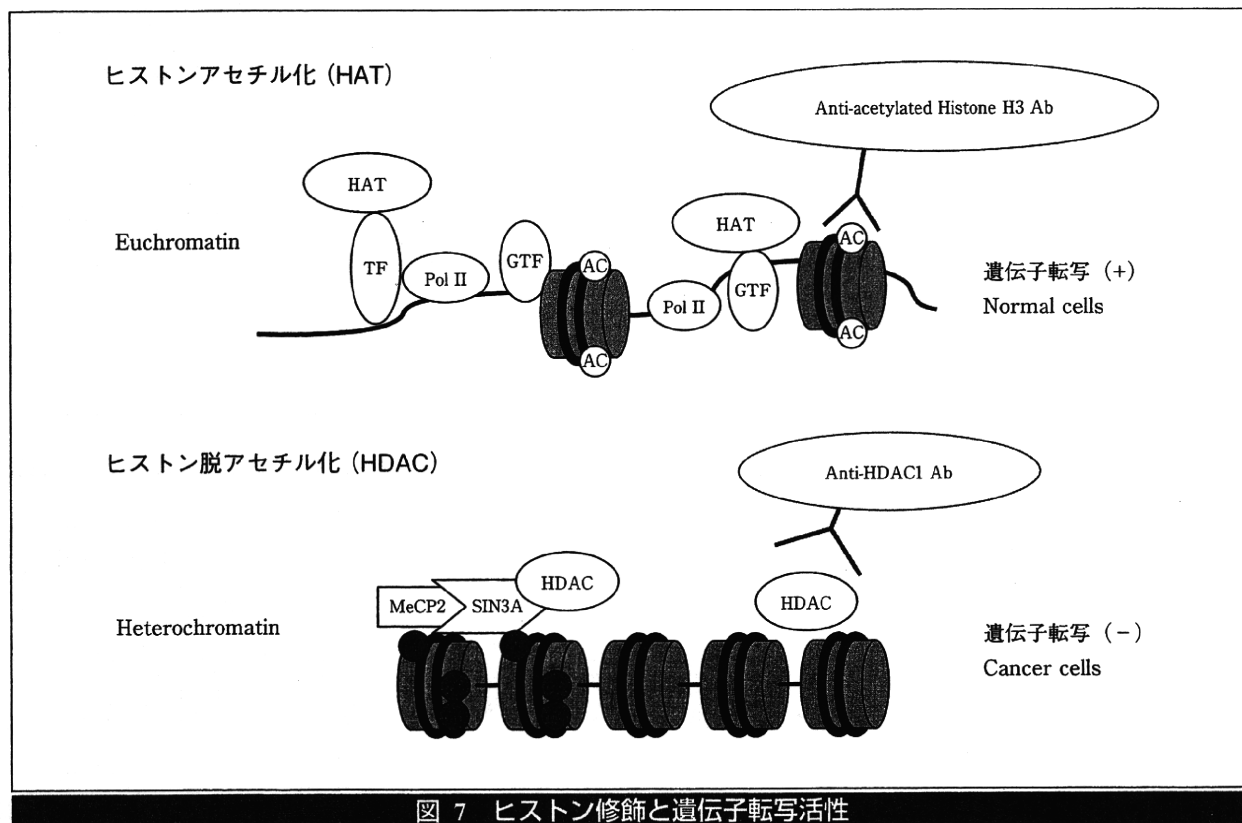


表 4 抗原提示分子の発現低下と発現回復を目的とした薬剤(文献 7, 表 2 の一部を紹介)

発現抑制遺伝子	研究対象癌腫	発現回復薬剤	
		<DNMT 阻害剤>	<HDAC 阻害剤>
I. MHC クラス I	神経芽細胞腫 <sup>8)</sup>	5-AZA・DC	TSA
	前立腺癌 <sup>4)</sup>		TSA
	巨核球性白血病 <sup>10)</sup>		SB
	メラノーマ <sup>11)</sup>		
II. MHC クラス II	神経芽細胞腫 <sup>8)</sup>	SB	TSA
	HeLa 細胞 <sup>12)</sup>		TSA
	骨髄単球性白血病 <sup>10)</sup>		TSA
	B 細胞リンパ腫 <sup>13)</sup>		TSA
III. $\beta_2$ -microglobulin	前立腺癌 <sup>4)</sup>		TSA
IV. CIITA	扁平上皮癌 <sup>9)</sup>		TSA

## エピジェネティクス制御による免疫逃避機構の解除は可能か

前述したようなエピジェネティクス免疫逃避機構が証明されると、一つは癌抗原遺伝子の増幅や HLA クラス I 発現機構の修飾化、すなわ

ち癌細胞における DNA メチ化現象あるいはヒストン脱アセチル化現象の阻害、そして細胞性免疫の CTL 賦活化、などが治療法の一つとして想定される。

本項では HLA クラス I におけるエスケープ機構にのみ焦点を当てて記載するよう依頼され

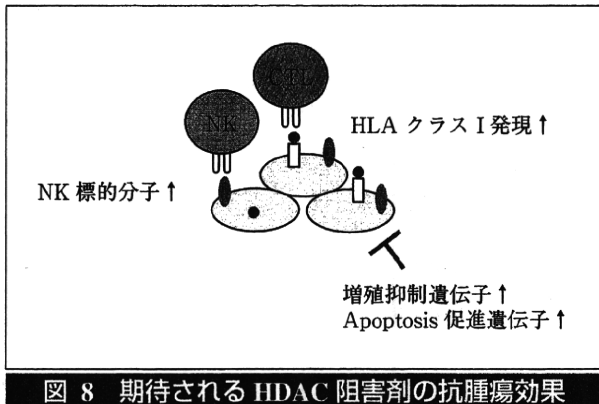


図 8 期待される HDAC 阻害剤の抗腫瘍効果

ていることより、DNA メチル化酵素阻害剤、ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤を取り上げその有用性を想定し、かつ臨床試験・基礎研究の一部を紹介したい。すでに今日までに DNMT 阻害剤として 5-aza-2'-deoxycytidine (5-AZA/DC), HDAC 阻害剤として valproic acid (VPA), trichostatin A (TSA), sodium butyrate (SB) が、適応疾患を異にして市販されている。HDAC の作用として考えられている箇所は図 7 を参照されたい。他に標的分子の特徴とその特異的選択性を目指した阻害作用を示す薬剤開発についての研究も行われており、それらの臨床応用に期待が寄せられている。これまでに明らかにされた抗原提示関連分子の発現抑制遺伝子と発現回復薬剤を表 4 に要約した。これら薬剤の作用は図 8 に示したような抗腫瘍効果を期待できる。

## 他のエピジェネティクス免疫逃避機序と関連知見

抗原直接提示あるいは HLA クラス I 分子が直接関与する抗原提示関連分子とは別に、T 細胞へのシグナル伝達に関与する adhesion-costimulatory molecules (例：CD80, C86) の発現抑制によって免疫逃避を生じることが知られている。これらについても HDAC 阻害剤の有用性が報告されている<sup>10)</sup>。また、NK 細胞活性化分

子として知られる MICA/MICB の HDAC 阻害剤による発現回復が確認されている<sup>14, 15)</sup>。このことは、HDAC 阻害剤が関与する分子については、標的抗原以外にも存在しうることを示したものである。このことはさらに細胞内アポトーシスシグナル伝達分子に研究が進んでおり、そのエピジェネティクスな免疫エスケープ機序を生じていることが報告されている<sup>16-19)</sup>。

## おわりに

腫瘍免疫の作用発現の腫瘍細胞側因子の必須条件として、①抗原エピトープの発現、②MHC (クラス I およびクラス II) の発現、を挙げることができる。しかし、診断時に腫瘍抗原の発現が認められないか HLA クラス I の発現低下・消失した症例数が多いことも知られていた。札幌医科大学病理学第一講座で HLA クラス I に対する適切な抗体を提案するに至り、このような免疫逃避機構の解析にさらなる進展がみられ、エピジェネティクスの知見の融合が図られているといえる。これらの知見は、今後の癌ワクチン療法の発展のための新しい扉を開いたといえる。

## 文 献

- 1) Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ, *et al.* : Escape of human solid tumors from T-cell recognition : molecular mechanisms and functional significance. *Adv Immunol* 2000 ; **74** : 181-273.
- 2) Ogino T, Bandoh N, Hayashi T, *et al.* : Association of tapasin and HLA class I antigen down-regulation in primary maxillary sinus squamous cell carcinoma lesion with reduced survival of patients. *Clin Cancer Res* 2003 ; **9** : 4043-4051.
- 3) Tsuruma (in press)
- 4) Kitamura H, Torigoe T, Asanuma H, *et al.* : Down-regulation of HLA class I antigens in prostate cancer tissues and up-regulation by histone deacetylase inhibition. *J Urol* 2007 ; **178** : 692-696.
- 5) 池田英之：腫瘍エスケープにおけるキラー細胞抑制性受容体の意義。細胞工学 1998 ; **17** : 1239-

1244.

- 6) 河上 裕: 免疫制御のための戦略. 実験医学 2001; **19**: 2577-2584.
- 7) 中津川宗秀, 鳥越俊彦: エピジェネティクスにより制御される腫瘍の免疫逃避機構. Annual Review 免疫 2008: 203-209, 2008.
- 8) Magrer WJ, Kazirn AL, Stewart C, *et al.*: Activation of MHC class I, II and CD40 gene expression by histone deacetylase inhibitors. *J Immunol* 2000; **165**: 7017-7024.
- 9) Kanesaki T, Ikeda H, Takamura Y, *et al.*: Histone deacetylase, but not hypermethylase, modifies class II transactivator and MHC class II gene expression in squamous cell carcinomas. *J Immunol* 2003; **170**: 4980-4985.
- 10) Maeda T, Towatari M, Kosugi H, *et al.*: Up-regulation of costimulatory/adhesion molecules by histone deacetylase inhibitors in acute myeloid leukemia cells. *Blood* 2000; **96**: 3847-3856.
- 11) Serrano A, Tanzarella S, Lionello I, *et al.*: Expression of HLA class I antigens and restoration of antigen-specific CTL response in myeloma cells following 5-aza-2'-deoxycytidine treatment. *Int J Cancer* 2001; **94**: 243-251.
- 12) Zika E, Greer SF, Zhu X-S, *et al.*: Histone deacetylase 1/mSin3A disrupts gamma interferon-induced CIITA function and major histocompatibility complex class II enhancosome formation. *Mol Cell Biol* 2003; **23**: 3091-3102.
- 13) Gialitakis M, Kretsovali A, Spilianakis C, *et al.*: Coordinated changes of histone modifications and HDAC mobilization regulate the induction of MHC class II genes by Trichostatin A. *Nucleic Acids Res* 2006; **34**: 765-773.
- 14) Skov S, Pedersen MT, Andresen L, *et al.*: Cancer cells become susceptible to natural killer cell killing after exposure to histone deacetylase inhibitors due to glycogen synthase kinase-3-dependent expression of MHC class I related chain A and B. *Cancer Res* 2005; **65**: 11136-11145.
- 15) Armeanu S, Bitzer M, Lauer UM, *et al.*: Natural killer cell-mediated lysis of hepatoma cells via specific induction of NKG2D ligands by the histone deacetylase inhibitor sodium valproate. *Cancer Res* 2005; **65**: 6321-6329.
- 16) Insinga A, Monestiroli S, Ronzoni S, *et al.*: Inhibitors of histone deacetylases induce tumor selective apoptosis through activation of the death receptor pathway. *Nat Med* 2005; **11**: 71-76.
- 17) Eramo A, Pallini R, Lotti F, *et al.*: Inhibition on DNA methylation sensitizes glioblastoma for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated destruction. *Cancer Res* 2005; **65**: 11469-11477.
- 18) Horak P, Plis D, Haller G, *et al.*: Contribution of epigenetic silencing of tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand receptor 1 (DR4) to TRAIL resistance and ovarian cancer. *Mol Cancer Res* 2005; **3**: 335-343.
- 19) Fulda S, Debatin K-M: 5-Aza-2'-deoxycytidine and IFN-gamma cooperate to sensitize for TRAIL-Oncogene. 2006; **25**: 5125-5133.

## 2

熱ショック蛋白質による免疫  
制御と癌ワクチン開発

札幌医科大学病理学第一講座 田村保明, 佐藤昇志

## はじめに

近年, 多数のヒト腫瘍拒絶抗原分子が同定され, 抗原ペプチドや蛋白を用いた腫瘍特異的ワクチン療法が臨床試験の段階にある. 一部の症例では腫瘍の完全退縮といった劇的な治療効果を認め, 新たな治療法として注目を集めはじめたが, その一方でワクチン療法には全く反応を示さない症例が多数あり, このような臨床効果の違いが何に起因しているのかを解明し, より効果的な治療法を開発する必要がある.

癌抗原を用いたワクチン療法をより有効性の高いものとするには, 抗原ペプチドあるいは蛋白質を樹状細胞に代表される抗原提示細胞に効率よく送達することに加え, 抗原提示細胞の成熟化・サイトカイン産生を誘導することが重要である. さらに, 抗原特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を誘導することが目的の場合は, ワクチン抗原をクロスプレゼンテーション経路に誘導することが必須である.

我々は, 細胞外の熱ショック蛋白質 (HSP)-抗原複合体が樹状細胞によって受容体依存性にエンドサイトーシスされ, クロスプレゼンテーションにより CTL を効率よく誘導することを示してきた. 中でも Hsp90 や小胞体の分子シャペロン ORP150 と抗原の複合体は CTL 誘導による抗腫瘍効果が確認され, 臨床応用が期待される. 本項では, Hsp90, ORP150 を用いた抗

腫瘍免疫応答誘導のメカニズム, 特に細胞内における抗原プロセッシングについて述べる. さらに最近ロシアにおいて製薬化が承認された gp96 を用いた personalized ワクチンについても解説する.

## 熱ショック蛋白質と免疫誘導

癌免疫における熱ショック蛋白質 (heat shock protein : HSP) の意義付けは, 1990 年代の Srivastava らの報告に端を発する. 彼らは, マウスの線維肉腫の腫瘍拒絶抗原同定過程で, 小胞体 HSP の一種である gp96 に免疫原性があることを発見し, その拒絶抗原の本態は gp96 そのものではなく gp96 に結合している腫瘍由来の抗原ペプチドであると報告した. ほぼ同時期に我々は, 癌化に伴って細胞表面上に発現する Hsc73 様抗原が  $\gamma\delta$ T 細胞と反応することを報告した. さらに, Hsp72 や Hsp90, grp170 (ORP150) にも同様の免疫原性があることが証明された. その後の精力的な研究により, HSP はシャペロンとして細胞内で主にプロテアソームにより生成される抗原ペプチドを結合・保護・輸送し, MHC クラス I 分子による抗原提示を介して, T 細胞による免疫応答を誘導することが明らかにされた. このような細胞内での分子シャペロンとしての重要性に加え, 近年では細胞外の HSP の免疫制御機構, 特にクロスプレゼンテーションにおける役割が脚光を浴び

ている。すなわちストレスに曝露された腫瘍細胞や感染細胞が壊死に陥ると、細胞内のHSPはペプチドと複合体を形成した状態で細胞外に放出される。このHSP-抗原複合体はreceptor dependentに効率よく樹状細胞(dendritic cell: DC)などの抗原提示細胞に取り込まれる。こうしてHSPに結合した抗原が抗原提示細胞上のMHCクラスIおよびクラスII分子に提示され、T細胞応答が誘導される。この場合、HSP-抗原ペプチド複合体は樹状細胞にとっては外来性抗原として認識される。外来性抗原がMHCクラスIIと結合し細胞表面上に提示されるメカニズムに関してはよく知られているが、MHCクラスIに提示される分子機序(クロスプレゼンテーション)に関しては未だ不明の点が多い。近年の研究によりHSP-抗原ペプチド複合体は非常に効率よくクロスプレゼンテーションされることが明らかになってきた<sup>1)</sup>。腫瘍細胞や感染細胞から細胞外周囲環境に放出されたHSPは、腫瘍あるいは感染症由来の抗原と細胞が本来有している内在性自己抗原の両者を結合している。この際、内在性自己抗原に反応するT細胞はnegative selectionにより除去されているため、免疫反応は腫瘍抗原あるいは感染症の原因である細菌あるいはウイルス由来の抗原に対して選択的に誘導されると考えられる。さらに細胞外のHSPはToll-like receptorを介する刺激により抗原提示細胞からのサイトカインの産生や抗原提示細胞の成熟化を促進することにより、自然免疫系を活性化することが知られており、natural immune adjuvantとしての機能も注目されている<sup>2)</sup>。

### クロスプレゼンテーションの生体防御機構における意義と癌ワクチン療法に与えるインパクト

本来外来性抗原はMHCクラスII経路に入

り、CD4<sup>+</sup> T細胞の活性化を誘導することがcentral dogmaとして認識されてきた。しかし抗原の形態あるいは樹状細胞による抗原の取り込み方法によっては、外来性抗原であってもMHCクラスI経路に入り、CD8<sup>+</sup> T細胞の活性化を誘導する経路、すなわちクロスプレゼンテーション経路の存在が明らかになった。クロスプレゼンテーションの生体防御機構における意義は、専門的抗原提示細胞以外の細胞が発現する抗原に対する免疫応答の誘導には、必ずクロスプレゼンテーション経路により、CD8<sup>+</sup> T細胞が抗原提示を受け活性化される必要があるということである。すなわち癌細胞に対する免疫応答が効率的に誘導されるためには、priming phaseでこのクロスプレゼンテーションが行われる必要がある。癌細胞自身は癌特異的抗原を発現しているが、共刺激分子を発現していないため、CD8<sup>+</sup> T細胞を活性化できないからである。またこのクロスプレゼンテーション経路は、蛋白質抗原を用いた癌ワクチンを考えた際にも、大変重要な問題となる。なぜなら、抗原の投与方法ないし取り込まれ方により、ワクチンとしての癌抗原の提示経路が異なる可能性があるからである。ペプチドワクチンと異なって、蛋白質抗原ワクチンの場合は、CD4<sup>+</sup> T細胞とCD8<sup>+</sup> T細胞の両方の活性化を目的として投与される。しかし外来性抗原がMHCクラスI分子経路に誘導されるのは予想以上に難しい。そのため抗原を化学修飾する、あるいはリポソームに封入するなどの様々な工夫が提案されている。ごく最近我々は、Hsp90にシャペロンされた抗原ペプチドは主としてTAP非依存性のエンドソーム-リサイクリング経路によりMHCクラスI分子にクロスプレゼンテーションされることを報告した<sup>2)</sup>。さらに投与される抗原は外来性抗原であるため、当然MHCクラスII分子による抗原提示も同時に行われると予

想したが、実際は Hsp90 にシャペロンされた MHC クラス I およびクラス II 分子のいずれにも提示されるエピトープを含む前駆ペプチドは MHC クラス I 分子によってのみ抗原提示された。このような“クラス I 抗原提示経路”，“選択的な抗原輸送”がいかにして実行されるのであろうか。以下に我々の結果について述べる。

### Hsp90-抗原複合体によるクロスプレゼンテーション

Hsp90 は細胞質内に豊富に存在する分子シャペロンであり、多くの癌細胞で発現が増加している。そのため、癌細胞が壊死に陥った際には、細胞外周囲環境に放出され、これが danger signal として抗原提示細胞により取り込まれることで、T 細胞を主体とする免疫応答を誘導すると考えられた。これを検証するために、まず前駆ペプチドを用いて、Hsp90 と前駆ペプチドの複合体を作成し、樹状細胞によるクロスプレゼンテーションを検討した<sup>3)</sup>。OVA 由来の抗原ペプチド SL8(SIINFELK)は H-2K<sup>b</sup>に提示され、CD8<sup>+</sup> T 細胞ハイブリドーマ B3Z に認識される。この系を用いて Hsp90 によるクロスプレゼンテーション誘導を検討した。SL8 の C 末端側に 5 つのアミノ酸を付加した SL8C 前駆ペプチドと Hsp90 の複合体を *in vitro* において作成し、樹状細胞にパルスすると、前駆ペプチド単独と比較して非常に効率よくクロスプレゼンテーションされ、B3Z に認識された。しかもこのクロスプレゼンテーションは TAP (transporter-associated with antigen processing) ノックアウトマウス由来の樹状細胞を用いても野生型マウス由来の樹状細胞と同程度の抗原提示を示したことから、TAP 非依存性に抗原提示されることが明らかになった。次に蛍光色素ラベルした Hsp90 と SL8C との複合体を用いて、樹状細胞内の局在を検討すると、初期エンドソ-

ムに存在することが明らかになった。しかし後期エンドソーム、lysosome にはその存在を認めなかった。さらに H-2K<sup>b</sup> と SL8 エピトープとの複合体を認識する抗体 25-D1.16 を用いた検討で、Hsp90 にシャペロンされた前駆ペプチドは初期エンドソームで processing を受け、リサイクリングエンドソームに輸送され、ここでリサイクル MHC クラス I 分子に受け渡されることが示された。また competition assay の結果、Hsp90-ペプチド複合体の取り込みは受容体依存性エンドサイトーシスによることが示された (図 1)。

### Hsp90-抗原ペプチド複合体による免疫誘導と免疫監視機構

このような Hsp90-抗原ペプチド複合体による免疫誘導が実際、生体内でも行われているのだろうか？ 最近、国澤らは細胞質内の Hsp90 は C 末端側に長い前駆ペプチドを結合して、輸送していることを示した<sup>4)</sup>。我々がクロスプレゼンテーションを検討するために用いた C 末端側を延長した前駆ペプチドと Hsp90 との複合体は非常に効率よくクロスプレゼンテーションされ、CD8<sup>+</sup> T 細胞を活性化する。すなわち Hsp90-前駆ペプチド複合体が実際に細胞内で存在しており、細胞壊死により、細胞外に放出されると、局所の炎症を感知して浸潤してきた樹状細胞などの抗原提示細胞に取り込まれ、結合抗原をクロスプレゼンテーションするものと考えられる。例えば生体がウイルスに感染した場合、感染細胞が壊死を起し、ウイルス抗原の前駆ペプチドを結合した HSP が周囲に放出される。このとき、この微小環境では大量のサイトカインと HSP-前駆ペプチド複合体が存在するので、炎症反応を感知した樹状細胞が浸潤し、サイトカインによりさらに活性化され、同時に HSP 受容体を用いて、HSP-前駆ペプチド



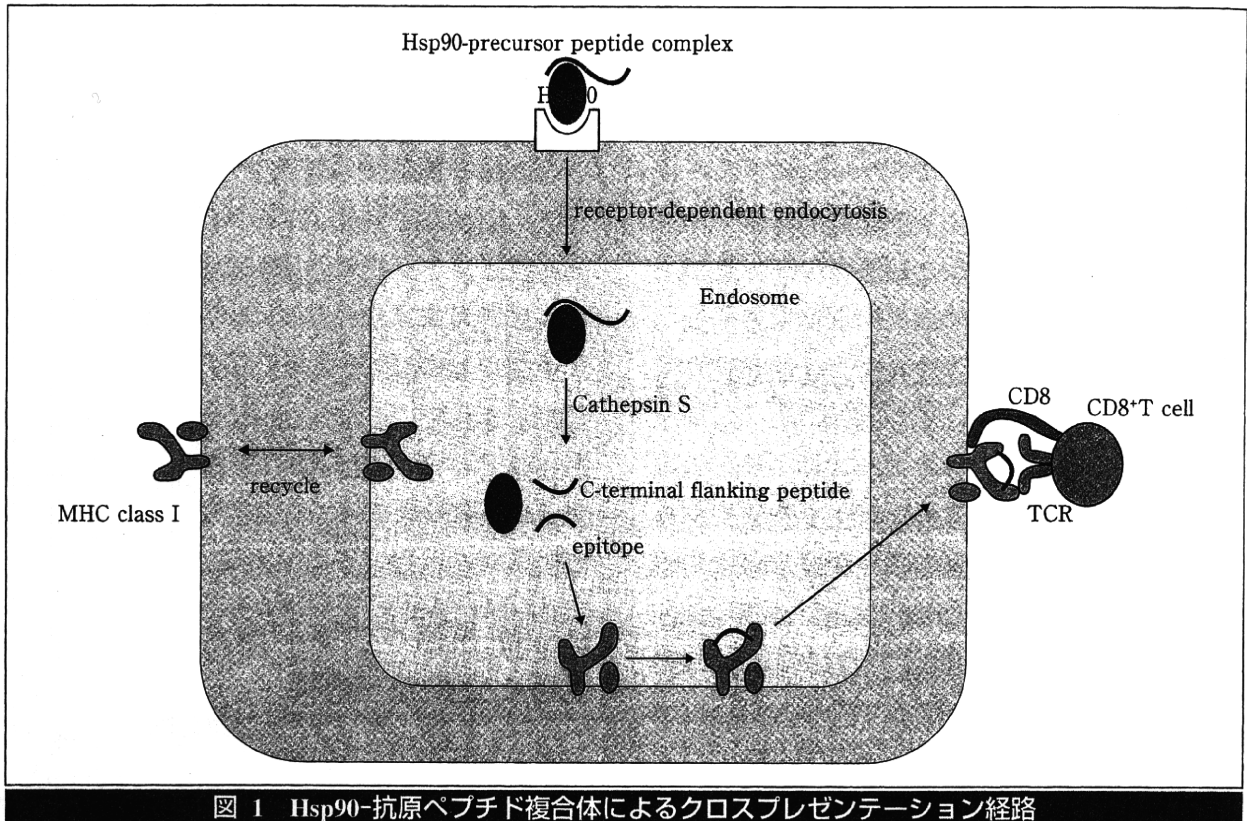


図 1 Hsp90-抗原ペプチド複合体によるクロスプレゼンテーション経路

Hsp90-抗原ペプチド複合体のクロスプレゼンテーションは、エンドソーム-リサイクリング経路に入り、カテプシン S などのプロテアーゼにより process され、MHC クラス I 分子に提示される。

複合体をエンドサイトーシスにより取り込み、クロスプレゼンテーション経路に誘導する。もちろん、細胞内には Hsp70 をはじめとする様々な分子シャペロンが存在するので、これらの分子によるクロスプレゼンテーションを介する免疫制御について、さらに理解を深める必要がある。

### HSP-癌抗原ペプチド複合体を用いた抗原特異的免疫応答増強効果

これまで述べたように、HSP にシャペロンされた抗原は非常に効率よくクロスプレゼンテーションされ、CTL を誘導することができる。この優れた免疫賦活作用を有する HSP と癌ワクチンペプチドとの複合体を用いた抗原特異的 CTL 誘導について検討した。現在我々は、アポトーシス抑制分子の一つである survivin 2B がほとんどすべての癌細胞に発現していること、

かつ抗原性が高く、CTL 誘導効率が優れていることから、HLA-A\*2402 を対象にした survivin 2B 由来の癌抗原ペプチドを用いたワクチン療法の臨床試験を実施している。しかし、予想していたとおりではあるが、単独投与や不完全フロイドアジュバントを併用したワクチンでは十分な免疫効果が得られず、サイトカインの併用や自然免疫リガンドを利用した新規アジュバントを開発することが必要である。そこで我々は、survivin 2B ペプチドと HSP を含む自然免疫リガンドを用いた複合型ワクチンの動物試験を実施した。抗原として用いた survivin 2B ペプチドは、9 アミノ酸からなるペプチドであり、日本人に最も頻度の高い HLA-A\*2402 拘束性に提示される CTL epitope である。我々は、survivin 2B ペプチドと種々の自然免疫リガンドを組み合わせ、HLA-A\*2402/K<sup>b</sup> transgenic

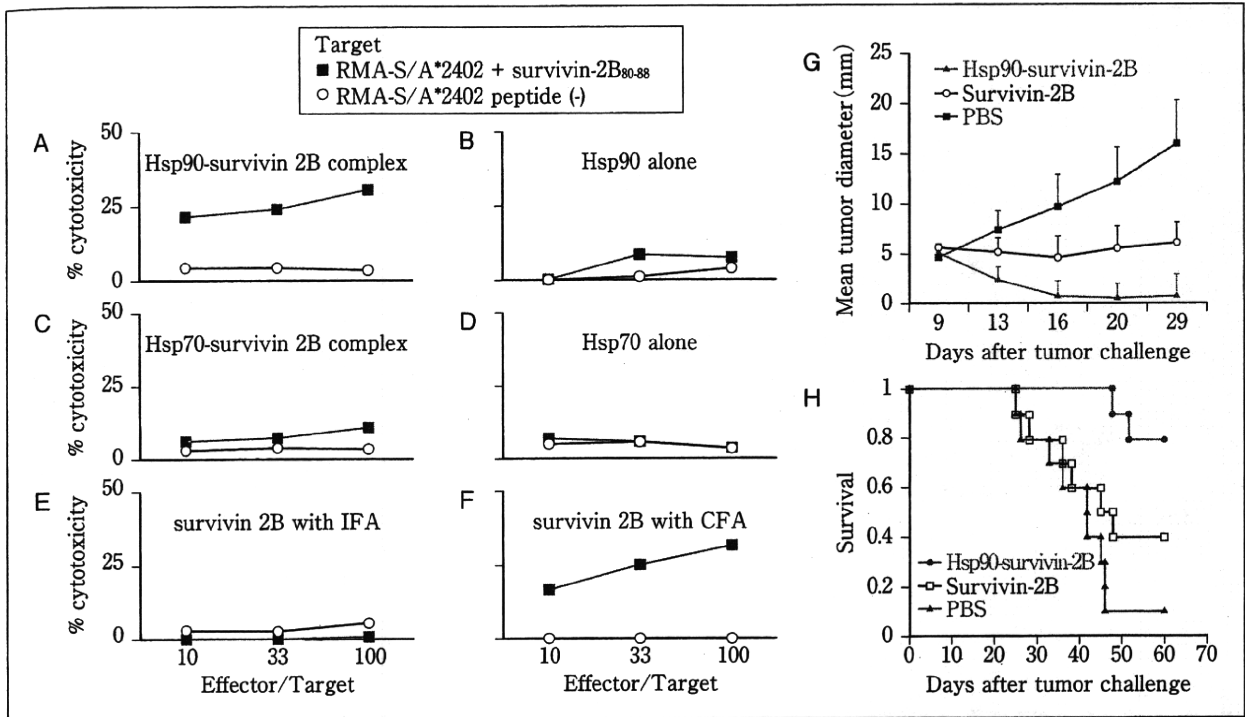


図 2 Hsp90-抗原ペプチド複合体による CTL 誘導効果と抗腫瘍免疫

癌抗原 survivin 2B 由来のペプチドを HLA-A\*2402 トランスジェニックマウスに免疫して、その CTL 誘導効果を比較検討した。IFA とともに免疫(E)あるいは Hsp70 との複合体を免疫したもの(C)に比較して、Hsp90-survivin 2B ペプチド複合体で免疫すると(A)、CFA とともに免疫した場合(F)に匹敵する高い細胞傷害活性を示す特異的 CTL が誘導された。また HLA-A\*2402 トランスジェニックマウスに survivin 2B を発現する腫瘍をあらかじめ接種し、Hsp90-survivin 2B ペプチド複合体を用いてその治療効果を検討した。Survivin 2B ペプチド単独と比較すると、Hsp90-survivin 2B ペプチド複合体による治療的ワクチンは腫瘍の増殖を抑制し(G)、80% の生存率を得た(H)。

mouse に投与し、ペプチド特異的 CTL の誘導能と腫瘍拒絶効果を比較検討した。その結果、図 2 に示すように Hsp90 とペプチドの複合体を免疫した場合に、高い CTL 誘導効果と腫瘍縮小効果を示した。これは前述したように、HSP-抗原ペプチド複合体が樹状細胞をはじめとする抗原提示細胞によって効率的にクロスプレゼンテーションされた結果、抗原ペプチド特異的 CTL が誘導されたためと考えられる。

### 小胞体局在分子シャペロン ORP150 (Grp170) によるクロスプレゼンテーションと免疫応答

小胞体に局在する分子シャペロンを用いた免疫応答制御については gp96 がよく解析されて

いる。我々は低酸素で発現誘導される分子シャペロンである ORP150 に注目して、クロスプレゼンテーションを促進するか否かについて検討した。ORP150 は Kuwabara らが同定した低酸素誘導性の分子シャペロンである。さらに Spee らは、小胞体に輸送されたペプチドは、gp96, PDI, Erp72, calnexin および ORP150 により選択的に結合することを示している<sup>5)</sup>。この事実を基に我々は、ORP150 による免疫制御について検討した。すなわち ORP150 と OVA 由来 SL8 の前駆ペプチドとの複合体を作製して、骨髄由来の樹状細胞にパルスするとペプチド単独と比較して効率よくクロスプレゼンテーションされることを示した。またこの ORP150-SL8 前駆ペプチド複合体をマウスに免

疫すると高い細胞傷害性を示す CTL が誘導された。ORP150 のユニークな点は、Hsp90 と異なり、MHC クラス I および MHC クラス II 分子に提示されるペプチドを含む前駆ペプチドと複合体を作製して、樹状細胞にパルスすると MHC クラス I 分子はもちろん、MHC クラス II 分子にも提示され、CD4<sup>+</sup>T 細胞を活性化する。この ORP150-抗原ペプチド複合体も現在解析中の受容体依存性に取り込まれ、初期エンドソームに入り、リサイクリング経路でクロスプレゼンテーションされることを確認している。このように CD4<sup>+</sup>T および CD8<sup>+</sup>T 細胞のいずれも活性化することを期待する場合は ORP150 を用いることができる。

### HSP ワクチンの臨床試験の現況

現在海外では、autologous tumor-derived gp96 vaccine (Oncophage) が転移性悪性黒色腫と腎癌を対象として第 3 相臨床試験の段階にある。特筆すべきことに、ごく最近この Oncophage がロシアにおいて世界初の personalized cancer vaccine として認可された。対象は転移の認められない intermediate risk (stage I / II の high grade, stage III の T1, T2, T3a で low grade) の腎癌患者である。これはロシアを含む多施設の臨床試験において、604 人の転移のない intermediate risk の腎癌患者を対象にした randomized trial が実施され、362 人の Oncophage を投与された患者の 45% に有意な無再発生存期間の延長が認められたという結果をふまえた承認である。また現在 Glioma と非小細胞性肺癌の Phase I / II が現在進行中である。また同様に、autologous tumor derived Hsp70 vaccine (AG-858) の臨床試験も実施された。Gleevec と組み合わせることで CML 患者 8 人のうち 7 人に臨床効果

が認められた。また、imatinib mesylate との組み合わせによって、慢性骨髄性白血病患者の 20 人中 13 人に臨床効果が認められたことも報告され、新たな白血病治療法として大きな期待を集めている。

### まとめ

HSP-抗原複合体による免疫制御について、癌免疫療法への応用とその分子機序を中心に述べた。抗原提示細胞上の分子シャペロンの受容体がいくつか同定されたが、現在のところこれら受容体による取り込みと免疫応答にいたるまでの分子間の相互関係、例えばシャペロンと受容体は細胞内のどのコンパートメントで解離し、その後リサイクルされるのかあるいは分解へと回るのか、など未解明の課題が山積している。これらを一つひとつ明らかにすることが、癌の強固な牙城を崩す、免疫療法の確立につながるものと考えている。

### 文 献

- 1) Srivastava P : Interaction of heat shock proteins with peptides and antigen presenting cells : chaperoning of the innate and adaptive immune responses. *Annual Rev Immunol* 2002 ; 20 : 395-425.
- 2) Asea A, Kraeft SK, Kurt-Jones EA, *et al.* : HSP70 stimulates cytokine production through a CD14-dependant pathway, demonstrating its dual role as a chaperone and cytokine. *Nat Med* 2000 ; 6 : 435-442.
- 3) Kurotaki T, Tamura Y, Ueda G, *et al.* : Efficient cross-presentation by heat shock protein 90-peptide complex-loaded dendritic cells via an endosomal pathway. *J Immunol* 2007 ; 179 : 1803-1813.
- 4) Kunisawa J, Shastri N : Hsp90alpha chaperones large C-terminally extended proteolytic intermediates in the MHC class I antigen processing pathway. *Immunity* 2006 ; 24 : 523-534.
- 5) Spee P, Subject J, Neefjes J : Identification of novel peptide binding proteins in the endoplasmic reticulum : ERp72, calnexin, and grp170. *Biochemistry* 1999 ; 38 : 10559-10566.

### 3. 腫瘍抗原の新しいカテゴリー

札幌医科大学第1病理学 廣橋良彦  
同 准教授 鳥越俊彦  
同 教授 佐藤昇志

key words immunotherapy, tumor antigen, tolerance, oncogene, cell cycle

#### 動 向

1970～80年代に分子生物学の分野が大きく発展し、徐々に生命現象を分子レベルで解析することが可能となってきた。腫瘍免疫学の分野でも同様に分子生物学的手法が大きな役割を果たしており、Boonらのグループが1991年にはじめてヒト腫瘍拒絶抗原としてMAGEファミリー遺伝子群を分子生物学的アプローチにより同定した<sup>1)</sup>。この歴史的な発見以降、細胞傷害活性T細胞(CTL)もしくは抗体に認識される多数の腫瘍抗原分子が同定・解析されてきた。そこで、Boonらのグループが、これら数多くの腫瘍抗原分子をいくつかのカテゴリーに分類することを提唱した<sup>2)</sup>。それは、腫瘍抗原分子の腫瘍細胞・正常組織での発現形式から以下の4グループに分類するものである。①がん共通特異抗原、②過剰発現抗原、③臓器特異抗原、④遺伝子変異である。この分類はアップデートされた最新版をウェブサイトにて閲覧することができる<sup>3)</sup>。これらの腫瘍抗原分子をがん免疫療法の標的と考えた場合、非常に重要な情報を与えてくれる。標的とするがん細胞や正常組織での発現様式を知ることにより、免疫療法の副作用としての自己免疫疾患を予測するうえで重要なインフォメーションとなるからであ

る。この点において、Boonらの分類法は非常に有用である。

分子生物学的手法は、がん研究の分野にも大きな進歩をもたらした。多くのがん遺伝子が同定され、がん抑制遺伝子の解析や、がんの浸潤、転移といった、がんを定義づける生物学的な性格が分子レベルで解析されてきている。これまで同定されてきた腫瘍抗原分子のかなりの部分が、細胞のがん化にもかかわる分子である。とすると、がんの免疫療法を考える場合、抗原分子の機能的側面に基づいた免疫療法のデザインをすることができるならばより合理的な治療法となるだろう。たとえば、抗アポトーシス機能をもつBcl-2やサバイピンは、がんの放射線療法や、化学療法に対する耐性獲得にかかわっていることが明らかになっている。とすれば、放射線療法や化学療法とBcl-2やサバイピンを標的とした免疫療法を併用すれば、単純な相加効果のみならず、相乗効果として期待できるだろう。このように、合理的ながん免疫療法をデザインするにあたって、免疫療法の標的遺伝子の機能的側面をとらえておくことは非常に重要となる。

そこで、本稿では、従来の腫瘍抗原分子のカテゴリーを基礎に、特にがんの生物学的性格に関す

る機能的側面からとらえなおし、分類化を試みる。これらの細胞がん化に重要な機能をもつ遺伝子群は、正常細胞においても低レベルの発現がみられることが多く、Boonらの分類によると、②過剰発現抗原に分類される。これら過剰発現抗原は、その正常組織で発現が認められるゆえに、免疫寛容が引き起こされている可能性がある。確かに、いくつかの抗原ペプチドでは免疫寛容が誘導されていることが示唆されているが、反面、免疫寛容とならない機構もいくつか知られており、免疫原性の高い抗原ペプチドも報告されている。そこで、免疫寛容の問題にも触れつつ、過剰発現する腫瘍抗原分子を機能的側面から分類する。

がん細胞は、多細胞生物が個体を作り上げ維持する際の基本となるさまざまな制御から逃れている。そして、がん細胞の性質は次の2つにより定義されている。

①細胞分裂制御の破綻。

②細胞間組織構築の破綻。

がんは体細胞より様々な変異が蓄積され生じる。この蓄積された変異が、多くの遺伝子発現を引き起こし、がん細胞をがん細胞たらしめる上記の形質となって現れるのである。細胞のがん化を引き起こすがん遺伝子群は多数知られており、Weinbergらのグループを含め多数のグループが精力的にがん遺伝子の同定を行っている。ヒトの様々ながん腫において、発がんにかかわる遺伝子群は異なるが、がん細胞としての形質を発揮するのに基本となる遺伝子群をHanahan, Weinbergらは6グループに分類している<sup>4)</sup>。これは細胞レベルで発がんを理解するうえで重要な方向性を示すものである。

さらに、近年においては、細胞レベルより一つ上の段階の細胞集塊としてがんをとらえるうえで、がん幹細胞理論という重要な概念が提唱されている<sup>5)</sup>。これは、はじめに血液系悪性腫瘍にて提唱された概念であるが、上皮系悪性腫瘍にもが

ん幹細胞の存在が明らかになりつつある。がん幹細胞は、その他のがん細胞と比して、著明な腫瘍形成能をもつ。血液系腫瘍とは異なり、上皮系悪性腫瘍では、がん幹細胞の本態はいまだ不明な点が多いが、いくつかの点について明らかになっている。がん幹細胞は正常幹細胞と類似した分子を発現している。また、がん幹細胞は、膜トランスポーター遺伝子群を高発現している。この膜トランスポーター遺伝子は、化学療法剤などの細胞毒の細胞外への汲み出しにかかわっており、がんの化学療法耐性に寄与している。これらの性質をもったがん幹細胞は、がんの遠隔転移や、がんの治療耐性といった、がん患者の予後に直接関与する形質をもっている。

以上のがん細胞の重要な形質を発揮する遺伝子群を分類すると、以下の7つのカテゴリーに分けられるだろう(表1)。次に、この分類について詳細に検討する。

1. 細胞増殖にかかわる遺伝子群
2. 成長抑制シグナルに対する不応答性にかかわる遺伝子群
3. 組織浸潤にかかわる遺伝子群
4. 血管新生にかかわる遺伝子群
5. アポトーシス耐性能にかかわる遺伝子群
6. 無限増殖能にかかわる遺伝子群
7. 幹細胞性にかかわる遺伝子群

## A. 細胞増殖にかかわる遺伝子群

腫瘍抗原分子として同定された細胞増殖にかかわる遺伝子群としては、がん遺伝子として報告されてきた受容体型チロシンキナーゼ群から、その下流の細胞周期にかかわるものまで多数ある。受容体型チロシンキナーゼ分子としてHER2, c-metなどが知られている。また、細胞周期にかかわる分子としては、G1/S期にかかわるサイクリンD1が、G2/M期にかかわる分子はサイクリンB1、

表1

カテゴリー	抗原遺伝子	HLA 拘束性	ペプチド	文献
A. 細胞増殖にかかわる遺伝子群	HER2/neu	A2	KIFGSLAFL	(6)
		A24	TYLPTNASL	(7)
	EGFR	A24	DYVREHKDNI	(9)
		A24	MFNANCEVVL	
		A24	NYDANKTGL	
	EphA3	DR11	DVTFNIICKKCG	(12)
	FGF5	A3	NTYASPRFK	(14)
	c-met	A2	YVDPVITSI	(11)
	cyclin D1	DR4	NPPSMVAAGSVVAAV	(15)
	cyclin B1	A2	AGYLMELCC	(16)
	Aurora-A	A2		
	CEP55	A24		
	Plk1			
	SART1	A26	KGSGKMKTE	(27)
	survivin	A2	ELTLGEFLKL	(17)
survivin-2B	A24	AYACNTSTL	(18)	
B. 成長抑制シグナルに対する不応性にかかわる遺伝子群	MDM2	A2	VLFYLGQYI	(29)
	Aurora-A	A2		
C. 組織浸潤能にかかわる遺伝子群	MMP2	A2	GLPPDVQRV	(31)
D. 血管新生にかかわる遺伝子群	VEGF-R1	A2	VLLWEIFSL	(32)
		A2	TLFWLLLTL	
		A2	NLTATLIVNV	
	VEGF-R2	A2	YMISYAGMV	(33)
		A2	VIAMFFWLL	
	RGS5	A2	LAALPHSCL	(34)
		A3	GLASFKSFLK	
	survivin	A2	ELTLGEFLKL	(17)
	survivin-2B	A24	AYACNTSTL	(18)
	E. アポトーシス耐性にかかわる遺伝子群	Bcl-2	A2	PLFDFSWLSL
BAX-delta		A2	YLQGMIAAV	(41)
Bcl-xL		A2	YLNDHLEPWI	(38)
Mcl-1		A1		(40)
survivin		A2	ELTLGEFLKL	(17)
survivin-2B		A24	AYACNTSTL	(18)
ML-IAP / Livin		A2	SLGSPVLGL	(42)
		A24	KWFPSCQFL	(43)
F. 無限増殖能にかかわる遺伝子群	telomerase	A2	ILAKFLHWL	(50)
G. 幹細胞性にかかわる遺伝子群	SOX2	A2	ALSPASSRSV	(56)
	SOX10	A2	AWISKPPGV	(58)

注: 抗原ペプチドは代表的なものに限る.

サイバピン, オーロラAキナーゼ, CEP55, Plk1キナーゼなどがある. がん細胞は正常細胞

と比べて細胞増殖が活発であることを考えると, 複数の細胞増殖にかかわる分子が腫瘍抗原分子と

して同定されていることは理にかなっていると考えられる。特に細胞周期にかかわる分子群の中でも、G2/M期関連分子は、細胞がG2期からM期に移行するために必要な遺伝子群である。この遺伝子群に含まれる腫瘍抗原分子は複数同定されている。正常組織と比して、がん組織において細胞分裂像を高い頻度で観察できることと整合性が合うものである。これらの遺伝子群は細胞分裂時に必須となる遺伝子群であり、複数の細胞分裂時に働く遺伝子が腫瘍抗原分子としてCTLに認識されることが明らかになっている。これらの遺伝子群は細胞分裂時に、紡錘糸もしくは、中心体に局在することが明らかとなっている。そもそも細胞分裂は、細胞周期の中では時間的に非常に短い間に起こるイベントである。紡錘糸や、中心体といった細胞分裂にかかわる細胞内器官は、細胞分裂時に細胞骨格が重合することにより現れるが、細胞分裂を終え不要になると、プロテアゾームにより迅速に分解され、劇的な変化を遂げる。このように、紡錘糸や中心体にはプロテアゾームが濃縮されていることが知られており、同部位に局在する腫瘍抗原分子も効率よくプロテアゾームに分解されやすく、それゆえにCTLの標的になりやすい可能性があると考えられる。

### 1. HER-2/neu

HER-2はEGFRファミリーに属する受容体型チロシンキナーゼで、Weinberg, Greeneらのグループがラットneuroblastomaからがん遺伝子の一つとして同定している。HER-2は乳がんや、卵巣がんなどの悪性腫瘍で高発現することが知られている。HER-2は抗体療法（ハーセプチン）の標的分子としても知られているが、CTLの標的分子としても複数の抗原ペプチドが同定されている<sup>6,7)</sup>。しかしながら、HER-2は全身の各臓器に低レベルではあるが発現が認められ、HER-2由来の抗原ペプチドに対する免疫寛容が誘導され

ているためか、HER-2抗原ペプチドは免疫原性が低い傾向にある。Koらのグループは、alpha-GalCerをパルスした樹状細胞や、抗GITR抗体、gemcitabineなどでHER-2に対する免疫反応の免疫寛容を解除することにより、強い免疫反応を惹起することに成功している<sup>8)</sup>。これらのことから、HER-2に対する免疫療法をデザインする場合、免疫寛容の問題をいかに克服するかが課題になると考えられる。

### 2. EGFR

EGFRもHER-2同様、受容体型チロシンキナーゼに属する分子で、様々な悪性腫瘍にて高発現することが知られている。ShomuraらのグループはHLA-A24拘束性EGFR由来抗原ペプチドの同定に成功している<sup>9)</sup>。

### 3. c-met

Weinschenkらのグループは、腎がん患者における理想的な仮想抗原ペプチドカクテルをデザインするために、マイクロアレイを用いた遺伝子レベルのスクリーニングと、マススペクトロメトリーを用いたタンパクレベルのスクリーニングを合わせて行うことにより複数の腫瘍抗原候補遺伝子を同定している。そのなかで、受容体型チロシンキナーゼの一つであるプロトオンコジーン、c-metを同定している<sup>10)</sup>。その後、同グループは、c-met由来HLA-A2拘束性抗原ペプチドがCTLを誘導できることを証明している<sup>11)</sup>。

### 4. EphA3

Chiariらのグループは、HLA-DR11拘束性に自己メラノーマ細胞株を認識するCD4(+)T細胞を用いてEphA3遺伝子をクローニングしている<sup>12)</sup>。EphA3は、受容体チロシンキナーゼに属する遺伝子で、主に中枢神経の分化にかかわる。がんにおけるEphA3遺伝子の機能は不明である

が, 近年, 様々ながん腫で*EphA3*の遺伝子変異が報告されており, 変異*EphA3*遺伝子が, がん化に関与する可能性が示唆される<sup>13)</sup>. 正常*EphA3*遺伝子は, 網膜をはじめとする多くの正常組織に発現しており, 免疫寛容が誘導されていることが予想される. しかしながら, *EphA3*を発現する正常組織はHLAクラスII遺伝子が発現せず, HLAクラスIIに*EphA3*抗原ペプチドが提示されることはない. Chiariらが用いた悪性黒色腫細胞株は, HLAクラスII遺伝子が発現しており, *EphA3*抗原ペプチドを提示することにより免疫原性をもつようになったと考えられる. これらのことから, *EphA3*は腫瘍全般的に発現する抗原分子であると結論づけることは難しいと思われる.

## 5. FGF5

FGF5は線維芽細胞株をトランスフォームする機能をもつがん遺伝子の一つとして知られており, 正常組織では脳や腎臓にて発現する. Hanadaらのグループは, 自己腎がん細胞株を認識するHLA-A3拘束性CTLを用いて, FGF5由来の抗原ペプチドを同定している<sup>14)</sup>. 驚くべきことにこの抗原ペプチドは, タンパクとして発現した後にタンパクプライシングにより生じていることが明らかになった. 正常組織とは異なったタンパクプライシングにより, がん組織特異的な抗原ペプチドが産生されることにより, 正常組織にも発現するFGF5由来の抗原ペプチドが免疫原性を持ち, CTLに認識されるようになったと考えられる.

## 6. サイクリンD1

サイクリンD1はCdk4, Cdk6と結合し, 細胞周期をS期に誘導する細胞周期関連タンパクである. Dengielらのグループは, マススペクトロメトリーを用いた解析にてサイクリンD1タンパク

に由来するHLA-DR4拘束性抗原ペプチドを同定している<sup>15)</sup>. 前述のWeinschenkらのグループによると, 腎がん組織よりマススペクトロメトリーにて, HLA-A2拘束性サイクリンD1由来ペプチドの存在を証明しているが, そのペプチドの免疫原性 (CTLの誘導能) までは評価されていない. これまでのところ, サイクリンD1由来抗原ペプチドを認識するCTLの存在は証明されていないが, マントル細胞リンパ腫など特定の悪性腫瘍においては, サイクリンD1の発現レベルは非常に高く免疫療法の標的となるかもしれない.

## 7. サイクリンB1

サイクリンB1はCdc2キナーゼと結合し, 細胞周期をM期に誘導するマスター分子である. 以下のG2/M期に発現する分子群を誘導するマスター分子である. KaoらのグループはHLA-A2陽性乳がん組織より, マススペクトロメトリーを用いた解析でサイクリンB1由来のペプチドを同定している<sup>16)</sup>. このペプチドは, サイクリンB1遺伝子がコードするアミノ酸配列とは異なり, 転写後の変異を起こしている可能性がある. また, 他の頭頸部がん患者末梢血リンパ球にて, 同ペプチドに対する免疫反応を検出することが可能であり, サイクリンB1の転写後変異は, 普遍的に悪性腫瘍で起こっているイベントかもしれない.

## 8. サバイビン

サバイビンは, アポトーシス抑制能をもつアポトーシス抑制タンパク (IAP) 遺伝子群の一つとして同定された. 正常組織においては, ごく微量の発現を認めるが, がん化した組織ではmRNAレベルでも, タンパクレベルでも高いレベルで発現する. サバイビンは, 高発現する抗原分子の中でも免疫原性が比較的高い遺伝子と考えられ, 細胞性免疫, 液性免疫両方の標的になることが明らかになっている<sup>17-19)</sup>. 我々は, サバイビンのス



プライシングバリエーション (サバイビン2B) にコードされる HLA-A24 拘束性抗原ペプチドを同定した。また、野生型サバイビンにコードされる HLA-A24 拘束性ペプチド (C peptide) も同定したが、サバイビン2Bペプチドの方が、Cペプチドと比して免疫原性が高い傾向にあった<sup>20)</sup> (未発表データ)。サバイビン2Bは mRNA レベルで、野生型サバイビンより数十倍発現が低い。このことから、正常組織における発現が高い野生型サバイビンにコードされる抗原ペプチドは免疫寛容に陥っている可能性がある反面、正常組織での発現がきわめて低いサバイビン2Bにコードされる抗原ペプチドは免疫原性が保たれている可能性がある。この場合、がん免疫療法の標的としてはサバイビン2Bの方が適切である可能性がある。実際に我々は、サバイビン2Bペプチド製剤を用いて、様々ながん種にて臨床治験を開始しているが、治療対象となったがん患者全体の約10パーセントにおいて、腫瘍退縮を認めており、比較的良好な結果を得ている<sup>21)</sup>。この結果から、サバイビン2Bペプチドは免疫寛容が誘導されておらず、免疫原性の高い抗原ペプチドであることを示唆するものである。

### 9. オーロラAキナーゼ

オーロラAキナーゼは有糸分裂時に異常な紡錘糸を形成する変異型酵母の原因遺伝子である Ipl1 キナーゼと高い相同性をもつ遺伝子として同定されている<sup>22)</sup>。オーロラAキナーゼはG2/M期に高発現し、中心体に局在するセリン、スレオニンキナーゼである。オーロラAキナーゼを高発現させた NIH3T3 細胞はトランスフォームすることが明らかとなっており、がん遺伝子の一つとも考えられている。ヒト腫瘍組織においても、オーロラAキナーゼは複数のがん腫で高発現し、その発現と悪い予後が相関することが知られている。また、オーロラAキナーゼは、p53がん抑制遺伝子

をリン酸化することにより、MDM2によるp53分解を促進することが知られている<sup>23)</sup>。これらのことからオーロラAキナーゼも免疫療法のよい標的となりうると考えられる。

つい最近、愛媛大学、安川らのグループは、ヒトオーロラAキナーゼ由来のHLA-A2拘束性抗原ペプチドの同定に成功している。また、我々はマウスオーロラAキナーゼ遺伝子を用いたDNAワクチンにて抗腫瘍効果を確認しており、*in vivo*にてもオーロラAキナーゼは拒絶抗原分子になりうると考えられる。

### 10. CEP55/c10orf3

CEP55/c10orf3は中心体に局在する分子として同定された分子である<sup>24)</sup>。CEP55/c10orf3は細胞周期分裂期のプロメタフェイス～アナフェイスにかけて中心体に存在するが、cdc2キナーゼにリン酸化され中心体を離脱し、Plk1キナーゼにリン酸化されミッドボディに局在することが知られている。siRNAを用いた実験により細胞分裂に必須の分子であることが証明されている。また、sakaiらのグループはマイクロアレイを用いたスクリーニングで、大腸がんを高発現する遺伝子としてCEP55/c10orf3を同定している<sup>25)</sup>。

我々も、マイクロアレイを用いたスクリーニングで乳がんにおいて高発現する分子としてCEP55/c10orf3を同定している (未発表データ)。また、HLA-A24拘束性CEP55/c10orf3由来の抗原ペプチドの同定に成功している。半数以上のHLA-A24陽性がん患者にてこの抗原ペプチドを認識するCTLを検出することが可能であり、免疫原性が非常に高い分子であることが示唆される。さらに我々は、CEP55/c10orf3抗原ペプチドを用いた臨床試験を計画している。

### 11. Plk1キナーゼ

Plk1キナーゼは、ショウジョウバエの細胞分

裂にかかわる分子である polo と相同性を示す分子として同定されている。Plk1 キナーゼは細胞分裂に必須のセリン, スレオニンキナーゼの一つで, がん組織で高発現する点で上記オーロラ A キナーゼと類似する分子である<sup>26)</sup>。

我々は, マウス Plk1 キナーゼ遺伝子を用いて, DNA ワクチン実験を行った結果, Plk1 キナーゼが, 腫瘍拒絶抗原となりうることを確認した (未発表データ)。このことから Plk1 キナーゼもオー

ロラ A キナーゼ同様, 免疫療法の標的分子となりうることを示唆するものである。

### 12. SART-1

SART-1 は HLA-A26 拘束性 CTL が認識する食道がん抗原分子として同定された分子である<sup>27)</sup>。SART-1 はスプライソソームに局在し, スプライシングにかかわる分子であるが, Kittler らのグループが siRNA を用いて網羅的に細胞分裂にか

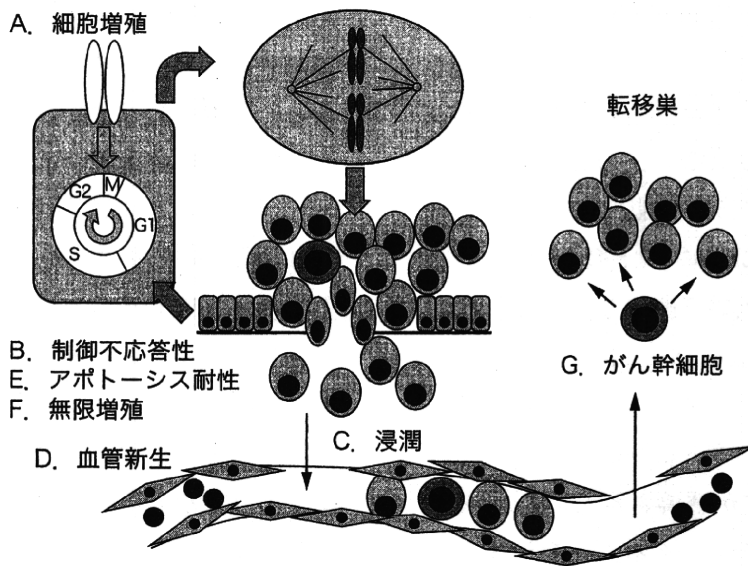


図1 発がん, 浸潤, 転移にかかわる遺伝子群

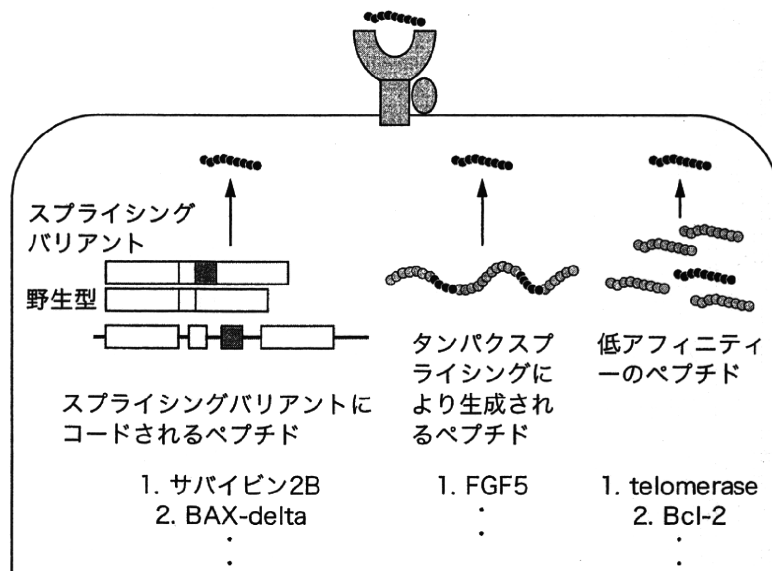


図2 過剰発現抗原ペプチドが免疫原性を獲得するさまざまな機構

かわる遺伝子をスクリーニングした結果, SART-1を同定している<sup>28)</sup>. このことは, SART-1も細胞分裂に必須の分子であることを示唆するものである(図1, 2).

## B. 成長抑制シグナルに対する不応答性を司る遺伝子群

正常細胞においては, 変異を生じた細胞が異常増殖しないために, 様々なチェックポイント機構が働いている. G1/S チェックポイント, G2/M チェックポイント, スピンドルチェックポイントなどである. がん細胞においては, これらのチェックポイント機構を解除するような遺伝子が発現していることが知られている. 正常p53遺伝子を抑制するMDM2, やオーロラAキナーゼ, 他にはウイルス由来のHPV E6, HPV E7などである. これらの遺伝子群もまた, 腫瘍抗原分子としてもCTLに認識されることが知られている.

### 1. MDM2

Asaiらのグループは腫瘍細胞の細胞溶解液をHLA-A2陽性健常者由来の樹状細胞に取り込ませたあと, この樹状細胞を抗原提示細胞としてCTLを誘導している. このCTLの認識する抗原ペプチドとしてMDM2由来の抗原ペプチドを同定している<sup>29)</sup>.

## C. 組織浸潤にかかわる遺伝子群

がん細胞の重要な形質である組織浸潤能を司る遺伝子群である. 細胞外マトリックスを分解するタンパク分解酵素遺伝子群としてマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)遺伝子群が知られている. MMPは, 23個のファミリーからなる遺伝子群で, その中でも, MMP-2とMMP-9が腫瘍細胞での発現が高く, 腫瘍の浸潤・転移にかかわっ

ていると考えられている. また, その他のMMPファミリーも腫瘍細胞で高発現するという報告がなされており, CTLの標的分子になりうる可能性を秘めていると考えられる. 一方で, MMP-3やMMP-8など特定のMMP分子は, 逆に腫瘍の浸潤を抑制することにより, 腫瘍進展からホストを守っているという報告もあり<sup>30)</sup>, 一概にMMPファミリー分子がCTLの標的分子として適しているかどうかは結論づけられない. しかしながら, MMPファミリーは, がんの浸潤・転移というがん患者の予後を直接左右する現象にかかわる遺伝子群であり, 免疫療法の標的分子として魅力的であることに変わりはないと思われる. 今後の詳細な検討が望まれる.

### 1. MMP2

GodefroyらのグループはMMP2がHLA-A2拘束性にCTLの標的分子となることを明らかにしている<sup>31)</sup>. MMP2タンパクが $\alpha\beta3$ 依存性に, 悪性黒色腫細胞に取り込まれクロスプレゼンテーションされることによりCTLに認識される. 本来なら全身臓器に発現するMMP2を認識するCTLは免疫寛容が誘導されていることが予想されるが, Godefroyらによって同定された抗原ペプチドは,  $\alpha\beta3$ 陽性細胞にクロスプレゼンテーションされることによりはじめてCTLに認識される. 全身に発現する自己抗原分子でありながら, CTLが正常組織にも発現する腫瘍分子腫瘍特異的に反応する機序が明快に解明された貴重な報告である.

## D. 血管新生にかかわる遺伝子群

がんは, 一定以上の大きさに増殖するためには, 血管新生を伴う必要がある. 多くの腫瘍細胞は新生血管を誘導するサイトカインである, VEGFを分泌し, 血管新生をうながす. VEGFレセプター

である VEGFR1, VEGFR2 由来の抗原ペプチドが同定されている。また腫瘍血管にて発現する RGS5 も腫瘍抗原分子として同定されており, VEGF レセプター同様, 腫瘍血管を標的とする免疫療法の標的となりうる。

### 1. VEGFR1

Ishizaki らのグループは HLA-A2/Kb トランスジェニックマウスを用いて VEGF-R1 にコードされる HLA-A2 拘束性抗原ペプチドを同定している<sup>32)</sup>。VEGF-R1 抗原ペプチドにて免疫された担がんマウスでは, 血管新生が抑制されており, 腫瘍増大を抑制することができた。このことから, 抗血管新生治療として, VEGF-R1 ペプチドは有用である可能性が示唆される。

### 2. VEGFR2

Wada らも, HLA-A2/Kb トランスジェニックマウスを用いて HLA-A2 拘束性 VEGF-R2 抗原ペプチドを同定している<sup>33)</sup>。

### 3. RGS5

上記 Weinschenk らのグループは腎がん組織から RGS5 由来の抗原ペプチドも同定しているが, Cristina らは, 同ペプチドを用いてその免疫原性を確認している<sup>34)</sup>。興味深いことに RGS5 はがん細胞に過剰発現すると同時に, 腎がん組織の血管内皮細胞にも発現していることが確認されており<sup>35)</sup>, RGS5 を標的とする免疫療法は, がん細胞自身と, がん細胞を栄養する腫瘍血管を認識できる可能性を示唆するものである。

### 4. サバイビン

増殖刺激を受けた血管内皮細胞は異所性にサバイビンを発現することが知られている<sup>36)</sup>。腫瘍新生血管にてもサバイビンが発現しており, サバイビンは新生血管の標的分子としても機能する可

能性がある。このことから, サバイビンに対する免疫療法は, がん細胞のみならず, 腫瘍血管を標的とすることができると考えられる。

## E. アポトーシス耐性能にかかわる遺伝子群

正常細胞は, 臓器内においての規律を保つためのアポトーシス経路をもっている。変異を起こし, 臓器内規律から外れた細胞はアポトーシスにより自己死を引き起こし個体としてのホメオスタシスを保っている。しかしながら, がん細胞は, 増殖の制御から外れており, アポトーシス耐性になっている。アポトーシス耐性を獲得するために様々な抗アポトーシス遺伝子群が高発現することが知られている。そのなかでも, Bcl-2, Bcl-xL, サバイビン, ML-IAP/Livin などが知られている。

### 1. Bcl-2

Bcl-2 は Burkitt リンパ腫または濾胞リンパ腫で見られる染色体転座  $t(8;14)t(14;18)$  から同定された遺伝子で, 多くの悪性腫瘍で過剰発現することが知られている。近年では, Bcl-2 は分子標的治療薬の標的として, アンチセンスオリゴや, Bcl-2 インヒビターは製薬化に向けた臨床試験中である。免疫療法の標的分子としても興味深い分子である。Andersen らのグループは Bcl-2 が CTL の標的になることを証明している<sup>37)</sup>。Andersen らは, Bcl-2 由来の HLA-A2 拘束性抗原ペプチドを複数デザインしている。がん患者末梢血を用いて免疫学的な検討を行った結果, 中アフィニティー～低アフィニティーペプチドで免疫反応を検出できたが, 高アフィニティー抗原ペプチドではがん患者血液における免疫反応を検出できなかった。Bcl-2 は正常リンパ節や胸腺などでも発現がみられ, 高アフィニティーペプチドは免疫寛容になっている可能性が示唆される。