

2. Bcl-xL

Andersenらのグループは抗アポトーシス分子の一つであるBcl-XLもまたCTLの標的となりうることを証明している³⁸⁾。

3. Mcl-1

やはりAndersenらのグループが抗アポトーシス活性をもつMcl-1由来のHLA-A1拘束性抗原ペプチドの同定に成功している³⁹⁾。Mcl-1はまた、血液系幹細胞に発現し、血液幹細胞がアポトーシス死による枯渇から守っていることが示されている⁴⁰⁾。これらのことから、Mcl-1は血液系腫瘍の幹細胞を標的とした免疫療法をデザインできる可能性がある。

4. BAX-delta

BAXはプロアポトティックタンパクの一つで、Bcl-2と結合することにより、細胞のアポトーシスを促進する分子である。BAXにはいくつかスプライシングバリエーションが知られているが、エクソン3を欠失することによりデスドメインを欠くバリエーションとしてBAX-deltaが知られている。その詳細な機能は不明であるが、デスドメインを有する野生型BAXと結合することにより、BAXのアポトーシス誘導能を抑制することにより、アポトーシス抑制能を有する可能性が示唆されている。

Maia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、B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) に高発現する遺伝子の一つとしてBAX-deltaを同定している⁴¹⁾。BAX-deltaのエクソン2とエクソン4結合部位にコードされるHLA-A2拘束性抗原ペプチドの同定に成功している。BAX-deltaはエクソン3を欠くため、エクソン2、エクソン4結合部位のアミノ酸配列はBAX-delta特異的であると考えられる。野生型BAXがプロアポトティック機能を有し、正常組

織で発現がみられるのに対し、BAX-deltaは腫瘍特異的な発現様式を示し、免疫原性を獲得したと考えられる。

5. ML-IAP/Livin

ML-IAP/Livinは悪性黒色腫に高発現するIAPファミリー遺伝子melanoma-IAP (ML-IAP) として同定されたアポトーシス抑制分子である。ML-IAP/Livinは悪性黒色腫で、非常に免疫原性の高い抗原分子として同定されている⁴²⁾。また最近、ML-IAP/Livinは悪性黒色腫のみならず、様々な悪性腫瘍で高発現することが知られており、悪性黒色腫以外の悪性腫瘍でも免疫療法の標的分子となりうることも示されている。我々は、肺癌組織にてML-IAP/Livinが高発現することを見出した⁴³⁾。また、ML-IAP/Livinは非常に免疫原性の高い分子であり、高頻度に肺癌患者にて細胞性、液性免疫を確認することができる⁴⁴⁾。また、上記MariaらのグループはB-ALLにおいてもML-IAP/Livinが高発現することも見出している。これらのことから、ML-IAP/Livinは様々な悪性腫瘍に発現し、しかも、免疫原性が強く、免疫療法の標的分子として理想的な分子の一つといえる。

6. サバイビン

サバイビンは、上記の通り抗アポトーシス能をもつ分子で、悪性腫瘍に対する化学療法や、放射線療法に対する耐性獲得の原因遺伝子の一つと考えられている⁴⁵⁾。化学療法や、放射線療法が功を奏さない症例でも免疫療法の標的として期待できる分子である。

7. HSP105

Nakatsuraらのグループは膀胱がん患者の血清を用いて、液性免疫が認識する抗原分子としてHSP105を同定している⁴⁶⁾。後に同グループは、

HSP105のDNAワクチンを用いて, HSP105がCD4およびCD8 T細胞依存性に, 抗腫瘍効果を有する腫瘍抗原であることを証明している⁴⁷⁾. 興味深いことに, HSP105をsiRNAでノックダウンすると, 様々ながん種細胞株でアポトーシスを誘導し, HSP105はアポトーシス耐性能を有する分子であることが示唆されるが, その詳細はいまだ不明であり, 今後の解析が期待される⁴⁸⁾.

F. 無限増殖能にかかわる遺伝子

正常細胞は, 分裂するたびにテロメアが短くなり, テロメアが一定の長さまで短くなると染色体不安定性を引き起こすことにより, 細胞が分裂できなくなる. しかしながらがん細胞においては, テロメアを伸張する機構が働いており, テロメア長を保っている. テロメラーゼは正常組織においては, 胸腺, 精巣, 骨髄などの限られた臓器にのみ発現するが, がん組織においては, 高頻度に高発現することが明らかになっている⁴⁹⁾.

テロメラーゼ

Vonderheideらのグループは, テロメラーゼ由来のHLA-A2拘束性抗原ペプチドにより, 様々ながん腫を認識することができるCTLを誘導することができることを証明している⁵⁰⁾. ほぼ全てのがん細胞はテロメラーゼを高発現することが明らかになっており, 魅力的な標的分子と考えられる. しかしながら, テロメラーゼは上記の通り正常組織にも発現する遺伝子であり, 免疫寛容が引き起こされている可能性がある. Grossらのグループは, HLA分子に高~低結合力を示すテロメラーゼ由来のHLA-A2拘束性ペプチドを複数デザインしてCTL誘導実験を行った結果, HLA-A2分子に高結合力で結合する抗原ペプチドを認識するCTLは免疫寛容に陥っており, 逆に, 低結合力を示す抗原ペプチドの方において免疫原

性が高かったことを示している⁵¹⁾. テロメラーゼは胸腺にも発現する分子であり, 高結合力でHLA-A2分子に結合する抗原ペプチドを認識するCTLは胸腺で除去されていた可能性を示唆するものである. このような免疫寛容の問題を乗り越えることができるならば, 非常に魅力的な標的分子の一つである.

G. 幹細胞性にかかわる遺伝子群

がん幹細胞を同定するマーカーとなる遺伝子群はいくつか知られている⁵⁾. しかしながら現時点において絶対的なものはいまだ報告されていない. 現在がん幹細胞を分離する方法として, セルソーターを用いてside population (SP) として分離する方法が知られている⁵²⁾. これは, がん幹細胞は膜トランスポーター分子を高発現しており, ヘキスト33342という色素を細胞外に汲み出す能力が高く, 染色され難いことを利用するものである. 我々は, SPを用いて肺がん幹細胞の候補抗原分子としてSOXファミリー遺伝子群を同定したが, SOXファミリー遺伝子群は中枢神経系腫瘍や, 悪性黒色腫などでは免疫原性も確認されており, がん幹細胞標的分子となりうる可能性を示唆するものである.

1. SOX2

SOX遺伝子ファミリーはHMBドメインをもつDNA結合分子である. その中でもSOX1, SOX2, SOX3は神経幹細胞の有する自己複製能に必須な遺伝子として知られている⁵³⁾. また, Takahashiらのグループは線維芽細胞にc-Myc, Oct-3/4, SOX2, Klf4というたった4つの遺伝子を導入することにより人工的ES細胞の作製に成功している⁵⁴⁾. このことは, SOX2遺伝子が, 幹細胞性の形質発現に重要な役割を果たしていることを示唆する.

一方で、これらのSOXファミリー遺伝子群はSEREX法により、小細胞肺癌症例で、抗体により認識される腫瘍抗原分子としても同定されている⁵⁵⁾。小細胞肺癌は神経内分泌系の性格をもった悪性腫瘍であり、神経幹細胞に発現するSOX遺伝子ファミリーが、神経系への分化にかかわっている可能性が示唆される。また、SOX2にコードされるHLA-A2拘束性抗原ペプチドも同定されており、神経系悪性腫瘍もしくは、神経内分泌系の性格をもつ悪性腫瘍の標的となりえると考えられる⁵⁶⁾。さらに、SOX2は良性単クローン性γグロブリン血症の患者において、抗SOX2の液性および、細胞性免疫が確認されている⁵⁷⁾。このことはSOX2タンパクが非常に免疫原性を示すことが示唆される。これらのことから、中枢神経系悪性腫瘍や、肺がんのがん幹細胞を標的とした免疫療法を考える場合、SOX2はその標的となりえると考えられる。

2. SOX10

SOX10は神経性難聴、色素沈着低下、神経節細胞欠損性巨大結腸症の症状を示すタイプ4のWaardenburg症候群の原因遺伝子として知られている。Khongらのグループは、免疫療法に著効を示した悪性黒色腫患者のHLA-A2拘束性腫瘍浸潤リンパ球を用いて、その認識する抗原分子としてSOX10を同定している⁵⁸⁾。SOX10はまた、TRP2や悪性黒色腫発生のマスター遺伝子と考えられているmicrophthalmia-associated transcription factorの転写、発現を制御しており、悪性黒色腫の発生に重要な役割を果たしていると考えられる。これらのことから、SOX10は悪性黒色腫のがん幹細胞の標的分子となりうる可能性がある。

むすび

これまで述べてきたとおり、腫瘍抗原分子とし

て同定された遺伝子群のかなりの数の遺伝子が、細胞の腫瘍化にとっても重要な働きをもっている。腫瘍抗原分子は、正常細胞に比べて、がん細胞で高発現する分子群であることを考えると非常に理にかなっている。以上に述べてきた腫瘍抗原分子の機能的側面は、がんの生物学的側面を理解するうえで有用であるばかりでなく、免疫療法と他の治療法を併用する場合に有用になると考えられる。

たとえば、免疫療法と、化学療法もしくは放射線療法の併用を考えるとする。トポイソメラーゼI拮抗剤や、代謝拮抗剤、放射線療法は、がん細胞をG1期で停止することが知られている。ならば、G1期で停止したがん細胞は、細胞周期にかかわる抗原分子群で、G1/S期に高発現する分子を高発現すると考えられるので、G1/S期抗原分子での免疫療法を併用するとより効果的になると考えられる。G2/M期で細胞を停止させるトポイソメラーゼII拮抗剤や、ビンカアルカロイド製剤、タキサン系製剤と、G2/M期に発現する抗原分子を用いた免疫療法も同様に有効と考えられる。実際、我々は、がん細胞をタキソールやVP-16で処理するとG2/M期抗原分子群(サバイビン、オーロラAキナーゼ、CEP55/c10orf3)の発現が上昇することを確認している。また、逆に負の効果もあり得る。たとえば、サバイビンは、HER-2やEGFRの下流に位置することが知られている^{59,60)}。とすると、HER-2やEGFRを標的とした(ハーセプチン、ゲフィニチブ)分子標的治療を行うと、がん細胞のサバイビンの発現が低下し、サバイビンを用いた免疫療法はハーセプチンやゲフィニチブとの併用に向かないと考えられる。このように、腫瘍抗原分子を機能的側面にて理解することは、がん治療の臨床の場に直接利益をもたらすものとする。

化学療法や、放射線療法、あるいは分子標的治療も含めて、既存のがんの治療法は、その副作用

は無視できない。残念ながらこれら苦痛をもたらす治療は、たとえ生物学的に腫瘍の退縮をもたらすことが可能であっても、患者にとってはその苦痛ゆえに、精神的には患者を病気から治癒させているとは考え難い側面もある。抗原分子の機能をとらえつつ合理的な免疫療法をデザインし、これまで進歩を遂げてきた化学療法や、放射線療法といった既存のがん治療法との接点を探ることにより、免疫療法は新たにスタンダードながんの治療法として確立されると考えられる。

<追伸>

当教室では上記のように、がん免疫療法を化学療法、放射線療法といった既存の治療法と比肩するようながんの標準的な治療法として確立するための基礎的な研究を進めている。がんの免疫療法に関して御興味をもたれた方がおられたら、是非お気軽に御連絡頂きたい。hirohash@sapmed.ac.jp

文献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science*. 1991; 254: 1643-7.
- 2) Van den Eynde BJ, van der Bruggen P. T cell defined tumor antigens. *Curr Opin Immunol*. 1997; 9: 684-93.
- 3) http://www.cancerimmunity.org/peptide_database/Tcellepitopes.htm
- 4) Hanahan D, and Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell*. 2000; 100: 57-70.
- 5) Jordan CT, Guzman ML, Noble M. Cancer stem cells. *N Engl J Med*. 2006; 355: 1253-61.
- 6) Fisk B, Blevins TL, Wharton JT, et al. Identification of an immunodominant peptide of HER-2/neu protooncogene recognized by ovarian tumor-specific cytotoxic T lymphocyte lines. *J Exp Med*. 1995; 181: 2109-17.
- 7) Okugawa T, Ikuta Y, Takahashi Y, et al. Novel human HER2-derived peptide homologous to the mouse K(d)-restricted tumor rejection antigen can induce HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocytes in ovarian cancer patients and healthy individuals. *Eur J Immunol*. 2000; 30: 3338-46.
- 8) Ko HJ, Kim YJ, Kim YS, et al. A combination of chemoimmunotherapies can efficiently break self-tolerance and induce antitumor immunity in a tolerogenic murine tumor model. *Cancer Res*. 2007; 67: 7477-86.
- 9) Shomura H, Shichijo S, Komatsu N, et al. Identification of epidermal growth factor receptor-derived peptides recognised by both cellular and humoral immune responses in HLA-A24+ non-small cell lung cancer patients. *Eur J Cancer*. 2004; 40: 1776-86.
- 10) Weinschenk T, Gouttefangeas C, Schirle M, et al. Integrated functional genomics approach for the design of patient-individual antitumor vaccines. *Cancer Res*. 2002; 62: 5818-27.
- 11) Schag K, Schmidt SM, Muller MR, et al. Identification of C-met oncogene as a broadly expressed tumor-associated antigen recognized by cytotoxic T-lymphocytes. *Clin Cancer Res*. 2004; 10: 3658-66.
- 12) Chiari R, Hames G, Stroobant V, et al. Identification of a tumor-specific shared antigen derived from an Eph receptor and presented to CD4 T cells on HLA class II molecules. *Cancer Res*. 2000; 60: 4855-63.
- 13) Balakrishnan A, Bleeker FE, Lamba S, et al. A novel somatic and germline mutations in cancer candidate genes in glioblastoma, melanoma, and pancreatic carcinoma. *Cancer Res*. 2007; 67: 3545-50.
- 14) Hanada K, Yewdell JW, Yang JC. Immune recognition of a human renal cancer antigen through post-translational protein splicing. *Nature*. 2004; 427: 252-6.
- 15) Dengjel J, Decker P, Schoor O, et al. Identification of a naturally processed cyclin D1 T-helper epitope by a novel combination of HLA class II targeting and differential mass spectrometry. *Eur J Immunol*. 2004; 34: 3644-51.
- 16) Kao H, Marto JA, Hoffmann TK, et al. Identification of cyclin B1 as a shared human epithelial tumor-associated antigen recognized by T cells. *J Exp Med*. 2001; 194: 1313-23.
- 17) Andersen MH, Pedersen LO, Becker JC, et al. Identification of a cytotoxic T lymphocyte response to the apoptosis inhibitor protein

- survivin in cancer patients. *Cancer Res.* 2001; 61: 869-72.
- 18) Hirohashi Y, Torigoe T, Maeda A, et al. An HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope of a tumor-associated protein, survivin. *Clin Cancer Res.* 2002; 8: 1731-9.
 - 19) Rohayem J, Diestelkoetter P, Weigle B, et al. Antibody response to the tumor-associated inhibitor of apoptosis protein survivin in cancer patients. *Cancer Res.* 2000; 60: 1815-7.
 - 20) Idenoue S, Hirohashi Y, Torigoe T, et al. A potent immunogenic general cancer vaccine that targets survivin, an inhibitor of apoptosis proteins. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 1474-82.
 - 21) Tsuruma T, Hata F, Torigoe T, et al. Phase I clinical study of anti-apoptosis protein, survivin-derived peptide vaccine therapy for patients with advanced or recurrent colorectal cancer. *J Transl Med.* 2004; 2: 19.
 - 22) Marumoto T, Zhang D, Saya H. Aurora-A - a guardian of poles. *Nat Rev Cancer.* 2005; 5: 42-50.
 - 23) Katayama H, Sasai K, Kawai H, et al. Phosphorylation by aurora kinase A induces Mdm2-mediated destabilization and inhibition of p53. *Nat Genet.* 2004; 36: 55-62.
 - 24) Fabbro M, Zhou BB, Takahashi M, et al. Cdk1/Erk2- and Plk1-dependent phosphorylation of a centrosome protein, Cep55, is required for its recruitment to midbody and cytokinesis. *Dev Cell.* 2005; 9: 477-88.
 - 25) Sakai M, Shimokawa T, Kobayashi T, et al. Elevated expression of C10orf3 (chromosome 10 open reading frame 3) is involved in the growth of human colon tumor. *Oncogene.* 2006; 25: 480-6.
 - 26) Strebhardt K, Ullrich A. Targeting polo-like kinase I for cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2006; 6: 321-30.
 - 27) Shichijo S, Nakao M, Imai Y, et al. A gene encoding antigenic peptides of human squamous cell carcinoma recognized by cytotoxic T lymphocytes. *J Exp Med.* 1998; 187: 277-88.
 - 28) Kittler R, Putz G, Pelletier L, et al. An endoribonuclease-prepared siRNA screen in human cells identifies genes essential for cell division. *Nature.* 2004; 432: 1036-40.
 - 29) Asai T, Storkus WJ, Mueller-Berghaus J, et al. In vitro generated cytolytic T lymphocytes reactive against head and neck cancer recognize multiple epitopes presented by HLA-A2, including peptides derived from the p53 and MDM-2 proteins. *Cancer Immun.* 2002; 2: 3.
 - 30) Martin MD, Matrisian LM. The other side of MMPs: Protective roles in tumor progression. *Cancer Metastasis Rev.* 2007; Aug: 24.
 - 31) Godefroy E, Moreau-Aubry A, Diez E, et al. alpha v beta3-dependent cross-presentation of matrix metalloproteinase-2 by melanoma cells gives rise to a new tumor antigen. *J Exp Med.* 2005; 202: 61-72.
 - 32) Ishizaki H, Tsunoda T, Wada S, et al. Inhibition of tumor growth with antiangiogenic cancer vaccine using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 1. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 5841-9.
 - 33) Wada S, Tsunoda T, Baba T, et al. Rationale for antiangiogenic cancer therapy with vaccination using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 2. *Cancer Res.* 2005; 65: 4939-46.
 - 34) Boss CN, Grunebach F, Brauer K, et al. Identification and characterization of T-cell epitopes deduced from RGS5, a novel broadly expressed tumor antigen. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 3347-55.
 - 35) Furuya M, Nishiyama M, Kimura S, et al. Expression of regulator of G protein signalling protein 5 (RGS5) in the tumour vasculature of human renal cell carcinoma. *J Pathol.* 2004; 203: 551-8.
 - 36) O'Connor DS, Schechner JS, Adida C, et al. Control of apoptosis during angiogenesis by survivin expression in endothelial cells. *Am J Pathol.* 2000; 156: 393-8.
 - 37) Andersen MH, Svane IM, Kvistborg P, et al. Immunogenicity of Bcl-2 in patients with cancer. *Blood.* 2005; 105: 728-34.
 - 38) Andersen MH, Reker S, Kvistborg P, et al. Spontaneous immunity against Bcl-xL in cancer patients. *J Immunol.* 2005; 175: 2709-14.
 - 39) Andersen MH, Becker JC, Thor Straten P. The antiapoptotic member of the Bcl-2 family Mcl-1 is a CTL target in cancer patients. *Leukemia.*

- 2005; 19: 484-5.
- 40) Opferman JT, Iwasaki H, Ong CC, et al. Obligate role of anti-apoptotic MCL-1 in the survival of hematopoietic stem cells. *Science*. 2005; 307: 1101-4.
- 41) Maia S, Haining WN, Ansen S, et al. Gene expression profiling identifies BAX-delta as a novel tumor antigen in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res*. 2005; 65: 10050-8.
- 42) Schmollinger JC, Vonderheide RH, Hoar KM, et al. Melanoma inhibitor of apoptosis protein (ML-IAP) is a target for immune-mediated tumor destruction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100: 3398-403.
- 43) Hariu H, Hirohashi Y, Torigoe T, et al. Aberrant expression and potency as a cancer immunotherapy target of inhibitor of apoptosis protein family, Livin/ML-IAP in lung cancer. *Clin Cancer Res*. 2005; 11: 1000-9.
- 44) Yagihashi A, Asanuma K, Kobayashi D, et al. Detection of autoantibodies to livin and survivin in Sera from lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2005; 48: 217-21.
- 45) Li F, Ling X. Survivin study: an update of "what is the next wave"? *J Cell Physiol*. 2006; 208: 476-86.
- 46) Nakatsura T, Senju S, Yamada K, et al. Gene cloning of immunogenic antigens overexpressed in pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001; 281: 936-44.
- 47) Miyazaki M, Nakatsura T, Yokomine K, et al. DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4 T cells and CD8 T cells. *Cancer Sci*. 2005; 96: 695-705.
- 48) Hosaka S, Nakatsura T, Tsukamoto H, et al. Synthetic small interfering RNA targeting heat shock protein 105 induces apoptosis of various cancer cells both in vitro and in vivo. *Cancer Sci*. 2006; 97: 623-32.
- 49) Stewart SA, Weinberg RA. Telomeres: cancer to human aging. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2006; 22: 531-57.
- 50) Vonderheide RH, Hahn WC, Schultze JL, et al. The telomerase catalytic subunit is a widely expressed tumor-associated antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. *Immunity*. 1999; 10: 673-9.
- 51) Gross DA, Graff-Dubois S, Opolon P, et al. High vaccination efficiency of low-affinity epitopes in antitumor immunotherapy. *J Clin Invest*. 2004; 113: 425-33.
- 52) Kondo T, Setoguchi T, Taga T. Persistence of a small subpopulation of cancer stem-like cells in the C6 glioma cell line. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101: 781-6.
- 53) Bylund M, Andersson E, Novitsch BG, et al. Vertebrate neurogenesis is counteracted by Sox1-3 activity. *Nat Neurosci*. 2003; 6: 1162-8.
- 54) Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*. 2006; 126: 663-76.
- 55) Gure AO, Stockert E, Scanlan MJ, et al. Serological identification of embryonic neural proteins as highly immunogenic tumor antigens in small cell lung cancer. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 4198-203.
- 56) Schmitz M, Temme A, Senner V, et al. Identification of SOX2 as a novel glioma-associated antigen and potential target for T cell-based immunotherapy. *Br J Cancer*. 2007; 96: 1293-301.
- 57) Spisek R, Kukreja A, Chen LC, et al. Frequent and specific immunity to the embryonal stem cell-associated antigen SOX2 in patients with monoclonal gammopathy. *J Exp Med*. 2007; 204: 831-40.
- 58) Khong HT, Rosenberg SA. The Waardenburg syndrome type 4 gene, SOX10, is a novel tumor-associated antigen identified in a patient with a dramatic response to immunotherapy. *Cancer Res*. 2002; 62: 3020-3.
- 59) Asanuma H, Torigoe T, Kamiguchi K, et al. Survivin expression is regulated by coexpression of human epidermal growth factor receptor 2 and epidermal growth factor receptor via phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway in breast cancer cells. *Cancer Res*. 2005; 65: 11018-25.
- 60) Wang Q, Greene MI. EGFR enhances Survivin expression through the phosphoinositide 3(Pi-3) kinase signaling pathway. *Exp Mol Pathol*. 2005; 79: 100-7.

1. 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

札幌医科大学第1病理学 中津川宗秀
同 准教授 鳥越 俊彦

key words epigenetics, immune escape, DNA methylation, histone deacetylation, HDAC inhibitor

動 向

これまでさまざまながん抗原が同定され、それらを標的とした能動的免疫療法の臨床試験が盛んに行われているが、現在のところ顕著な臨床効果が認められた症例は限られている。免疫療法不応性の原因は一様ではないが、主因の一つにがんの免疫逃避があげられる。これまで、遺伝子の変異や欠失による免疫逃避機序はよく研究されてきたが、近年、エピジェネティクスとがんについて解析が進み、遺伝子変異を伴わない免疫逃避機序が徐々に明らかになりつつある。本稿では、現在までに報告されているエピジェネティックな免疫逃避のメカニズムについて、我々の研究を含めて概説する。

A. 免疫細胞のがん細胞障害経路と免疫逃避

がんに対する免疫監視機構において主要なエフェクター細胞は、T細胞とNK細胞である。T細胞とNK細胞はいずれもがん細胞表面に発現している標的抗原を認識して活性化するが、T細胞はTCRを介してがん細胞表面のMHC class I, class II分子に提示された抗原ペプチドを認識す

るのに対し、NK細胞は、NKG2DのようなNK活性化受容体分子を介して、がん細胞表面のNK標的分子〔たとえばMHC class I related chain A, B (MICA, MICB)〕を認識する。標的細胞を障害する機序はよく似ており、T細胞、NK細胞ともにパーフォリンや細胞障害性顆粒を放出し、細胞膜に穴を開け、グランザイムのような蛋白分解酵素の活性によって細胞にアポトーシスを誘導したり、また細胞表面にFas-LやTRAILを発現し、標的細胞のDeath受容体を活性化させてアポトーシスを引き起こす(図1)。

それに対してがん細胞は、これら免疫細胞の標的となる抗原分子やアポトーシスにかかわるさまざまな遺伝子の発現を抑制したり、cFLIP, SPI-6, IAPs, BCL-2などのアポトーシス抑制分子を過剰に発現することによって、免疫監視機構から逃避している。

B. エピジェネティクスによる遺伝子発現制御

遺伝子発現抑制をもたらすエピジェネティクスな変化として代表的なものは、DNAメチル化とヒストン脱アセチル化である。遺伝子プロモー

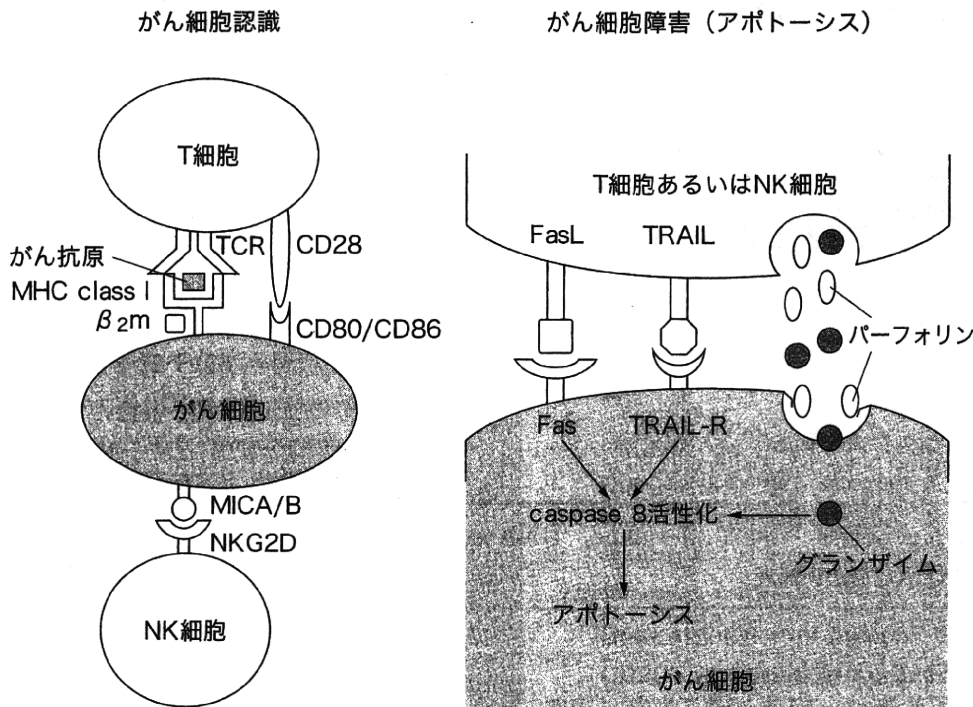


図1 がん細胞認識・障害経路

ター領域に CpG アイランドとよばれるシトシン-グアニン配列 (CpG 配列) の豊富な DNA 配列が存在していると、そのシトシンが DNA メチル化酵素 DNA methyltransferase (DNMT) によってメチル化され、メチル化シトシンに MBP (methyl-CpG-binding protein) が結合し、MBP にさらにヒストン脱アセチル化酵素 histone deacetylase (HDAC) が結合することで、ヒストンの脱アセチル化が起こる。ヒストンの脱アセチル化が起こるとクロマチンは凝集し、プロモーター領域に転写因子がアクセスできなくなり遺伝子発現が抑制される。この他に、DNA メチル化に依存しないヒストン脱アセチル化も知られている。このようなエピジェネティックな遺伝子発現制御は、個体発生や細胞分化の過程で生理的に起こっていることが知られていたが、近年、がん細胞においては、さまざまな増殖抑制遺伝子やアポトーシス誘導遺伝子の発現が、過剰な DNA メチル化によって転写抑制されていることが明らかにされている。遺伝子の欠失や変異を伴わないでが

ん抑制遺伝子の発現が失われ、細胞のがん化にかかわっているのである。この発見は、がん治療法に新たな光明をもたらした。ジェネティックな変化は不可逆的な変化であるため、根本的に修復するには遺伝子治療しか方法はない。しかし、エピジェネティックな変化は可逆的な変化であるため、DNA メチル化阻害剤やヒストン脱アセチル化阻害剤によって、失われたがん抑制遺伝子の発現回復が期待できるのである (図2)。このようにして、現在世界中でがんのエピジェネティクス治療薬が臨床試験の段階にある (表1)。

C. エピジェネティクスにより制御されるがんの免疫逃避

がん細胞において、DNA メチル化あるいはヒストン脱アセチル化によって発現制御されている遺伝子は、がん細胞の生存や増殖に都合の悪いがん抑制遺伝子群ばかりではない。前述したように、がん細胞は免疫監視機構からのがれるために、標

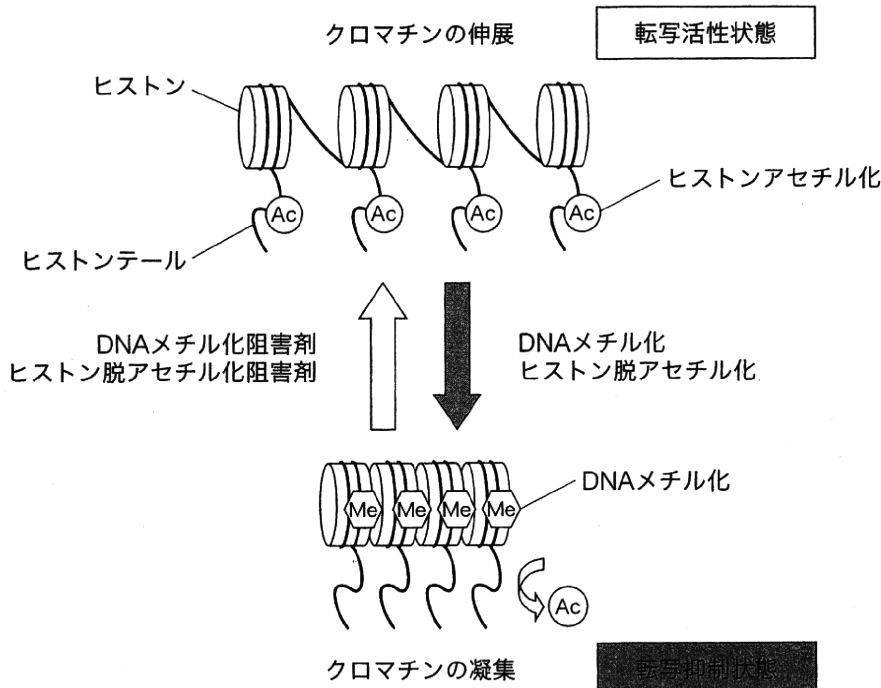


図2 エピジェネティクスによる遺伝子発現制御

表1 臨床試験中のエピジェネティクス治療薬 (文献1~6を改変)

阻害剤	対象疾患
DNAメチル化酵素阻害剤 (DNMT inhibitor)	
5-azacytidine	血液悪性腫瘍 骨髄異形成症候群 (FDA承認)
5-aza-2'-deoxycytidine	血液悪性腫瘍, 子宮頸がん, 非小細胞肺がん, 腎細胞がん 骨髄異形成症候群 (FDA承認)
ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDAC inhibitor)	
短鎖脂肪酸	
butyrate	結腸直腸がん
valproic acid	血液悪性腫瘍, 頭頸部がん
ヒドロキサム酸	
SAHA	前立腺がん, 膀胱がん, 乳がん, 大腸がん, 悪性リンパ腫 皮膚T細胞リンパ腫 (FDA承認)
LBH-589	進行固形がん, 皮膚T細胞リンパ腫
環状テトラペプチド	
FK-228 (FR901228)	大腸がん, 腎細胞がん, 悪性黒色腫, 非小細胞肺がん, 白血病, 多発性骨髄腫
ベンズアミド	
MS-275	腎細胞がん, 悪性黒色腫, 非小細胞肺がん, 肉腫, 悪性リンパ腫

的抗原遺伝子や細胞性免疫を賦活化する遺伝子をも、エピジェネティクスによって発現制御していることが明らかになってきた。

エピジェネティクスによって制御されていることが報告されている免疫関連遺伝子と、その発現を回復させるDNAメチル化酵素阻害剤 (DNMT

inhibitor) あるいはヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDAC inhibitor) を表2に示す。

1. 腫瘍抗原の発現低下

メラノーマをはじめとして、さまざまながん腫において cancer-testis antigen は免疫系に認識されやすい immunodominant な抗原として知られている。MAGE family や NY-ESO-1 の発現が低

下しているがん細胞株を DNMT 阻害剤である 5-aza-2'-deoxycytidine や HDAC 阻害剤である trichostatin A で処理すると、その発現が回復する。また、DNMT 阻害剤と HDAC 阻害剤の併用に相乗効果があるとも報告されている⁷⁻⁹⁾。このことは、がん細胞はエピジェネティクスな機序によって免疫原性の高い拒絶抗原の発現を抑制し、免疫監視機構からのがれていることを示唆してい

表2 エピジェネティクスにより制御される免疫関連遺伝子

発現抑制遺伝子	がん腫	発現回復薬剤		文献
		DNMT 阻害剤	HDAC 阻害剤	
1. 腫瘍抗原の発現低下				
MAGE family	前立腺がん, 乳がん, 大腸がん	5-AZA-DC	TSA	7
	白血病細胞	5-AZA-DC		7
	肺がん	5-AZA-DC		8
	神経膠芽腫	5-AZA-DC		9
NY-ESO-1	腎細胞がん, 大腸がん, 乳がん, 肺がん,	5-AZA-DC		8
	骨肉種, 平滑筋肉腫, メラノーマ			
GAGE1-6	腎細胞がん	5-AZA-DC		8
2. 抗原提示関連分子の発現低下				
MHC class I	神経芽細胞腫		TSA	10
	前立腺がん		TSA	11
	巨核球性白血病		SB	12
	メラノーマ	5-AZA-DC		13
β_2 -microglobulin	前立腺がん		TSA	11
MHC class II	神経芽細胞腫		TSA	10
	HeLa		TSA	14
	骨髄単球性白血病		SB	12
	B細胞リンパ腫		TSA	15
CIITA	扁平上皮がん		TSA	16
3. 接着共刺激分子の発現低下				
CD80, CD86	骨髄単球性白血病		SB	12
4. NK細胞活性化分子の発現低下				
MICA/MICB	白血病, 乳がん, 大腸がん		FR901228	17
	肝細胞がん		VPA	18
5. アポトーシスシグナル関連分子の発現低下				
Fas, TRAIL-R2 (DR5)	骨髄性白血病		VPA	19
TRAIL-R1 (DR4)	神経膠芽腫	5-AZA-DC		20
	卵巣がん	5-AZA-DC		21
caspase 8	神経芽細胞腫	5-AZA-DC	TSA	22

5-AZA-DC: 5-aza-2'-deoxycytidine, VPA: valproic acid, TSA: trichostatin A, SB: sodium butyrate
DNMT: DNA methyltransferase, HDAC: histone deacetylase

る。MAGE familyを標的としたワクチン療法の臨床試験が実施されているが、初期には腫瘍縮小効果があったものの、やがて標的抗原の発現が低下し、ワクチン不応性になる例が報告されている。このような症例ではMAGE遺伝子のメチル化やヒストン脱アセチル化が亢進していると推察され、ワクチン不応症例に対するエピジェネティクス治療薬併用ワクチン療法の有効性が期待される。

2. 抗原提示関連分子の発現低下

T細胞抗原受容体は、主にMHCによって提示された抗原ペプチドを認識する。したがって、細胞表面へのMHC分子の発現に影響を及ぼす遺伝子の発現低下は、T細胞からの免疫逃避につながる。MHC class I分子は重鎖と軽鎖 β_2 -microglobulin (β_2 M)とのヘテロダイマーからなるため、これらいずれの遺伝子発現が低下しても、細胞表面への発現レベルは低下する。ヒトの場合、重鎖にはHLA-A, B, Cの3種類の遺伝子があるが、軽鎖は β_2 Mで共通している。したがって、 β_2 Mの発現低下は、3種類のHLAすべての発現レベルに影響を及ぼすことになる。

我々は、免疫組織学的に各種がん組織におけるHLA class I分子の発現レベルを検討した。その結果、乳がんと前立腺がんでは他のがん種と異なり、約8割でHLA class Iの発現が低下していること、そしてその原因は β_2 M遺伝子のヒストン脱アセチル化であることを見出した。乳がん細胞株や前立腺がん細胞株をHDAC阻害剤で処理すると、 β_2 Mレベルの回復とともに細胞表面へのHLA class I発現も回復した¹¹⁾。我々はサバイビン2Bペプチドワクチンの臨床試験を実施しているが、乳がんを対象とした場合、他のがん種と比較して著しく臨床効果が低かった。この原因の一つに上で述べたような免疫逃避機序が関与していると推察され、今後乳がんと前立腺がんを対象と

したワクチン療法では、HDAC阻害剤を併用したプロトコルを検討する必要がある。

MHC class Iだけでなく、MHC class II遺伝子や転写因子CIITAの発現もエピジェネティックな制御を受けていることが報告されている¹⁶⁾。

3. 接着共刺激分子(副刺激分子)の発現低下

T細胞が活性化するためにはTCRを介する抗原刺激(第1シグナル)とともに、接着共刺激分子(adhesion-costimulatory molecules)に由来する第2シグナルが必要であることが知られている。がん細胞は、この共刺激分子の発現を抑制し、T細胞による免疫監視からのがれている。Maedaらは、骨髄単球性白血病細胞株において共刺激分子CD80, CD86の発現が抑制されており、HDAC阻害剤の一つであるsodium butyrateによってその発現が回復されることを報告している¹²⁾。すなわち、HDAC阻害剤を用いることによって、がん細胞の免疫原性が飛躍的に増大する可能性がある。

4. NK細胞活性化分子の発現低下

NK細胞は、細胞表面にNKG2Dレセプターのような活性化受容体をもっており、標的細胞の細胞膜上に発現される糖蛋白をリガンドとして活性化し、細胞傷害性を発揮する。このような活性化受容体の代表的なりガンドとしてMICA/MICBが知られている。白血病、乳がん、大腸がん細胞株においてほとんど発現していなかったMICA/MICBが、HDAC阻害剤FR901228によって発現回復した¹⁷⁾。また同様に、肝細胞がん細胞株においてHDAC阻害剤valproic acidによる発現回復が報告されている¹⁸⁾。我々は、乳がん細胞株をvalproic acid存在下で培養し、それによって発現が増加する遺伝子について、DNA microarrayを用いて網羅的に解析した。その結果、MICA/MICBを含む数種類の細胞性免疫標的抗原

遺伝子が見出された。我々は、このようにHDAC阻害剤によって発現が増えないし回復する抗原分子群をHDAC抗原とよんでいるが、このなかには免疫監視機構のなかで最も抗原性の高い分子群が含まれているのではないかと推察している。T細胞の標的抗原ばかりでなく、NK細胞の標的抗原もHDAC抗原に含まれていることは、NK細胞もがん免疫監視機構において重要な役割を担っていることを示唆しており、HDAC阻害剤はNK細胞に対する感受性も回復させる可能性がある。

5. アポトーシスシグナル関連分子の発現低下

T細胞もNK細胞も、標的がん細胞を認識した後、FasリガンドやTRAILによって標的がん細胞の細胞死受容体分子を活性化し、アポトーシスを誘導する。骨髄性白血病細胞において発現がほとんどみられなかったFasやTRAILレセプター2 (DR5) が、HDAC阻害剤によって発現することが報告されている²⁰⁾。また卵巣がん細胞株では、DNAメチル化阻害剤によってTRAILレセプター1 (DR4) の発現が回復し、アポトーシスが誘導されている²¹⁾。神経芽細胞腫細胞株においては、細胞死受容体ばかりでなく、細胞内アポトーシスシグナル伝達分子も同様にエピジェネティックな制御を受けているらしい。アポトーシスシグナル伝達プロテアーゼ caspase 8がHDAC阻害剤やDNAメチル化阻害剤によって発現回復し、TRAIL誘導性アポトーシスに感受性となることが報告されている²²⁾。このことは、エピジェネティクス治療薬は、免疫担当細胞の標的認識フェーズばかりでなく、細胞傷害エフェクターフェーズにも効果を発揮する可能性を示唆している。

むすび

がん細胞はエピジェネティックな変化によって生存や増殖に不都合な遺伝子群の発現を抑制し、

悪性形質を獲得しているばかりでなく、免疫監視機構に認識される不都合な遺伝子群をも抑制し、免疫から逃避している。しかし、可逆的な変化であることを利用して、DNAメチル化阻害剤やヒストン脱アセチル化阻害剤を用いた抗原性の回復が新たな免疫療法として期待される。HLA class I抗原の発現を失ったがんは、乳がん・肺がん・大腸がん・尿路がん・肉腫など、ほとんどの種類のがんで有意差をもって再発率が高い。エピジェネティクス治療薬によって、がん組織で低下しているHLA class I抗原の発現を回復させることができれば、それだけでも患者予後を改善できる可能性がある。がんワクチンや細胞療法などの能動的免疫療法とうまく組み合わせることができれば、現在直面している免疫療法の限界を突破できるかもしれない。

文献

- 1) Yoo CB, Jones PA. Epigenetic therapy of cancer: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov.* 2006; 5(1): 37-50.
- 2) Momparler RL. Epigenetic therapy of cancer with 5-aza-2'-deoxycytidine (decitabine). *Semin Oncol.* 2005; 32(5): 443-51.
- 3) Sandor V, Bakke S, Robey RW, et al. Phase I trial of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide (FR901228, NSC 630176), in patients with refractory neoplasms. *Clin Cancer Res.* 2002; 8(3): 718-28.
- 4) Byrd JC, Marcucci G, Parthun MR, et al. A phase I and pharmacodynamic study of depsipeptide (FK228) in chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia. *Blood.* 2005; 105(3): 959-67.
- 5) Kelly WK, Richon VM, O'Connor O, et al. Phase I clinical trial of histone deacetylase inhibitor: suberoylanilide hydroxamic acid administered intravenously. *Clin Cancer Res.* 2003; 9(10 Pt 1): 3578-88.
- 6) Ryan QC, Headlee D, Acharya M, et al. Phase I and pharmacokinetic study of MS-275, a histone deacetylase inhibitor, in patients with advanced and refractory solid tumors or lymphoma. *J Clin*

- Oncol. 2005; 23(17): 3912-22.
- 7) Wischnewski F, Pantel K, Schwarzenbach H. Promoter demethylation and histone acetylation mediate gene expression of MAGE-A1, -A2, -A3, and -A12 in human cancer cells. *Mol Cancer Res.* 2006; 4(5): 339-49.
 - 8) Coral S, Sigalotti L, Altomonte M, et al. 5-aza-2'-deoxycytidine-induced expression of functional cancer testis antigens in human renal cell carcinoma: immunotherapeutic implications. *Clin Cancer Res.* 2002; 8(8): 2690-5.
 - 9) Liu G, Ying H, Zeng G, et al. HER-2, gp100, and MAGE-I are expressed in human glioblastoma and recognized by cytotoxic T cells. *Cancer Res.* 2004; 64(14): 4980-6.
 - 10) Magner WJ, Kazim AL, Stewart C, et al. Activation of MHC class I, II, and CD40 gene expression by histone deacetylase inhibitors. *J Immunol.* 2000; 165(12): 7017-24.
 - 11) 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(2): 692-6.
 - 12) 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(12): 3847-56.
 - 13) Serrano A, Tanzarella S, Lionello I, et al. Expression of HLA class I antigens and restoration of antigen-specific CTL response in melanoma cells following 5-aza-2'-deoxycytidine treatment. *Int J Cancer.* 2001; 94(2): 243-51.
 - 14) 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 enhanceosome formation. *Mol Cell Biol.* 2003; 23(9): 3091-102.
 - 15) 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(3): 765-72.
 - 16) Kanaseki T, Ikeda H, Takamura Y, et al. Histone deacetylation, but not hypermethylation, modifies class II transactivator and MHC class II gene expression in squamous cell carcinomas. *J Immunol.* 2003; 170(10): 4980-5.
 - 17) 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(23): 11136-45.
 - 18) 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(14): 6321-9.
 - 19) 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(1): 71-6.
 - 20) Eramo A, Pallini R, Lotti F, et al. Inhibition of DNA methylation sensitizes glioblastoma for tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated destruction. *Cancer Res.* 2005; 65(24): 11469-77.
 - 21) Horak P, Pils 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(6): 335-43.
 - 22) Fulda S, Debatin K-M. 5-Aza-2'-deoxycytidine and IFN-gamma cooperate to sensitize for TRAIL-induced apoptosis by upregulating caspase-8. *Oncogene.* 2006; 25(37): 5125-33.

第30章 がんペプチド免疫治療

佐藤昇志*¹, 廣橋良彦*², 塚原智英*³,
田村保明*⁴, 一宮慎吾*⁵, 鳥越俊彦*⁶

1 要旨

ヒト癌特異抗原の研究が大きく進展し, 日常臨床の現場で世界的に臨床試験が行われてほぼ10年を経過した。その結果, 創薬への移行が期待できる成果がみられつつあり, 実際, 国際レベルで認可をうけようとしているヒト癌ワクチンの候補もでてきている。世界的メガファーマも本格的にのりだし, わが国の製薬企業も本腰を入れた。流れは出来た。恐らくいくつかは創薬として具現化されるであろう。さらにすぐれた創薬ワクチンになるには何が必要か, どのようなことをクリアすべきか, またどのような課題についてさらに基礎研究すべきかを概説した。

2 はじめに

免疫学が大きく進展し, ヒト癌に対する免疫応答も飛躍的な進歩をとげてきた。1980年代までの一時期はヒト癌に免疫応答などは存在しないのではないのか? ヒト腫瘍抗原などは存在しないのではないのか? ヒト癌免疫が成立しているのなら, なぜかくも癌が進行するのか? 等々, 癌免疫に関しては否定的, 厭世的な空気が支配していた。実際1980年代末の米国癌学会(AACR)でも日本癌学会でもヒト癌免疫に関する発表は極めて少ない時代を迎えていた。しかし, 1992年にベルギーブリュセルのブーン博士らによりCTLクローンが認識するヒトメラノーマ腫瘍抗原がはじめて発見され, サイエンス誌で発表された。この時点で状況は一変した。まさにエポックメイキング的な研究であり, 多くの免疫学者, 癌研究者を驚かせた。他方, 我々ヒト

-
- * 1 Noriyuki Sato 札幌医科大学 医学部 病理学第一講座 教授
 - * 2 Yoshihiko Hirohashi 札幌医科大学 医学部 病理学第一講座
 - * 3 Tomohide Tsukahara 札幌医科大学 医学部 病理学第一講座
 - * 4 Yasuaki Tamura 札幌医科大学 医学部 病理学第一講座
 - * 5 Shingo Ichimiya 札幌医科大学 医学部 病理学第一講座
 - * 6 Toshihiko Torigoe 札幌医科大学 医学部 病理学第一講座

癌免疫研究をずっと持続していた研究者はこの発見に必ずしも驚かなかった。なぜなら、多くのヒト癌免疫研究者がその時点では程度に強弱はあれ、患者リンパ球が自家腫瘍に明らかに特異的、HLA 拘束性に反応することを観察していたし、私どもの研究室では CTL クローンレベルでそのような反応が多くのおこることをリコンビナント IL-2 が入手可能となった 80 年代半ばには、みているからである。

以後図 1 に示すような CTL の直接の標的である HLA クラス I 提示ヒト腫瘍抗原同定の研究が盛んに行われ、早い時期からこれらの抗原を用いた癌ワクチン臨床試験も全世界で様々な腫瘍抗原について行われるようになった¹⁾。製薬企業やベンチャー企業との共同研究も近年は加速され、GSK や武田製薬など (表 1) 大きな製薬企業も開発に乗り出してきている。ハーセプチンなど抗体医薬がその発見から創薬具現化まで 20 年を要したが、T 細胞癌ワクチンも 2012 年で発見から 20 年になる。恐らくは 2012 年までには世界のメガファーマがひとつあるいは複数の癌ワクチンを創薬化、市販化するであろう。抗体ワクチンと違い、CTL をドライブする癌ワクチンの基盤はとてつもなく広く大きく、すべての癌を対象とできる可能性があり、長年待望されていた治療型癌ワクチンが本当に日常臨床の癌治療のモダリティになると考えられる²⁾。

とはいえ、まだ本当に効力の優れた癌ワクチン開発には至っていない。ここしばらくはそれらの開発研究が大切である。ここではその現状を示し、我々の研究成果を中心にいくつかの点を解説し、一日も早い癌ワクチン創薬の具現化にはどのようなことが必要なかを述べたい。

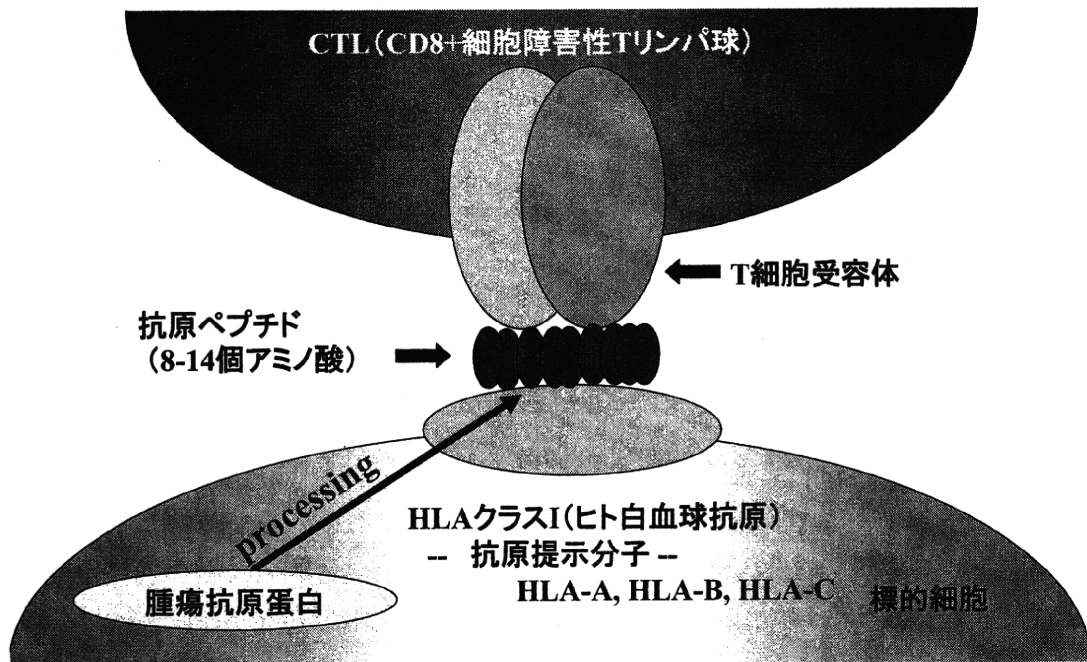


図 1 CD 8 陽性 CTL (細胞障害性 T 細胞; cytotoxic T lymphocyte) による標的細胞破壊

表1 札幌医大第1病理で同定されたヒト癌ワクチン候補 (2008年8月)

腫瘍	ペプチド(ワクチン)	親蛋白	HLA	臨床試験	報告
A) 自家腫瘍					
胃癌	F 4.2 (YSWMDISCWI)	c 98	A 31		<i>J. Immunol.</i> ,(1998)
骨肉腫	PBFP (CTACRWKKACQR) (AYRPVSRNI)	PBF	B 55	予 定	<i>Cancer Res.</i> ,(2004)
			A 24	予 定	<i>Cancer Sci.</i> ,(2007)
			A 2	予 定	<i>JTM</i> ,(2008)
B) リバースイムノロジー					
1) アポトーシス関連					
種々	2 B (AYACNTSTL)	survivin 2 B	A 24	進行中	<i>Clin. C. Res.</i> ,(2002) <i>JTM</i> ,(2004), (2008)
	C 58 (FFCFKELEGW)	survivin	A 24	予 定	<i>Clin. C. Res.</i> ,(2004)
種々	L 7 (KWFPSSCQFLL)	livin	A 24	進行中	<i>Clin. C. Res.</i> ,(2005)
2) 染色体転座					
滑膜肉腫	A (PYGYDQIMPK)	SYT-SSX	A 24		<i>J. Immunol.</i> ,(2002)
	B (GYDQIMPCK)	SYT-SSX	A 24	進行中	<i>J. Immunol.</i> ,(2002) <i>JTM</i> ,(2005)
	K 9 I (GYDQIMPKI)	SYT-SSX	A 24	進行中	<i>J. Immunol.</i> ,(2004)
C) バイオインフォマティクス					
種々	HIFPH 3-8 (RYAMTVWYF)	HIFPH 3	A 24	予 定	<i>Clin. C. Res.</i> ,(2008)
	Cep 55-10 (VYVKGLLAKI)	Cep 55 (C 10 orf 3)	A 2, A 24	予 定	
	AMACR 2 (NMVEGTAYL)	AMACR	A 24	予 定	
	STEAP-B (QYFYKIPIL)	STEAP	A 24	予 定	
	Lengsin (N. D.)	Lengsin	A 24		
D) SP テクノロジー (癌幹細胞抗原)					
種々	SOX-2-109 CT antigen A, INTS 1	SOX-2	A 24	予 定	

3 ヒト腫瘍抗原同定

現時点でCTLが認識するヒト腫瘍抗原はメラノーマを中心に多数同定されている。解析は①オーソドックスであるが最も重要なシステムである自家腫瘍とCTLクローンをを用いたもの、②リバースイミノロジー的手法によるもの、③バイオインフォマティクスの方法によるもの、などがある。これらの様々な手法を用いて現時点で同定された腫瘍抗原は、正確な数はわからないが、メラノーマでは20～50抗原、上皮性腫瘍、肉腫などで50～70の抗原が少なくとも同定されていると思われる。これらについては他の総説¹⁾、あるいはHPアドレス <http://www.cancerimmunity.org/peptidedatabase>などを参照されたい。

ここでは我々が同定した腫瘍抗原について述べる。表1に示すように過去14,15年間にわたり

一貫して CTL が認識する腫瘍抗原の同定に我々は力を注いできた。すなわち、①自家腫瘍の解析系^{3~6)}、②リバーシムノロジーの方法^{7~10)}、③DNA マイクロアレイを利用したバイオインフォマティクスによる手法¹¹⁾、そして④SP (side population) 手法を利用したヒト癌幹細胞の (cancer stem cell; CSC) の分離による CSC 腫瘍抗原の同定、などにより研究を進めた。その結果いずれの手法、解析法でもヒト腫瘍抗原を同定し得た。ここでいう腫瘍抗原とはあくまで CTL が標的とする immunogenic epitope であるということが大事である。例えばリバーシムノロジーではいくつもの腫瘍抗原の候補は考えられるわけである。すなわち、正常で発現がないか、きわめて弱いもので、かつ、腫瘍で高発現をみせるものである。しかし、これらのすべてが CTL エピトープになるとは限らず、むしろそうならない場合が多い。バイオインフォマティクスによる状況も同様であり、実際我々は DNA マイクロアレイによるスクリーニングの結果、約 300 の腫瘍抗原分子を発現プロフィールの側面からとらえた。しかし、これらのうち 5 つのみ (HIFPH 3, Cep 55, AMACR, STEAP, Lengsin) が CTL の標的になるという事実が判明し¹¹⁾、実に残り 295 の蛋白分子は CTL に non-immunogenic であり、免疫学的にトレラントな可能性が考えられたのである。SP テクノロジーによる CSC 腫瘍抗原については後述する¹¹⁾。

4 癌ワクチン臨床試験

2002 年に我々が HLA-A 24 提示抗原ペプチドとして同定した IAP (inhibitor of apoptosis protein) 由来の survivin 2 B ペプチド (surv 2 B) は 2003 年 12 月から第一相臨床試験に入った。5 年計画で主に大腸癌を対象として臨床試験を行った^{11,12~15)}が、3 つのプロトコルを準備した。①surv 2 B のみ、②surv 2 B + IFA (モンタニド)、そして③DC の分化、活性化に最も重要なサイトカインと考えられる IFN α を併用した surv 2 B + IFA + IFN α の合剤である。その結果、特記すべき副作用はみられず、興味深い臨床効果、および免疫応答の結果が得られた。すなわち、surv 2 B ペプチド単独でも症例により臨床効果あるいは免疫応答を惹起、誘導しえること、+ IFA とは大差ないこと、他方、+ IFN α のプロトコルではより高い頻度で明らかな臨床効果、免疫応答を得られること、が判明した。この③のプロトコルでは 4/6 例に CEA の上昇の停止あるいは低下がみられ、また CT 上で PR あるいは SD をみせたのが 4/6 例、そしてテトラマー、ELISPOT で明らかな反応を示したのが 3/6 例であったのである。そのうちの 1 例の経過を図 2 に示す。ここでは surv 2 B ペプチド + IFA + IFN α の投与後の CEA の値の変動を示しているが、回数を経るごとに CEA が低下し、正常化している。テトラマー、ELISPOT も pre と post vaccination で明らかに CTL の数の増加をみた。さらに 3rd vaccination のテトラマー陽性 CTL をソーティングしたものが図 3 であるが、ほとんどすべての well の T 細胞が surv 2

※手術時腫瘍組織: HLA-Class I強陽性、Survivin強陽性

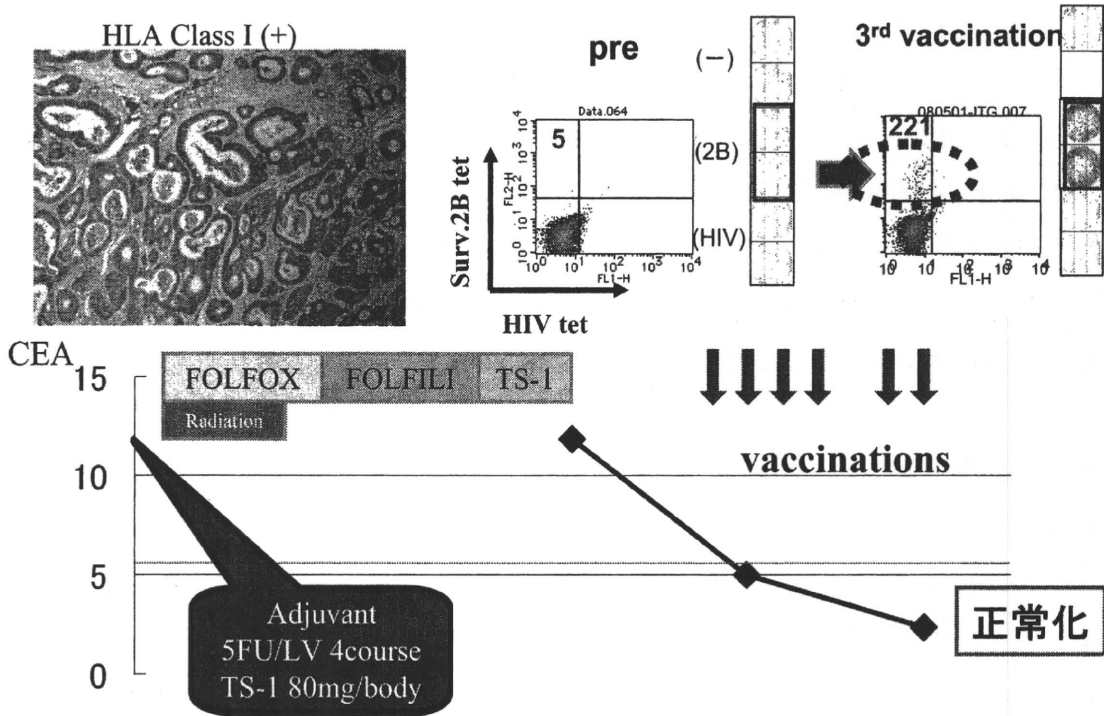


図2 症例 (3)-6 (直腸癌; stage IV) 免疫応答と腫瘍マーカー推移
vaccination: Survivin-2 B peptide + IFA + IFN- α

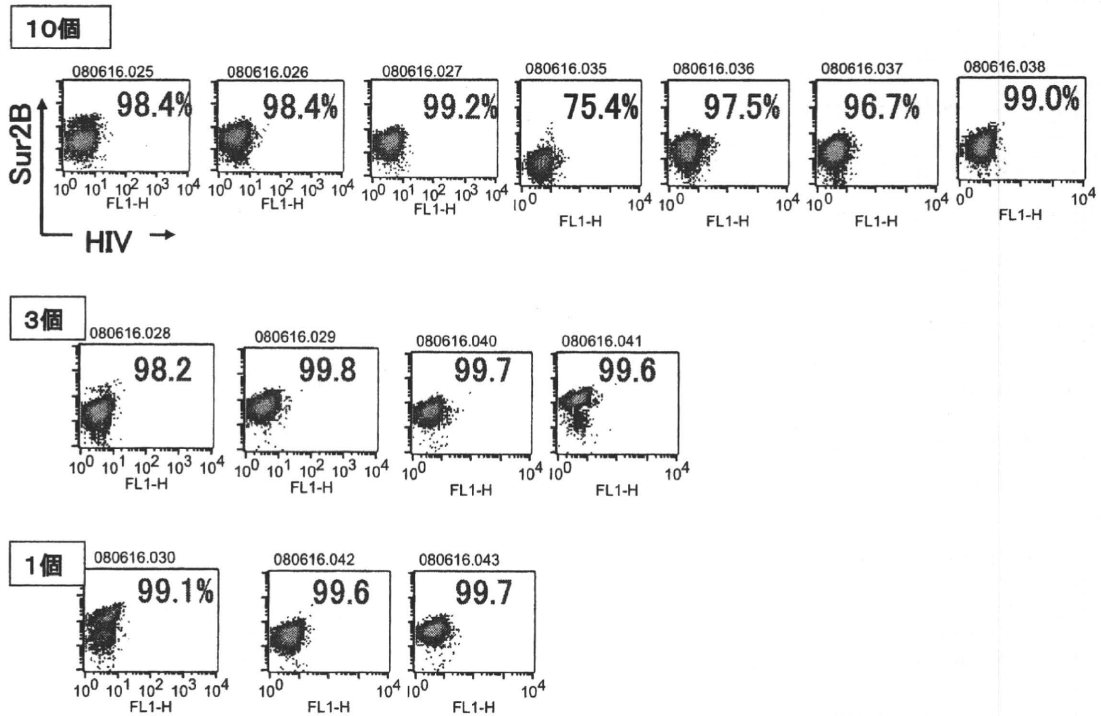


図3 大腸癌患者 (3)-6 CTL の single cell sorting と tetramer analysis

B テトラマーに陽性であり、かつそれらの多くが surv 2 B ペプチド特異的に認識され、標的細胞を破壊することが示された。このようにあざやかな CTL のモニタリングが他の症例でも観察され、図 4 には進行膵癌の症例であるが vaccination 後、ほぼ 3 年間以上も CA 19-9 が正常値を保ち、テトラマー、ELISPOT ともに明らかに検出され、これら CTL のソーティングでも surv 2 B ペプチド特異的標的細胞障害も示された。これらの事実は surv 2 B + IFA + IFN α のプロトコールが癌患者でこのペプチド特異的 CTL を誘導し、活性化し、それらが腫瘍局所で抗腫瘍効果を発揮していることを示唆するものといえる。表 1 に示した我々が同定した他の CTL エピトープも同様な期待がもたれる。それらが創薬化できるか否かについては地道な臨床試験をひとつずつ行い、長い時間は必要とするがピックアップしていくより他にない。持続的な基礎と臨床の腫瘍免疫研究者の努力が大切であり、互いに共通の目標に向かった高い志が必要なゆえんである。

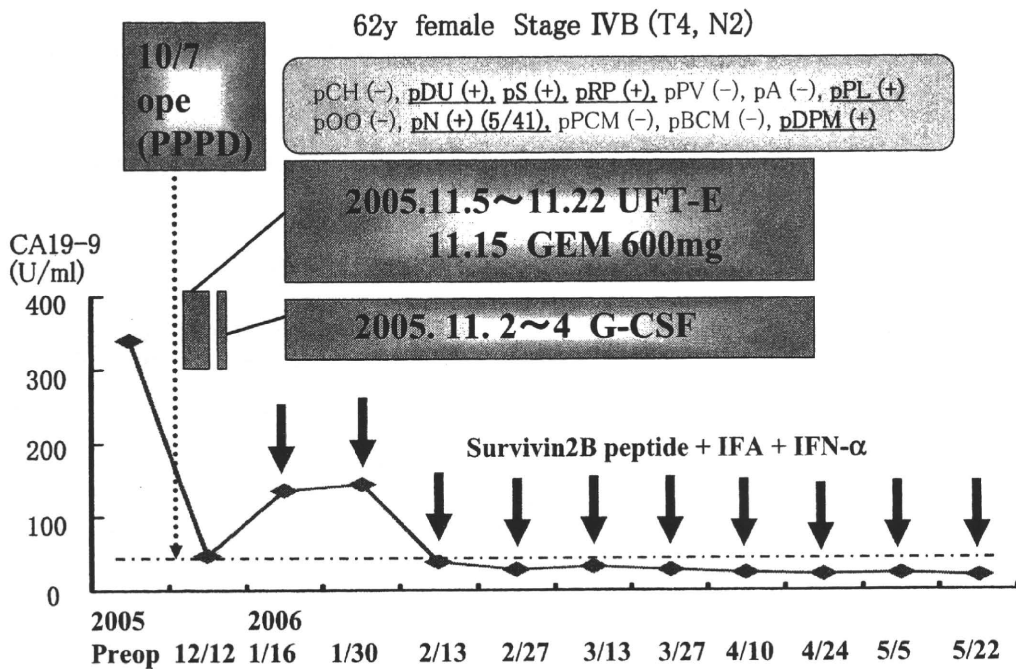


図 4 症例 6 (膵癌) 免疫応答と腫瘍マーカー推移
vaccination : Survivin-2 B peptide + IFA + IFN- α

5 ヒト癌幹細胞 (CSC) 腫瘍抗原の同定と癌免疫治療への応用

上述のようにヒト腫瘍に発現する腫瘍抗原, さらに CTL が標的とする HLA 提示 CTL エピトープも多数同定され, 臨床試験も世界中で行われているわけである。他方, 免疫学的により優れた腫瘍抗原検索の研究も極めて大切である。すなわち, 癌研究でトピックスになりつつある癌幹細胞と, これに発現する腫瘍抗原 (cancer stem cell tumor antigens ; CSC Ag) の同定である。我々は CSC Ag の同定を, ほぼ 20 年前から研究着手していた。図 5 に示すようにラット正常胎児線維芽細胞 WFB, あるいは BALB/C マウス胎児線維芽細胞 BALB/3 T 3 に様々な活性型癌遺伝子をトランスフェクトし, 様々な tumorigenic clones を得た。例えば ras 癌遺伝子で得られた W 31, Brash などは 10^3 個で 2 W で腫瘍形成を同系ラット, 同系マウスにみせ, 4 W では 1 cm 以上の径を示す極めて造腫瘍性の高いクローンであった。CSC のひとつの重要な特徴として cancer initiating ability が考えられているが, 真にこの特徴を持つものであり, 我々は WFB, BALB/3 T 3 に発現なく, かつ W 31, Brash に高発現の細胞表面腫瘍抗原を単クローン抗体樹立により解析した。その結果, いくつかの抗原を得ることに成功し, ひとつは HSP (heat shock protein) 70 様の分子であり¹⁶⁾, あるいは CD 44 であった¹⁷⁾。2000 年代に入り, とくに後者は様々なヒト腫瘍の CSC マーカーとなり得ることがわかり, 我々の研究が基盤となった。し

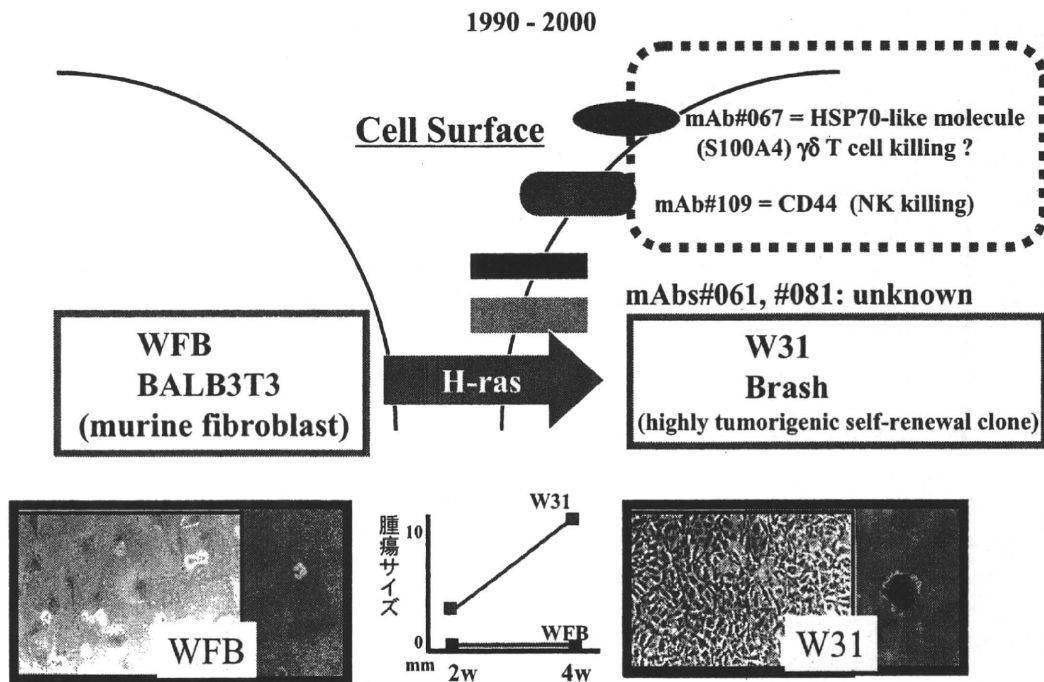


図 5 Murine fibroblasts (WFB/BALB 3 T 3) の腫瘍化に伴う腫瘍抗原発現解析
- W 31 and Brash cells as cancer initiating cell counterparts -