

図1 がん形成過程でのがん細胞の免疫抵抗性・抑制性の獲得

遺伝子不安定性をもつがん細胞は、形成過程で、NK細胞やT細胞などの免疫細胞による免疫監視機構により、がん細胞の排除や免疫逃避が起こり、臨床でみられるがん細胞は免疫抵抗性や抑制性を獲得している。また、マクロファージなどの免疫細胞や間質細胞は直接がん細胞の増殖浸潤を促進する場合がある(→)。

の細胞や線維芽細胞や骨髄由来間葉系幹細胞などの間質細胞との相互作用が起こる。がん細胞は、マクロファージや肥満細胞などの自然免疫系細胞や線維芽細胞や間葉系幹細胞などの間質細胞をリクルートして、それらが産生するTNF- $\alpha$ などのサイトカインやケモカインは、がん細胞の増殖浸潤能を高め、さらに血管新生誘導などを介して、がんの進展を促進する<sup>1,3)</sup>。臨床でもマクロファージなどの浸潤は、むしろ予後不良と相関することが報告されている。また、がん細胞が産生する炎症性サイトカインなどは遠隔臓器へ作用して、そこへ自然免疫系細胞などをリクルートして、がん細胞が定着しやすい微小環境(pre-

metastatic niche)を構築し、がんの転移を起こす可能性も示されている<sup>4)</sup>。

マウスの化学発がん実験において、特定の免疫機構を遺伝子ノックアウトマウスや抗体投与などで低下したマウスを用いて、経時的に詳細に免疫細胞などの動態を観察することにより、がん形成過程では、NK細胞やT細胞などの免疫細胞は免疫監視機構(immune-surveillance)としてがん細胞を排除(immune-elimination)する作用があることがわかる。また、がん細胞と免疫細胞が共存する状況(equilibrium)、さらに、遺伝子不安定性という基本性質をもつがん細胞が、免疫抵抗性や免疫抑制性を獲得し、免疫防御機構を逃れて(免疫逃避

(escape))増殖する場合がある<sup>5)</sup>(図1)。免疫不全マウスではがんの発生が増加するが、発生したがん細胞は、正常な免疫状態のマウスに発生するがん細胞に比べて免疫感受性であり、これは、がん形成過程で免疫監視機構が作動していることを示すとともに、がん細胞と免疫細胞との相互作用によりがん細胞の免疫学的性質が規定されることを示しており、この過程は免疫編集(immune-editing)とよばれる。ヒトでも免疫不全状態でしばしば発生するEBウイルス関連リンパ腫は免疫感受性であるのに対して、通常患者に発生するEBウイルス関連リンパ腫は免疫抵抗性である。臨床でみられるがんは多様な免疫抵抗性や免疫抑制性を

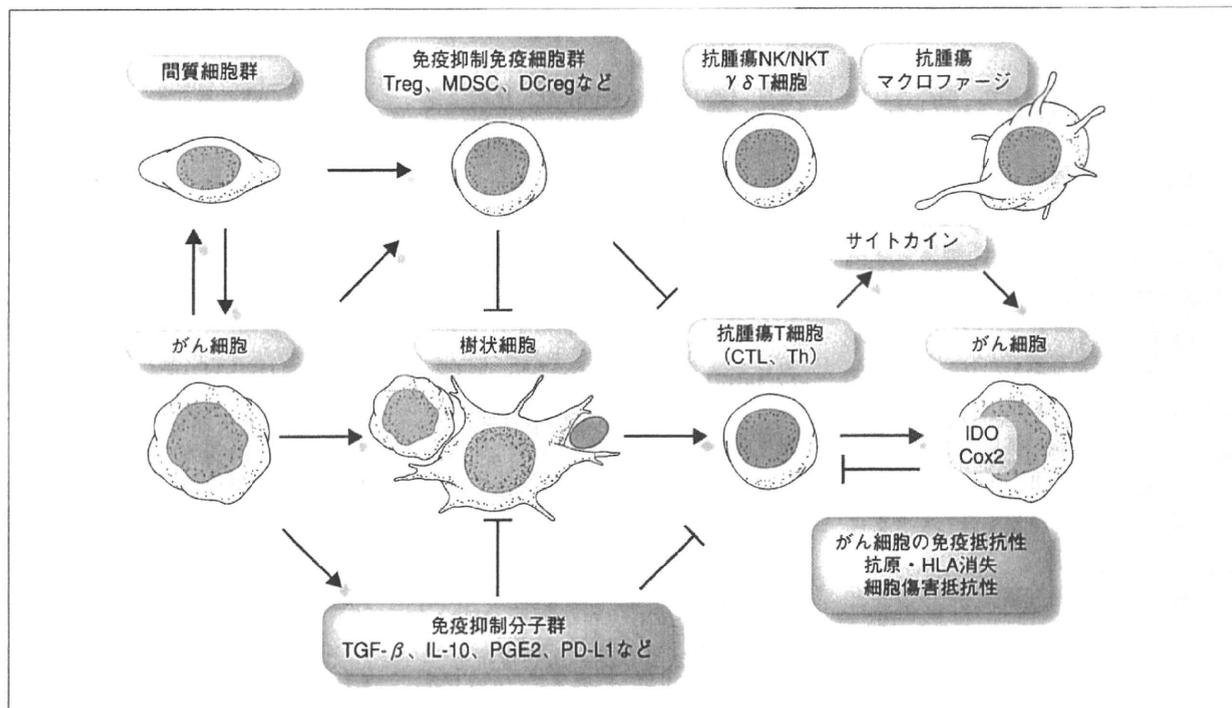


図2 担がん生体における正と負の免疫応答

担がん生体では、抗腫瘍免疫応答に対して、正(ヘルパーT細胞や各種エフェクターT細胞)と負(各種免疫抑制分子や細胞)に作用する免疫細胞・分子群が存在する。またHLAや腫瘍抗原の消失などにより、がん細胞の免疫抵抗性が獲得される。

獲得しており、ヒトでも免疫編集が起こっていると考えられる。がん細胞自体の免疫学的変化に加えて、がん細胞は抗腫瘍T細胞の消失(deletion)や不応答性(nergy)、あるいは抗腫瘍免疫抑制性細胞群の増加などの患者の免疫系への変化を起こす。

### 正と負の免疫応答を含む抗腫瘍免疫ネットワーク

さまざまな免疫細胞がネットワークを形成して、がん細胞に対して正と負の免疫応答を起こす<sup>6)</sup>(図2)。樹状細胞、マクロファージ、NK細胞、NKT

細胞などは、初期に応答して(innate immunity)、サイトカイン分泌や抗原提示を介して、抗原特異的に増殖して、メモリー機構をもち、強力な反応を起こす獲得免疫系(acquired immunity)のT細胞やB細胞のクローナル増殖とエフェクター細胞への分化を誘導する。樹状細胞は生体内で未感作T細胞を活性化できる抗原提示細胞(antigen presenting cell; APC)として、T細胞の活性化/不活性化、Th1/Th2/Th17/TregなどのT細胞分化の方向性を規定する免疫細胞として、がん細胞に対する特異的免疫応答に重

要な免疫細胞である。

がん患者の生体内でB細胞が産生する抗体のがん細胞排除における意義は明らかではないが、最近、免疫療法後に治療効果が認められた患者で、がん細胞の進展に関与する分子に対する中和抗体の産生を認めた症例が報告されている。マウスにがん細胞などを免疫して作製した抗ヒト腫瘍モノクローナル抗体は、抗体のヒト化により、乳がんなどに高発現するHER2分子やB細胞悪性リンパ腫抗原CD20に対するモノクローナル抗体では明らかな抗腫瘍効果が認められ、標準治療として使用されている。最近では、がん細胞でな

く、免疫細胞やがん関連分子(VEGFなど)などに対する抗体を用いた間接的な抗腫瘍効果も示され、期待されている<sup>7)</sup>。

T細胞は動物腫瘍モデルやヒトメラノーマで抗腫瘍効果をもつことが示されている。T細胞は、T細胞受容体ががん細胞表面上の抗原ペプチド・MHC複合体を抗原特異的に認識してサイトカインを分泌したり、直接がん細胞を傷害する。また、CD40L/CD40を介して樹状細胞の抗原提示・T細胞活性化能を高めたり、IL-2やIFN- $\gamma$ などのサイトカイン分泌を介してマクロファージ・NK細胞・NKT細胞などを活性化させて抗腫瘍エフェクターとして機能させる。抗原ペプチドは細胞内蛋白からも由来するので、T細胞はがん細胞内の変化を検出することができ。

がん反応性T細胞にはMHCクラスI・ペプチド複合体を認識するCD8<sup>+</sup>T細胞と、MHCクラスII・ペプチド複合体を認識するCD4<sup>+</sup>T細胞がある。造血器腫瘍はMHCクラスII陽性の場合も多く、直接CD4<sup>+</sup>T細胞に認識されるが、多くの固形がんはMHCクラスIIを発現しない場合が多く、CD8<sup>+</sup>T細胞が主にごがん細胞の直接認識に関わる。しかし、CD4<sup>+</sup>T細胞はCD8<sup>+</sup>T細胞の誘導や維持、マクロファージなどのエフェクター活性化に関わり、抗腫瘍免疫応答に重要と考えられている。またCD4<sup>+</sup>T細胞は機能的にヘルパーT細胞と免疫抑制性の制御性T細胞(Treg)に分けられ、サイトカイン産生能の違いにより抗腫瘍免疫応答に重要なIFN- $\gamma$ やIL-2産生

Th1、慢性炎症時のがん発生に関わるIL-17産生Th17、またTh1抑制に関わるIL-4やIL-5産生Th2や、抗腫瘍免疫抑制性のTGF- $\beta$ 産生Th3やIL-10産生Tr1やFOXP3陽性Tregなどに分類される。

がん反応性T細胞は、自己がん細胞だけに発現する固有抗原、あるいは他の患者のがん細胞にも発現する共通抗原を認識する場合がある<sup>8,9)</sup>。固有抗原として、がん細胞の遺伝子変異に由来する変異ペプチド、共通抗原として、MART-1悪性黒色腫抗原やPSA前立腺がん抗原、proteinase-3白血病抗原などの組織特異的蛋白、MAGEやNY-ESO-Iなどのがん精巢抗原、WT-1やhTERTなどのがん高発現抗原、E6/E7子宮頸がん抗原などのがんウイルス抗原などがある。特殊な状況では、同種造血幹細胞移植時の同種抗原などがある。免疫療法に理想的な腫瘍抗原とは、多くの患者でがん幹細胞を含むすべてのがん細胞に高発現するが、正常細胞では限局的な発現しかせず、がん細胞の増殖生存に関わるために抗原消失が起こりにくく、がん患者で免疫原性が高い抗原であるが、すでに免疫防御から逃れてきたがん細胞はこれらの理想的な条件を十分に満たす腫瘍抗原をもつわけではない。

### がん細胞を起点とした多様な機序による免疫抑制環境の構築

がん細胞の免疫抵抗性・抑制性機構については、多様な細胞分子機構が報告されている<sup>10-12)</sup>。がん細胞には、

腫瘍抗原やHLAなどの抗原処理提示に関わる分子の異常が認められT細胞の認識から逃れることがある。悪性黒色腫では $\beta$ 2ミクログロブリン遺伝子変異によるHLAクラスI全消失がしばしばみられ、その回復は難しく他の治療法の併用が必要となる。しかし、小細胞肺がんではIFN- $\gamma$ による、乳がんや前立腺がんではヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)阻害剤による転写レベルでのHLA発現回復が認められており、HLA発現誘導法を併用した免疫療法が期待されている。

がん細胞はTGF- $\beta$ 、IL-10、VEGF、IL-6、MICA/B(MHC class I chain related A, B)などの免疫抑制分子を分泌したり、PD-L1(B7-H1)やFasLやCD200やILT7Lなどの免疫抑制性膜分子を発現したり、トリプトファン欠乏や代謝産物キヌレニンによりT細胞機能を抑制するトリプトファン代謝酵素IDO(indoleamine 2,3-dioxygenase)や、免疫抑制活性をもつPGE<sub>2</sub>の産生に関わるCox2(cyclooxygenase-2)などの細胞内酵素を発現して、担がん生体で局所性・全身性の免疫抑制環境を構築する(図3)。また、がん細胞は、制御性T細胞(Treg)、骨髄由来免疫抑制細胞(myeloid derived suppressor cell; MDSC)、M2マクロファージ、制御性樹状細胞(regulatory dendritic cell; DCrege)、形質細胞様DC(plasmacytoid DC; pDC)、タイプII NKT細胞、免疫抑制性 $\gamma\delta$ T細胞など、多様な免疫抑制細胞群を誘導する。がん組織で産生されたCCL21やCCL22などのケモカインは、それぞれCCR7やCCR4などを発現する免疫

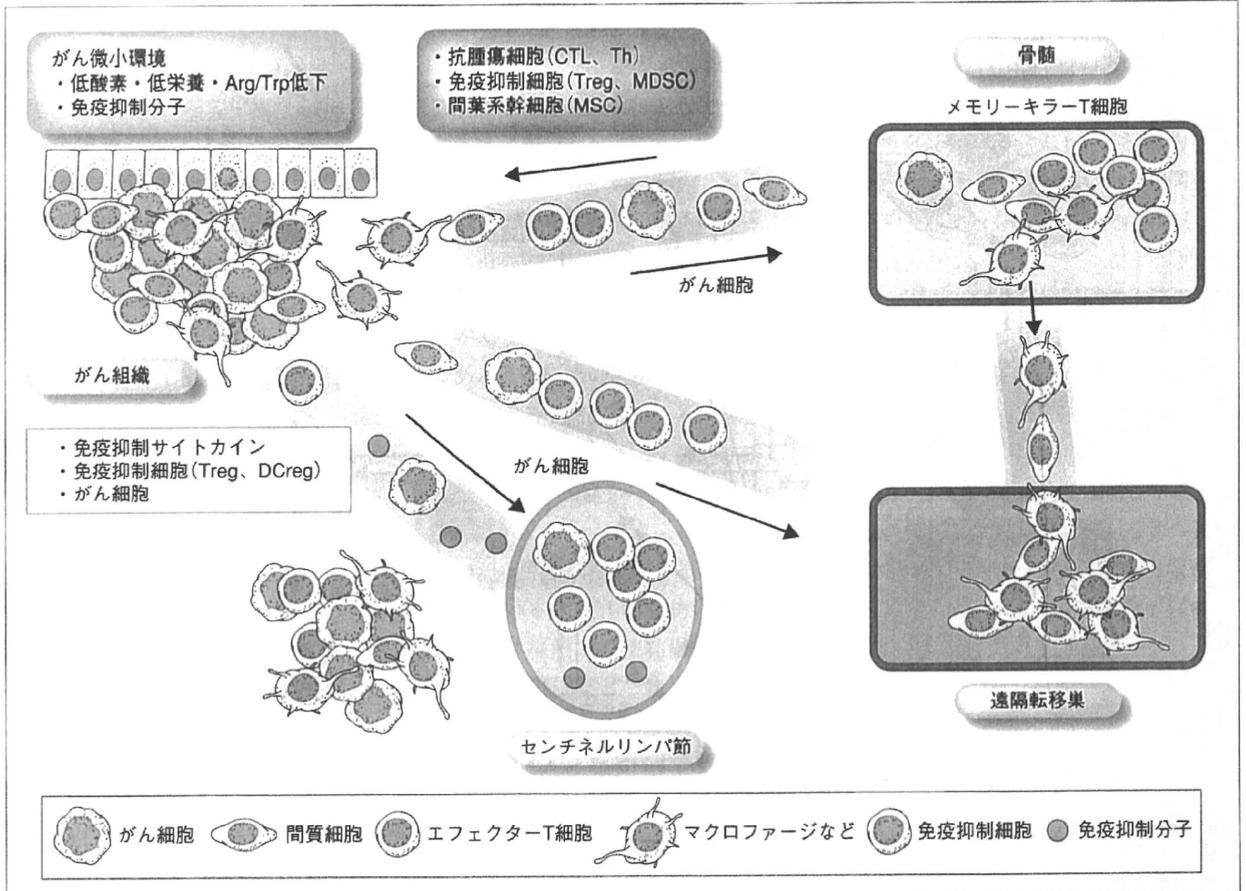


図3 がん関連微小環境における免疫抑制病態

抗腫瘍免疫細胞が機能すべきがん組織、抗腫瘍T細胞が誘導されるべき所属リンパ節、抗腫瘍メモリーT細胞が豊富に存在する骨髄などの、抗腫瘍免疫応答に関わるがん関連微小環境において、局所性・全身性の免疫抑制病態が構築される。

抑制細胞をがん関連微小環境にリクルートする。本来、抗腫瘍免疫を増強しうる免疫細胞も、がん関連微小環境において免疫抑制細胞となることが問題である。

担がん生体では、がん細胞を起点として複数の免疫抑制カスケードが作動して、免疫抑制環境が構築される(図4)。がん細胞が産生するTGF-βやIL-10は直接的にTregを誘導するだけ

でなく、DCregの誘導を介してTregを誘導する。また、TGF-βやIL-10は、がん組織に浸潤する免疫細胞からも産生され、臨床では、血液中のTGF-βやIL-10の増加と予後不良とに相関が認められている。これらの免疫抑制サイトカインは、がん遺伝子異常などにより恒常的に亢進したシグナルを介して産生される場合があり、シグナル阻害剤やシグナル分子RNAiは、

その下流の複数の免疫抑制分子の産生を同時に阻害することができる。ヒト悪性黒色腫で高頻度にみられる共通変異BRAFによるMAPKシグナル亢進、あるいはSTAT3シグナルの亢進を、RNAiや阻害剤で抑えると、IL-10、VEGF、IL-6などの複数の樹状細胞抑制性サイトカインの産生が同時に阻害される<sup>13)</sup>。

また、これらの免疫抑制サイトカ

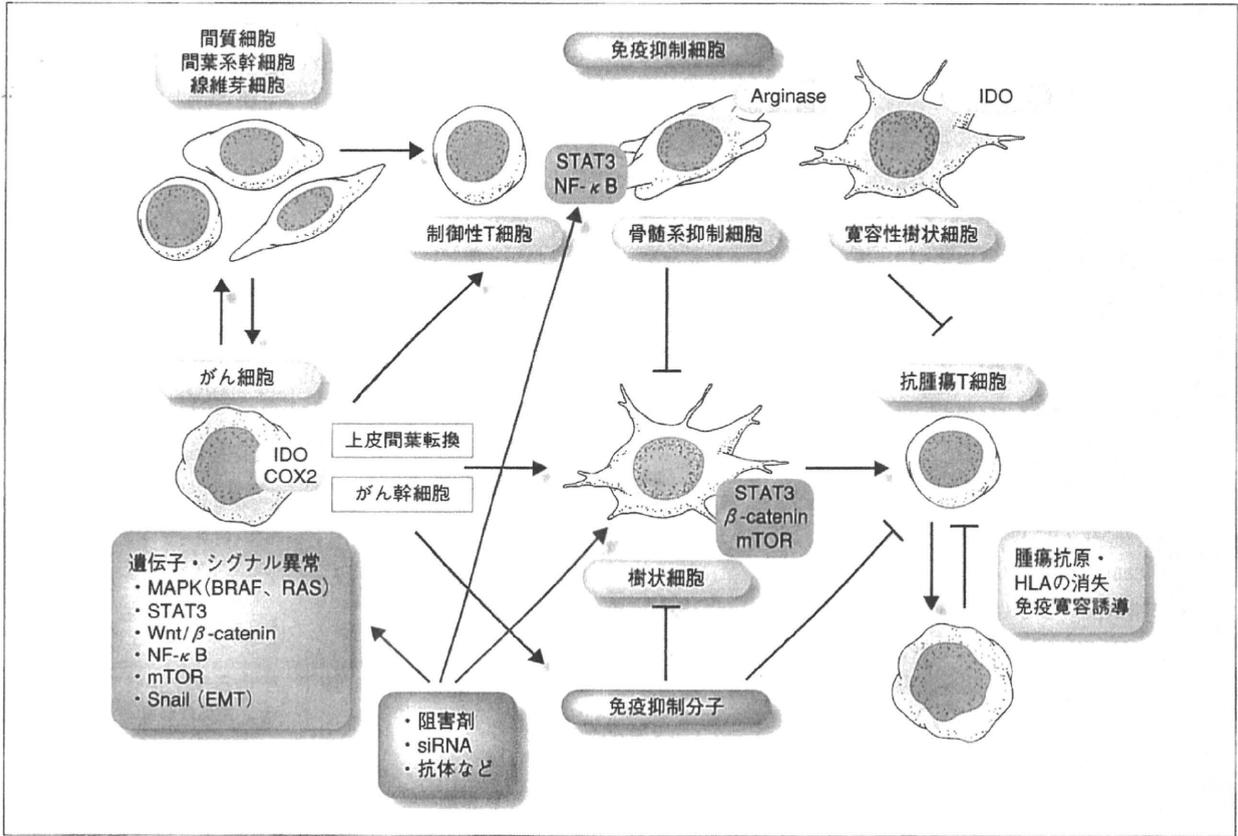


図4 がん細胞に誘導される免疫抑制カスケードの分子機構と制御

がん細胞の遺伝子異常・シグナル異常は、TGF-βなどの免疫抑制分子の産生や、制御性T細胞などの免疫抑制性細胞の誘導により、多様な免疫抑制カスケードが作動して、免疫抑制環境が構築される。また、がん幹細胞や上皮間葉

転換がん細胞は免疫抑制や免疫抵抗性に関与する。免疫抑制カスケードの上流・下流の阻害により、その解除が期待される。

インは、DCやMDSCに対して、そのSTAT3を活性化することにより、免疫抑制性の細胞に変化させる。したがって、STAT3阻害剤は、がん細胞だけでなく、免疫細胞の機能を増強させたり、免疫抑制性細胞への変化を阻害することにより、抗腫瘍免疫応答を増強する作用をもつ。ヒトがん細胞では、その分子異常の違いにより主要な免疫抑制機序が異なるので、症例ごとに異なる制御、すなわち個別化治療の可能

性もある。通常の化学療法剤のなかにも、内在性腫瘍抗原を放出させる直接的な腫瘍破壊作用に加えて、ゲムシタビンのMDSC阻害作用やアントラサイクリン系薬剤のがん細胞表面へのcalreticulin発現を介した樹状細胞への取り込み増強作用など、抗腫瘍免疫誘導を促進させる作用が期待されるものがあり、免疫療法への併用効果が期待されている。シグナル阻害剤や化学療法剤は、本来、がん細胞の増殖生存

浸潤を抑制する 경우가多く、その適切な併用による総合的ながん制御が期待できる<sup>14,15</sup>。

がんは、不均一な細胞集団からなるが、近年、化学療法耐性でがん再発の原因になると考えられているがん幹細胞や、転移の原因となる上皮間葉転換(epithelial mesenchymal transition; EMT)は、免疫学的にも特有な性質をもつ。がん幹細胞の免疫療法による排除が期待され、われわれもヒト脳腫瘍

幹細胞が発現し、T細胞に認識されるSOX6抗原を同定した<sup>16)</sup>。しかし、悪性黒色腫症例で、培養T細胞を用いた養子免疫療法による完全寛解後に、数年ごとに再発を繰り返し、がん幹細胞様の休止期がん細胞が強力な免疫療法後も残存した可能性が考えられる症例を経験したので、がん幹細胞は免疫療法にも抵抗性をもつ場合がある可能性がある<sup>17)</sup>。EMTは、E-cadherin低下による上皮細胞からの離脱、細胞運動能上昇や蛋白分解酵素分泌により、がんの浸潤転移に関与するが、われわれは、TGF- $\beta$ -Snail誘導性EMTでは、がん細胞浸潤能の亢進に加えて、TGF- $\beta$ 、IL-10、TSP-1などの免疫抑制性サイトカイン産生が亢進して、樹状細胞機能低下やTreg誘導をきたし、免疫抑制環境を構築しながら、転移が促進される可能性を見いだした<sup>18)</sup>。ヒト乳がんでは、がん幹細胞とEMTがん細胞が同一である可能性も報告されており、これらのがん細胞集団が免疫抵抗性や免疫抑制性を介して、抗腫瘍免疫応答を阻害している可能性がある。

### がん排除に向けた抗腫瘍免疫ネットワークにおける制御のポイント

近年、同定腫瘍抗原を用いて、患者体内での抗腫瘍免疫応答の定量的・定性的な解析が可能になり、がん細胞排除に至る各段階での問題点が明らかになりつつある。免疫療法臨床試験の解析結果から、効果的な免疫療法の開発のためには、抗腫瘍免疫

ネットワークにおいて、以下のポイントの改良とその適切な組み合わせによる総合的な免疫制御が必要だと考えられる<sup>19,20)</sup>(図5)。

#### 1. 内在性腫瘍抗原に対する免疫誘導が起こりやすいように抗原を放出させる生体内腫瘍破壊法の開発

がんワクチンの臨床試験で縮小しつつある腫瘍組織の解析は、免疫した抗原に対するT細胞ではなく、複数の内在性腫瘍抗原に対するT細胞が誘導されて(抗原スプレッディング)、腫瘍が拒絶される場合があり、これが生体内でのがん排除に重要である可能性が示されている。生体内腫瘍破壊法として、放射線照射や凍結融解や熱凝固法や光線療法などの物理的手段による破壊、化学療法剤や抗腫瘍抗体やオンコウイルスなどによる破壊などが検討されている<sup>21)</sup>。

#### 2. 免疫療法により適切な腫瘍抗原の同定

抗原消失が起こりくい、がん細胞の増殖や生存に関与する腫瘍抗原や、がん幹細胞(がん始原細胞)にも発現する腫瘍抗原の同定が試みられている。

#### 3. 腫瘍抗原をT細胞に提示する樹状細胞増強法の開発

Fc受容体などの生体内樹状細胞に発現する分子に腫瘍抗原を標的化する方法の開発、Hspなどを用いて樹状細胞に効果的に腫瘍抗原を取り込ませ、CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞(Th)およびクロスプライミングによりCD8<sup>+</sup>細胞傷害性T細胞(CTL)の両者に効率的に

腫瘍抗原を提示させる方法の開発<sup>22)</sup>、T細胞の活性化や免疫の方向性に重要な樹状細胞を適切に成熟活性化させるサイトカインやTLRなど異物センサー刺激分子(アジュバント)の開発が進められている。

#### 4. T細胞の生体内増殖活性化法の開発

IL-2、IL-15、IL-21などのT細胞増殖誘導サイトカイン、T細胞の副刺激因子に対する活性化抗体などを用いて、適切なヘルパーT細胞サブセットや、CTL、NK細胞、NKT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、抗腫瘍マクロファージなどの抗腫瘍エフェクター細胞の生体内増殖活性化を促進する方法の開発が行われている<sup>23)</sup>。

#### 5. がん関連組織の免疫抑制環境構築の細胞分子機構解明と克服法の開発

IFNやHDAC阻害剤などのエピジェネティック作動薬によるHLA発現の回復や、がん細胞が産生誘導するTGF- $\beta$ 、IL-10、PD-L1、IDO、COX2などの免疫抑制分子や、抗CTLA4抗体などによるTregなどの免疫抑制細胞の阻害、免疫抑制カスケードの上流であるがん細胞のシグナル阻害などの開発が進められている<sup>24)</sup>。

現在行われている複合的免疫療法の例として、シクロホスファミドやフルダラビンなどのリンパ球抑制薬剤や全身性放射線照射などの前処置により、免疫抑制性リンパ球の減少と、homeostatic expansion機構の作動による投与T細胞の生体内増殖促進環境を整備した後に、抗腫瘍培養T細胞

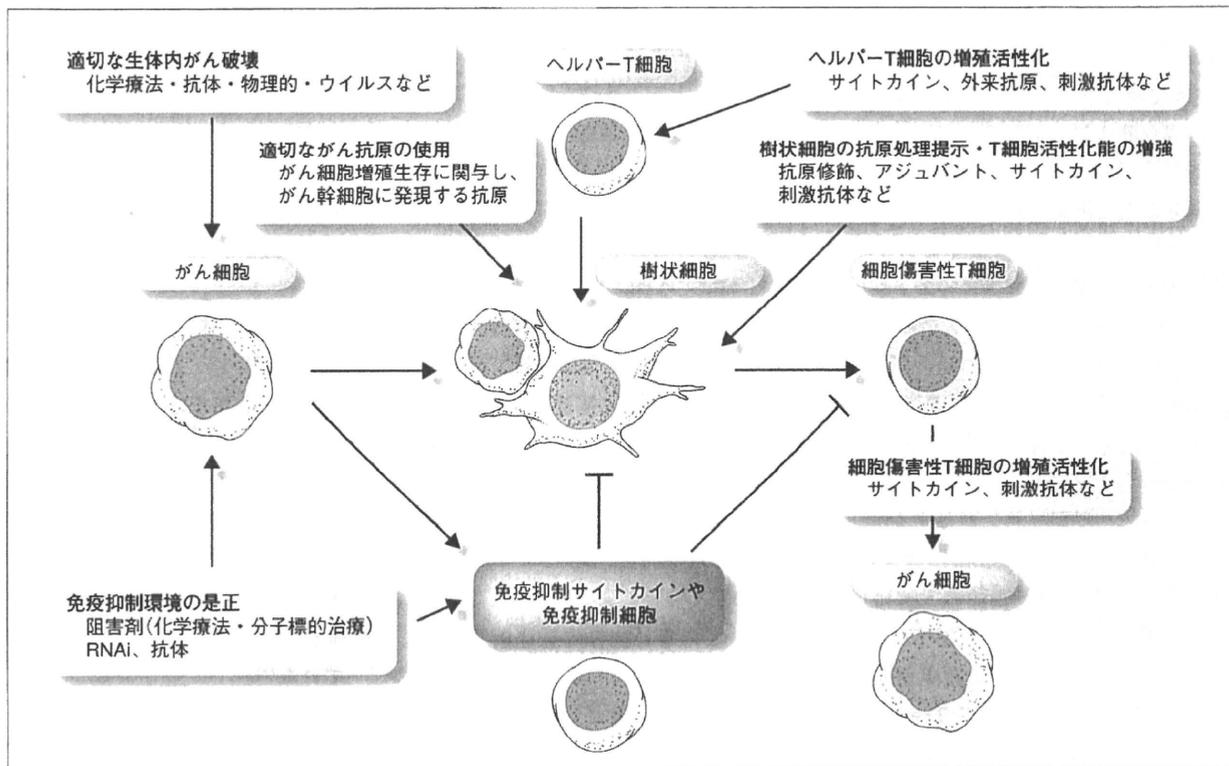


図5 抗腫瘍免疫ネットワークの総合的制御によるがん治療

効果的ながん免疫療法の開発のためには、①適切な生体内腫瘍破壊、②適切な腫瘍抗原の使用、③適切な樹状細胞の制御、④適切なヘルパーT細胞サブセットの増殖活性化、⑤適切な抗腫瘍エフェクター免疫細胞の増殖活性化、⑥適切な免疫抑制環境の是正などを組み合わせた総合的な免疫制御が必要。

を投与し、さらに、投与T細胞増殖の生体内増強を促進する腫瘍抗原ワクチンとIL-2の投与を組み合わせた免疫療法がある。この方法により、多発転移巣をもつ進行悪性黒色腫に対しても、RECIST(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors)基準で、長期生存が期待できるcomplete response(CR)症例を含む70%以上の奏効率が得られている<sup>25)</sup>。さらに、抗腫瘍T細胞から単離したT細胞受容体遺伝子を

レトロウイルスベクターで末梢血リンパ球に導入して作製した抗腫瘍リンパ球を用いた養子免疫療法も進められており、悪性黒色腫以外のがん種でも強力な抗腫瘍効果が示されつつある<sup>26)</sup>。

### おわりに

ヒトがんに対する免疫応答の仕組みにはまだまだ不明なことが多い。さら

にがん細胞ごとにその免疫学的性質も異なり、担がん生体の免疫状態も異なり、免疫療法の開発においてはさまざまなレベルでの個別化も必要であろう。しかし、近年のヒト腫瘍学の進歩により、すでに免疫抵抗性や抑制性を獲得している臨床でみられるがんに対しても、免疫による排除が期待されている。さらなるヒトがん免疫応答機構の解明と、それに基づいた総合的な免疫制御法の開発が期待される。

文献

- 1) 河上 裕. なぜ、今自然免疫か?—自然免疫系細胞によるがん進展の促進とその制御によるがん治療の可能性—. *Cancer Frontier* 2009;11: 91-9.
- 2) de Visser KE, Eichten A, Coussens LM. Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 24-37.
- 3) Joyce JA, Pollard JW. Microenvironmental regulation of metastasis. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 239-52.
- 4) Psaila B, Lyden D. The metastatic niche: adapting the foreign soil. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 285-93.
- 5) Smyth MJ, Dunn GP, Schreiber RD. Cancer immunosurveillance and immunoediting: the roles of immunity in suppressing tumor development and shaping tumor immunogenicity. *Adv Immunol* 2006; 90: 1-50.
- 6) 河上 裕. 癌に対する免疫応答と免疫療法. *日本医師会雑誌特別号「わかりやすい免疫疾患」*2005; 134: 84-5.
- 7) Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, Hwu P, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, et al. Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 8372-7.
- 8) Kawakami Y, Fujita T, Matsuzaki Y, Sakurai T, Tsukamoto M, Toda M, Sumimoto H. Identification of human tumor antigens and its implications for diagnosis and treatment of cancer. *Cancer Sci* 2004; 95: 784-91.
- 9) Kawakami Y. Human melanoma antigens recognized by CD8+ T cells. In: Stauss HJ, Kawakami Y, Parmiani G, eds. *New York: Taylor & Francis*; 2003. 3: 47-74.
- 10) 河上 裕, 谷口智憲. *がん細胞の免疫回避機構. 感染炎症免疫* 2009; 39: 24-37.
- 11) Zou W. Immunosuppressive networks in the tumour environment and their therapeutic relevance. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 263-74.
- 12) Gajewski TF, Meng Y, Blank C, Brown I, Kacha A, Kline J, et al. Immune resistance orchestrated by the tumor microenvironment. *Immunol Rev* 2006; 213: 131-45.
- 13) Sumimoto H, Imabayashi F, Iwata T, Kawakami Y. The BRAF-MAPK signaling pathway is essential for cancer-immune evasion in human melanoma cells. *J Exp Med* 2006; 203: 1651-6.
- 14) Suzuki E, Kapoor V, Jassar AS, Kaiser LR, Albelda SM. Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1+/CD11b+ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6713-21.
- 15) Obeid M, Tesniere A, Ghiringhelli F, Fimia GM, Apetoh L, Perfettini JL, et al. Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat Med* 2007; 13: 54-61.
- 16) Ueda R, Ohkusu-Tsukada K, Fusaki N, Soeda A, Kawase T, Kawakami Y, et al. Identification of HLA-A2- and A24-restricted T-cell epitopes derived from SOX6 expressed in glioma stem cells for immunotherapy. *Int J Cancer* 2010; 126: 919-29.
- 17) Wang E, Voiculescu S, Le Poole IC, El-Gamil M, Li X, Sabatino M, et al. Clonal persistence and evolution during a decade of recurrent melanoma. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 1372-7.
- 18) Kudo-Saito C, Shirako H, Takeuchi T, Kawakami Y. Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells. *Cancer Cell* 2009; 15: 195-206.
- 19) 河上 裕. *がん細胞と免疫系の相互作用の分子機構とその制御. 実験医学* 2009; 27: 2170-5.
- 20) 河上 裕. *がん免疫ネットワークの総合的制御によるがん治療の可能性. 日本臨牀「固形癌の最新治療-癌治療への新たな取組み-」*2010; 68: 1094-9.
- 21) Udagawa M, Kudo-Saito C, Hasegawa G, Yano K, Yamamoto A, Yaguchi M, et al. Enhancement of immunologic tumor regression by intratumoral administration of dendritic cells in combination with cryoablative tumor pretreatment and Bacillus Calmette-Guerin cell wall skeleton stimulation. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 7465-75.
- 22) Kutomi G, Tamura Y, Okuya K, Yamamoto T, Hirohashi Y, Kamiguchi K, Oura J, Saito K, Torigoe T, Ogawa S, Hirata K, Sato N. Targeting to static endosome is required for efficient cross-presentation of endoplasmic reticulum-resident oxygen-regulated protein 150-peptide complexes. *J Immunol* 2009; 183: 5861-9.
- 23) Uno T, Takeda K, Kojima Y, Yoshizawa H, Akiba H, Mittler RS, et al. Eradication of established tumors in mice by a combination antibody-based therapy. *Nat Med* 2006; 12: 693-8.
- 24) Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH, et al. Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors: safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3167-75.
- 25) Dudley ME, Yang JC, Sherry R, Hughes MS, Royal R, Kammula U, et al. Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5233-9.
- 26) Johnson LA, Morgan RA, Dudley ME, Cassard L, Yang JC, Hughes MS, et al. Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood* 2009; 114: 535-46.

治療の新たな取り組み 癌免疫療法

# がん免疫ネットワークの総合的制御による がん治療の可能性

河上 裕

## Cancer treatment by comprehensive regulation of anti-tumor immune network

Yutaka Kawakami

Division of Cellular Signaling, Institute for Advanced Medical Research,  
Keio University School of Medicine

### Abstract

Anti-tumor effects of current cancer vaccines are limited. However, detailed analyses of clinical trials revealed several important points to be improved towards immunological tumor rejection. These are, ① identification of tumor antigens involved in tumor cell proliferation/survival and expressed in cancer stem cells, ② development of *in situ* tumor destruction methods which release tumor antigens in an immunogenic manner to induce immune responses to multiple endogenous tumor antigens, ③ development of methods to augment antigen processing and presentation by dendritic cells, including effective adjuvants, ④ development of methods to expand CTL and helper T cells *in vivo*, ⑤ understanding of mechanisms underlying cancer induced immunosuppression and development of methods to overcome them. Comprehensive interventions on these points in the anti-tumor immune network will lead to effective cancer immunotherapy.

**Key words:** immunotherapy, tumor antigens, *in situ* tumor destruction, dendritic cells, T cells, immunosuppression

### はじめに

臨床でみられるがん細胞は、長期間かけて免疫防御機構に排除されずに増殖してきた細胞であり、免疫排除が不可能であるか、あるいは免疫原性が弱いためや免疫逃避機構 (immune evasion) のために免疫に排除されていないと考えられる。そもそも異物排除機構として発達し、自己の細胞を攻撃しない (自己免疫寛容) 免疫系が、生殖年齢を超えてから急増する、自己細胞に遺伝子異常をきたしたがん細胞を排除できる

かについては誰でも疑問に思うであろう。しかし、近年のヒト腫瘍免疫学研究により、がん細胞と宿主免疫応答の個人差により、症例ごとに状況は異なるが、進行がんであっても、免疫によるがん細胞の排除は不可能ではないことがわかってきた。

### 1. がん関連微小環境におけるがん細胞の免疫学的性質の変化と免疫抑制環境

マウス腫瘍モデルにおける検討は、がん組織では、がん細胞、免疫細胞、その他の間質細胞

との相互作用により、マクロファージや肥満細胞などの初期免疫応答細胞によるがん細胞の増殖浸潤の促進、T細胞などによる免疫排除、および免疫抵抗性ががん細胞の選択的増殖 (immune editing) などが起こることがわかっている。ヒト悪性黒色腫での詳細な解析では、がん細胞は比較的免疫誘導能が低いこと (低免疫原性、がん細胞は多数の変異ペプチドを発現するが、残存する分子の多くは低免疫原性腫瘍抗原である)、がん組織は免疫抑制環境であることがわかっている。効果的ながん免疫療法の開発のためには、これらの問題を克服する方法の開発が重要である<sup>1-5)</sup>。

## 2. ヒトがん細胞排除に向けたがん免疫ネットワークの総合的制御

近年、同定したヒト腫瘍抗原とHLAテトラマーなどを用いて、患者生体内での抗腫瘍免疫応答を定量的・定性的に解析することが可能になり、免疫操作後のがん細胞排除に至る各段階での問題点が具体的に明らかになりつつある。著者らは初期の免疫療法の臨床試験の解析結果から、効果的な免疫療法の開発のためには、抗腫瘍免疫ネットワークにおいて、以下のポイントの改良が必要だと考えている。①症例ごとに異なる免疫原性の比較的高い内在性腫瘍抗原を、免疫誘導が起こりやすい形で放出させる自己腫瘍破壊法の開発、②抗原消失を起こしにくい、がん細胞の増殖や生存にかかわる腫瘍抗原や、がん再発の原因になるがん幹細胞(がん形成細胞)にも発現する腫瘍抗原の同定、③生体内樹状細胞に腫瘍抗原を標的化する方法の開発、樹状細胞に効果的に腫瘍抗原を取り込ませ、CD4<sup>+</sup>ヘルパーT細胞(Th)およびクロスプライミングによりCD8<sup>+</sup>細胞傷害性T細胞(CTL)の両者に効率的に腫瘍抗原提示させる方法の開発、T細胞の活性化および免疫の方向性に重要な樹状細胞を適切に成熟活性化させるサイトカインやToll様受容体(TLR)など異物センサー分子を刺激する分子(アジュバント)の開発、④CTL、およびNK細胞、NKT細胞、 $\gamma\delta$ T細胞、抗腫瘍マクロファージなどのがんを最終的に排除する

抗腫瘍エフェクター細胞の増殖・活性化を促進するサイトカインや刺激分子の同定と適切な生体内増殖・活性化法の開発、⑤CTL誘導や樹状細胞活性化を促進する適切なヘルパーT細胞サブセットの同定とその増殖・活性化を促進するサイトカインや刺激分子の同定と適切な生体内増殖・活性化法の開発、⑥がん関連微小環境(がん組織、センチネルリンパ節、骨髄など)における免疫抑制環境構築の細胞分子機構の解明とその克服法の開発(図1)、これらの個々の課題を解決して、それを総合的に用いて、抗腫瘍免疫ネットワークを制御することが、効果的ながん免疫療法開発のキーである<sup>1)</sup>。

## 3. 内在性腫瘍抗原に対する免疫誘導を可能にする生体内腫瘍破壊法

がんワクチンの臨床試験で腫瘍縮小を認めた症例のがん組織の解析は、単純に免疫した抗原に対するT細胞ががん細胞を排除しているのではなく、他の内在性腫瘍抗原に対するT細胞が誘導されて(抗原スプレッディング)、腫瘍が拒絶される場合があることが判明している<sup>6)</sup>。本来、低免疫原性のがん細胞に対する免疫誘導のためには、複数の症例ごとに異なる適切な腫瘍抗原(自己がん細胞特異的な遺伝子異常に由来する自己腫瘍特異抗原や、免疫原性が比較的高い共通抗原)に対して、強力な免疫誘導を行う必要がある。そのためには、症例ごとに異なる腫瘍抗原に対して、免疫応答が起こりやすいように適切に腫瘍を生体内で破壊する方法の開発が重要である<sup>3)</sup>。

生体内腫瘍破壊法としては、放射線照射や凍結融解法や熱凝固法や光線力学的方法などの物理的手段による破壊、化学療法剤や抗腫瘍抗体やウイルスなどによる破壊があり、残念ながら、どの方法が腫瘍抗原放出後の免疫誘導を容易にするかはまだ十分に明らかになっていない。放射線照射はがん細胞アポトーシスを誘導して、その後の抗腫瘍免疫誘導が期待されている。ラジオ波などの熱凝固法は、熱ショックタンパク質の誘導により、強い免疫誘導作用を示すとの報告もあるが、マウスモデルでは、凍結融解法

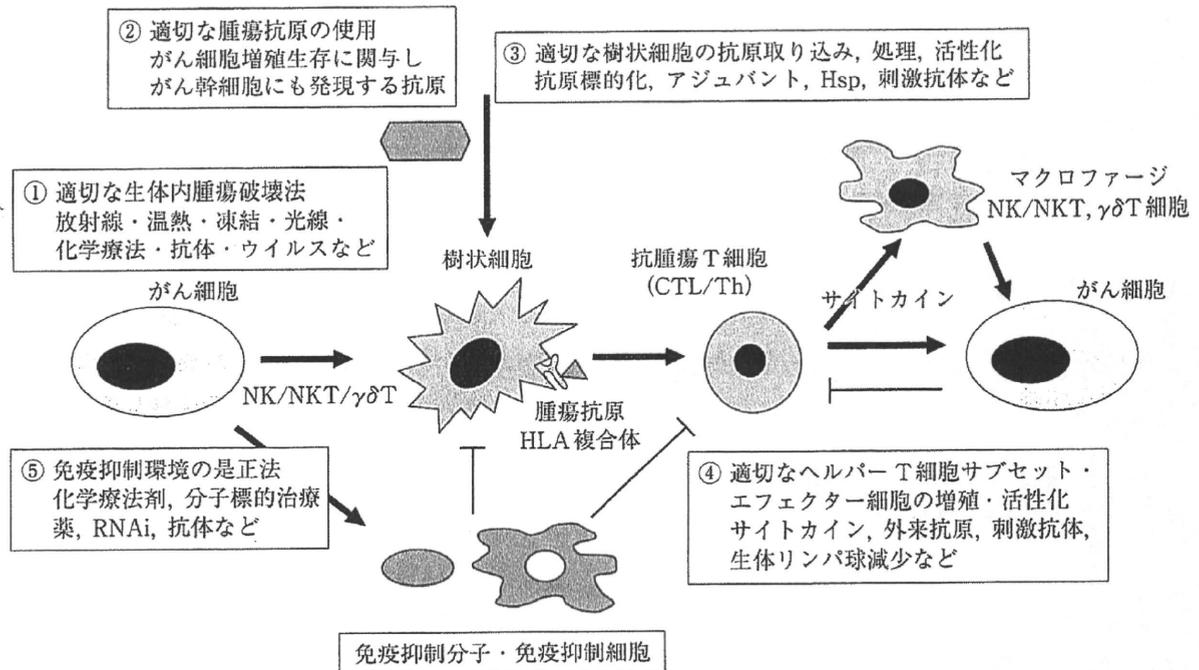


図1 抗腫瘍免疫ネットワークの総合的制御によるがん治療

効果的ながん免疫療法の開発のためには、①適切な生体内腫瘍破壊、②適切な腫瘍抗原の使用、③適切な樹状細胞の抗原取り込み・プロセッシング・成熟化、④適切なヘルパー T 細胞サブセットの増殖・活性化、⑤適切な抗腫瘍エフェクター免疫細胞の増殖・活性化、⑥適切な免疫抑制環境の是正など、総合的な免疫制御がキーである。

との差はないか、あるいは効果が低いとの報告もある<sup>7)</sup>。化学療法では、アンソラサイクリン系の薬剤は腫瘍破壊時にカルレクチンのがん細胞膜への移動を起こし、その受容体をもつ樹状細胞による腫瘍抗原の取り込みを促進することにより、免疫誘導作用が強いとの報告がある<sup>8)</sup>。著者らは、マウス腫瘍モデルで、凍結融解法、単純ヘルペスウイルス (HSV)、光線力学療法を用いた腫瘍前処置による内在性腫瘍抗原に対する免疫誘導増強作用を検討している<sup>9-11)</sup>。

#### 4. がん幹細胞にも発現し、がん細胞の増殖生存に必須の腫瘍抗原の同定

最近、化学療法抵抗性でがん再発の原因になるといわれている、いわゆるがん幹細胞にも発現し、がん細胞の増殖生存に関与する腫瘍抗原の同定が試みられ、がん幹細胞に発現する SOX2 抗原や多数のがん細胞の増殖に関与する抗原が同定され、一部臨床試験が実施されてい

る。著者らも、脳腫瘍における SOX6 や悪性黒色腫の増殖に関与しがん形成過程初期に変異が認められる共通変異 BRAF 抗原を見だし、臨床応用の可能性を検討している<sup>12)</sup>。しかし、生体内でがん幹細胞が免疫抵抗性がないかに関しては、十分に証明されていない。著者らは、T 細胞免疫療法で完全寛解になった後で3年ごとに再発する症例を経験しており、がん幹細胞は、化学療法と同じように免疫療法にも抵抗性である可能性もあり得る<sup>13)</sup>。

#### 5. 樹状細胞の抗原処理提示能の増強による抗腫瘍 T 細胞の感作増強

樹状細胞 (DC) レベルで腫瘍抗原の処理を増強し、抗腫瘍 T 細胞の活性化を促進する方法として、様々なことが試みられている。Fc 受容体などの各種 DC に発現する分子に腫瘍抗原を標的化する技術がマウスモデルで検討されている。DC のクロスプライミングなどの抗原プロセスを増強する方法として、熱ショックタンパク質

(Hsp)や各種ナノビーズなどの応用が試みられている。DCを適切に成熟活性化するために、抗CD40アゴニストや、種々の天然・人工のTLRなどの危険センサー(微生物タンパク、脂質、核酸などに対する)を刺激する分子(アジュバント)が探索・検討されているが、ヒトで画期的に良い効果を示すものはまだ見つからない。著者らも新規BCG-CWS製剤やHSVタンパク質のアジュバントとしての可能性を検討している<sup>9-11)</sup>。

## 6. 抗腫瘍エフェクター細胞やヘルパーT細胞を生体内で増殖・活性化する方法

抗腫瘍CTLなどのエフェクター細胞やヘルパーT細胞を生体内で十分に増殖・活性化する方法として、IL2, IL7, IL15, IL21などのT細胞増殖誘導サイトカイン、T細胞の副刺激分子に対する刺激抗体、上記の適切な抗原提示細胞による効率良い腫瘍抗原提示法などが検討されている。CD28などのT細胞副刺激分子に対する刺激抗体は、抗CD28抗体投与で認められたサイトカインストームが疑われる重篤な副作用を起こす可能性もあり、慎重な臨床試験の実施が必要である。ヘルパーT細胞の活性化においては、抗腫瘍応答に適切なヘルパーT細胞サブセット(Th1やTh17など)の誘導が重要である。培養T細胞を投与する養子免疫療法では、リンパ球抑制薬剤(cyclophosphamideやfludarabine)や全身性放射線照射(TBI)などの生体前処置により、リンパ球などの免疫細胞を減少させておくと、IL7やIL15の産生が関与したhomeostatic expansion機構が作動して、投与したT細胞が生体内で強く増殖できることがわかっている<sup>14)</sup>。また、投与後に生体内での増殖能が高い培養T細胞の調製法(短期間培養、T細胞受容体遺伝子導入、IL2遺伝子導入、セントラルメモリー・ナイーブタイプT細胞など)も研究されている<sup>15)</sup>。

## 7. がん関連組織での免疫抑制環境の是正

がん細胞は腫瘍抗原やHLAなど抗原提示に

かかわる分子の異常により、免疫抵抗性を示すことがある。腫瘍抗原の消失は多数の腫瘍抗原があるので、根本的な問題にはならないが、HLAの消失はT細胞治療には致命的である<sup>3)</sup>。しかし、がん種によっては、IFNやHDAC阻害剤などのエピジェネティック作動薬により、HLA発現の回復が可能なが示されている。また、がん細胞はTGF- $\beta$ などの免疫抑制分子を産生して抗腫瘍免疫応答を抑制するだけでなく、様々な免疫抑制性細胞(制御性T細胞(Treg)、寛容性樹状細胞(tolerogenic DC)、骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)、M2マクロファージ、好中球、 $\gamma\delta$ T細胞、NKT細胞、肥満細胞など)を誘導して、がん関連微小環境(がん組織、センチネルリンパ節、骨髄など)において、免疫抑制環境を構築している<sup>2)</sup>。

免疫抑制環境の是正法として、免疫抑制エフェクターであるTGF- $\beta$ やTregやPD-L1やIDOの除去・阻害法が試みられている。Treg抑制活性の阻害やT細胞活性化ネガティブフィードバック機構の阻害が期待された抗CTLA4抗体を投与した臨床試験では、一部に自己免疫反応とともに抗腫瘍効果が認められている<sup>16)</sup>。著者らはがん細胞の存在を起点として起こるこれらの免疫誘導カスケードの上流での遮断を試みている。すなわち、がん細胞の、がん遺伝子による恒常的シグナル活性化(MAPK, STAT3, NF- $\kappa$ B, Wnt/ $\beta$ -catenin, Snailなど)を、シグナル阻害剤などの分子標的薬やsiRNAで抑えることにより、複数の免疫抑制分子の産生やその後起こる複数の免疫抑制性細胞の誘導を同時抑制することが可能である<sup>17-19)</sup>。STAT3などの抑制は、がん細胞だけでなく、樹状細胞などの免疫細胞にも作用して、免疫増強作用(IL12などのサイトカイン産生亢進やがん細胞由来の免疫抑制分子に対する抵抗性増大)を示すことがわかっている。化学療法剤の中にはgemcitabineのように、免疫抑制作用が比較的弱く、MDSC減少作用を示し、むしろ抗腫瘍免疫増強作用が期待されている薬剤もある。著者らは、現在、様々な低分子化合物による免疫抑制環境是正法の免疫療法への併用を検討

している。

## 8. 総合的な免疫制御法としての最近の養子免疫療法

これらの改良を加えた総合的な免疫療法の一つとして、リンパ球抑制薬剤や全身性放射線照射(TBI)などの前処置(免疫抑制性リンパ球の減少と、homeostatic expansion 機構の作動による投与T細胞の生体内増殖増強)後に、培養抗腫瘍T細胞を投与し、腫瘍抗原ワクチン(抗原特異的T細胞増殖の増強)と高用量IL2投与(T細胞増殖刺激、様々なサイトカインをカスケード的に誘導する作用、腫瘍血管破壊作用)を併用する総合的な養子免疫療法がある。この方法により、多発転移巣をもつ進行悪性黒色腫に対しても、RECIST基準で、長期生存の期待できるCR例16%を含む72%の奏効率が得られている<sup>19)</sup>。更に、抗腫瘍T細胞から単離したがん細胞認識T細胞受容体遺伝子をレトロウイルスベクターで末梢血リンパ球に導入して作製した抗腫瘍T細胞を用いた養子免疫療法が開発され<sup>20)</sup>、悪性黒色腫だけでなく、滑膜肉腫に対しても強力な抗腫瘍効果が得られることが示されている。

### おわりに

ヒト腫瘍抗原の同定により、新しい免疫療法の臨床試験が実施評価されたが、単純ながんワクチンでは、進行がんに対する初期の臨床試験

では十分な治療効果が認められず、最近、がん免疫療法に対して否定的な意見を述べる研究者や臨床家がみられるが、現状は全く否定的な状況ではない。本稿で議論したように、がんワクチンの現状は予測されていたことであり、むしろ理論的には、進行がんに対して腫瘍抗原と不十分な不完全フロインドアジュバントだけでも少数例で抗腫瘍効果が認められていること、術後の再発予防を目指した肺癌のMAGE-A3ワクチンの第II相臨床試験で27%の再発抑制率が示されたこと、更に、上記の総合的養子免疫療法では、悪性黒色腫だけでなく、他のがん種にも強力な抗腫瘍効果がみられていることなどの現状は素晴らしいことであり、著者らは、本稿で議論した改良による治療効果増強を大変期待している。今後、抗腫瘍免疫ネットワークの総合的制御により、がんワクチン(能動免疫法)の効果増強も期待したい。しかし、同時に、個々の患者における、がん細胞の免疫原性と宿主免疫応答能には個人差も大きく、医療としては、免疫療法の効果が期待できる患者の選択を可能にする診断法や、効果が期待できる状態に近づける方法の開発が大変重要であり、著者らもNEDOプロジェクトやがん特定研究により、それらの研究を推進している。まだまだ本稿で議論した改良法は十分に開発されていないが、今後の研究継続による効果的ながん免疫療法の開発を期待したい。

### ■ 文 献

- 1) 河上 裕：がん細胞と免疫系の相互作用の分子機構とその制御。実験医学 27: 2170-2175, 2009.
- 2) 河上 裕ほか：がん細胞による免疫抑制・抵抗性の分子機構とその制御。実験医学 27: 2213-2220, 2009.
- 3) Kawakami Y, et al: Identification of human tumor antigens and its implications for diagnosis and treatment of cancer. Cancer Sci 95: 784-791, 2004.
- 4) Rosenberg SA, et al: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. Nat Med 10: 909-915, 2004.
- 5) Rosenberg SA, et al: Tumor progression can occur despite the induction of very high levels of self tumor antigen-specific CD8<sup>+</sup> T cells in patients with melanoma. J Immunol 175: 6169-6176, 2005.
- 6) Lurquin C, et al: Contrasting frequencies of antitumor and anti-vaccine T cells in metastases of a melanoma patient vaccinated with a MAGE tumor antigen. J Exp Med 201: 249-257, 2005.
- 7) den Brok MH, et al: Efficient loading of dendritic cells following cryo and radiofrequency ablation in combination with immune modulation induces anti-tumour immunity. Br J Cancer 95: 896-905,

- 2006.
- 8) Obeid M, et al: Calreticulin exposure dictates the immunogenicity of cancer cell death. *Nat Med* **13**: 54-61, 2007.
  - 9) Toda M, et al: Immuno-viral therapy of brain tumors by combination of viral therapy with cancer vaccination using a replication-conditional HSV. *Cancer Gene Ther* **9**: 356-364, 2002.
  - 10) Udagawa M, et al: Enhancement of immunologic tumor regression by intratumoral administration of dendritic cells in combination with cryoablative tumor pretreatment and Bacillus Calmette-Guerin cell wall skeleton stimulation. *Clin Cancer Res* **12**: 7465-7475, 2006.
  - 11) Kawakami Y, et al: Dendritic cell based personalized immunotherapy based on cancer antigen research. *Front Biosci* **13**: 1952-1958, 2008.
  - 12) Ueda R, et al: Identification of HLA-A2- and A24-restricted T-cell epitopes derived from SOX6 expressed in glioma stem cells for immunotherapy. *Int J Cancer* **126**: 919-929, 2010.
  - 13) Wang E, et al: Clonal persistence and evolution during a decade of recurrent melanoma. *J Invest Dermatol* **126**: 1372-1377, 2006.
  - 14) Dudley ME, et al: Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma: evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J Clin Oncol* **26**: 5233-5239, 2008.
  - 15) Gattinoni L, et al: Adoptive immunotherapy for cancer: building on success. *Nat Rev Immunol* **6**: 383-393, 2006.
  - 16) Phan GQ, et al: Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**: 8372-8377, 2003.
  - 17) Sumimoto H, et al: The BRAF-MAPK signaling pathway is essential for cancer immune evasion in human melanoma cells. *J Exp Med* **203**: 1651-1656, 2006.
  - 18) Kudo-Saito C, et al: Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells. *Cancer Cell* **15**: 195-206, 2009.
  - 19) Tsukamoto N, et al: Impairment of pDC for IFN production by the ligand for immunoglobulin-like transcript 7 (ILT7) expressed on human cancer cells. *Clin Cancer Res* **15**: 5733-5743, 2009.
  - 20) Johnson LA, et al: Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood* **114**: 535-546, 2009.

