

## Acknowledgments

We are grateful to Mrs. Yuko Hosoe and Ms. Maki Kurokawa for technical assistance. This work was supported by Grants-in-Aid for Scientific Research from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science, and Technology of Japan.

## References

- [1] B.H. Nelson, The impact of T-cell immunity on ovarian cancer outcomes, *Immunol. Rev.* 222 (2008) 101–116.
- [2] B. Liu, J. Nash, C. Runowicz, H. Swede, R. Stevens, Z. Li, Ovarian cancer immunotherapy: opportunities, progresses and challenges, *J. Hematol. Oncol.* 3 (2010) 7.
- [3] R. Yigit, L.F. Massuger, C.G. Figdor, R. Torensma, Ovarian cancer creates a suppressive microenvironment to escape immune elimination, *Gynecol. Oncol.* 117 (2010) 366–372.
- [4] D.O. Croci, M.F. Zacarias Fluck, M.J. Rico, P. Matar, G.A. Rabinovich, O.G. Scharovsky, Dynamic cross-talk between tumor and immune cells in orchestrating the immunosuppressive network at the tumor microenvironment, *Cancer Immunol. Immunother.* 56 (2007) 1687–1700.
- [5] S.A. Rosenberg, J.C. Yang, N.P. Restifo, Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines, *Nat. Med.* 10 (2004) 909–915.
- [6] R. Kim, M. Emi, K. Tanabe, Cancer immunoeediting from immune surveillance to immune escape, *Immunology* 121 (2007) 1–14.
- [7] J. Galon, A. Costes, F. Sanchez-Cabo, A. Kirilovsky, B. Mlecnik, C. Lagorce-Pages, M. Tosolini, M. Camus, A. Berger, P. Wind, F. Zinzindohoue, P. Bruneval, P.H. Cugnenc, Z. Trajanoski, W.H. Fridman, F. Pages, Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome, *Science* 313 (2006) 1960–1964.
- [8] B.C. Sheu, W.H. Kuo, R.J. Chen, S.C. Huang, K.J. Chang, S.N. Chow, Clinical significance of tumor-infiltrating lymphocytes in neoplastic progression and lymph node metastasis of human breast cancer, *Breast* 17 (2008) 604–610.
- [9] S. Ishigami, S. Natsugoe, K. Tokuda, A. Nakajo, X. Che, H. Iwashige, K. Aridome, S. Hokita, T. Aikou, Prognostic value of intratumoral natural killer cells in gastric carcinoma, *Cancer* 88 (2000) 577–583.
- [10] H. Takeuchi, Y. Maehara, E. Tokunaga, T. Koga, Y. Kakeji, K. Sugimachi, Prognostic significance of natural killer cell activity in patients with gastric carcinoma: a multivariate analysis, *Am. J. Gastroenterol.* 96 (2001) 574–578.
- [11] F.R. Villegas, S. Coca, V.G. Villarrubia, R. Jimenez, M.J. Chillón, J. Jareno, M. Zuñil, L. Callol, Prognostic significance of tumor infiltrating natural killer cells subset CD57 in patients with squamous cell lung cancer, *Lung Cancer* 35 (2002) 23–28.
- [12] K.I. Al-Shibli, T. Donnem, S. Al-Saad, M. Persson, R.M. Bremnes, L.T. Busund, Prognostic effect of epithelial and stromal lymphocyte infiltration in non-small cell lung cancer, *Clin. Cancer Res.* 14 (2008) 5220–5227.
- [13] Q. Gao, S.J. Qiu, J. Fan, J. Zhou, X.Y. Wang, Y.S. Xiao, Y. Xu, Y.W. Li, Z.Y. Tang, Intratumoral balance of regulatory and cytotoxic T cells is associated with prognosis of hepatocellular carcinoma after resection, *J. Clin. Oncol.* 25 (2007) 2586–2593.
- [14] T. Ding, J. Xu, F. Wang, M. Shi, Y. Zhang, S.P. Li, L. Zheng, High tumor-infiltrating macrophage density predicts poor prognosis in patients with primary hepatocellular carcinoma after resection, *Hum. Pathol.* 40 (2009) 381–389.
- [15] A. Ladanyi, J. Kiss, B. Somlai, K. Gilde, Z. Fejos, A. Mohos, I. Gaudi, J. Timar, Density of DC-LAMP(+) mature dendritic cells in combination with activated T lymphocytes infiltrating primary cutaneous melanoma is a strong independent prognostic factor, *Cancer Immunol. Immunother.* 56 (2007) 1459–1469.
- [16] J.S. Schleypen, N. Baur, R. Kammerer, P.J. Nelson, K. Rohrmann, E.F. Grone, M. Hohenfellner, A. Haferkamp, H. Pohla, D.J. Schendel, C.S. Falk, E. Noessner, Cytotoxic markers and frequency predict functional capacity of natural killer cells infiltrating renal cell carcinoma, *Clin. Cancer Res.* 12 (2006) 718–725.
- [17] S.J. Piersma, E.S. Jordanova, M.I. van Poelgeest, K.M. Kwapenberg, J.M. van der Hulst, J.W. Drijfhout, C.J. Melief, G.G. Kenter, G.J. Fleuren, R. Offringa, S.H. van der Burg, High number of intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes is associated with the absence of lymph node metastases in patients with large early-stage cervical cancer, *Cancer Res.* 67 (2007) 354–361.
- [18] L. Zhang, J.R. Conejo-Garcia, D. Katsaros, P.A. Gimotty, M. Massobrio, G. Regnani, A. Makrigiannakis, H. Gray, K. Schlienger, M.N. Liebman, S.C. Rubin, G. Coukos, Intratumoral T cells, recurrence, and survival in epithelial ovarian cancer, *N. Engl. J. Med.* 348 (2003) 203–213.
- [19] E. Sato, S.H. Olson, J. Ahn, B. Bundy, H. Nishikawa, F. Qian, A.A. Jungbluth, D. Frosina, S. Gnjatic, C. Ambrosone, J. Kepner, T. Odunsi, G. Ritter, S. Lele, Y.T. Chen, H. Ohtani, L.J. Old, K. Odunsi, Intraepithelial CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and a high CD8+/regulatory T cell ratio are associated with favorable prognosis in ovarian cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 102 (2005) 18538–18543.
- [20] J. Hamanishi, M. Mandai, M. Iwasaki, T. Okazaki, Y. Tanaka, K. Yamaguchi, T. Higuchi, H. Yagi, K. Takakura, N. Minato, T. Honjo, S. Fujii, Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104 (2007) 3360–3365.
- [21] K. Li, M. Mandai, J. Hamanishi, N. Matsumura, A. Suzuki, H. Yagi, K. Yamaguchi, T. Baba, S. Fujii, I. Konishi, Clinical significance of the NKG2D ligands, MICA/B and ULBP2 in ovarian cancer: high expression of ULBP2 is an indicator of poor prognosis, *Cancer Immunol. Immunother.* 58 (2009) 641–652.
- [22] F. Martin, S. Ladoire, G. Mignot, L. Apetoh, F. Ghiringhelli, Human FOXP3 and cancer, *Oncogene* 29 (2010) 4121–4129.
- [23] D. Wolf, A.M. Wolf, H. Rumpold, H. Fiegl, A.G. Zeimet, E. Muller-Holzner, M. Deibl, G. Gastl, E. Gunsilius, C. Marth, The expression of the regulatory T cell-specific forkhead box transcription factor FoxP3 is associated with poor prognosis in ovarian cancer, *Clin. Cancer Res.* 11 (2005) 8326–8331.
- [24] A. Garcia-Lora, I. Algarrá, F. Garrido, MHC class I antigens, immune surveillance, and tumor immune escape, *J. Cell. Physiol.* 195 (2003) 346–355.
- [25] J. Massague, TGFβ in cancer, *Cell* 134 (2008) 215–230.
- [26] S. Lob, A. Konigsrainer, H.G. Rammensee, G. Opelz, P. Terness, Inhibitors of indoleamine-2,3-dioxygenase for cancer therapy: can we see the wood for the trees? *Nat. Rev. Cancer* 9 (2009) 445–452.
- [27] M.J. Thun, M.M. Nambodiri, C.W. Heath Jr., Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer, *N. Engl. J. Med.* 325 (1991) 1593–1596.
- [28] Y. Iwai, M. Ishida, Y. Tanaka, T. Okazaki, T. Honjo, N. Minato, Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99 (2002) 12293–12297.
- [29] T. Okazaki, T. Honjo, PD-1 and PD-1 ligands: from discovery to clinical application, *Int. Immunol.* 19 (2007) 813–824.
- [30] M.E. Keir, M.J. Butte, G.J. Freeman, A.H. Sharpe, PD-1 and its ligands in tolerance and immunity, *Annu. Rev. Immunol.* 26 (2008) 677–704.
- [31] L. Fong, E.J. Small, Anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 antibody: the first in an emerging class of immunomodulatory antibodies for cancer treatment, *J. Clin. Oncol.* 26 (2008) 5275–5283.
- [32] M. Liu, N. Matsumura, M. Mandai, K. Li, H. Yagi, T. Baba, A. Suzuki, J. Hamanishi, K. Fukuhara, I. Konishi, Classification

- using hierarchical clustering of tumor-infiltrating immune cells identifies poor prognostic ovarian cancers with high levels of COX expression, *Mod. Pathol.* 22 (2009) 373–384.
- [33] M.B. Eisen, P.T. Spellman, P.O. Brown, D. Botstein, Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 95 (1998) 14863–14868.
- [34] Y.Y. Liu, H. Morreau, J. Kievit, J.A. Romijn, N. Carrasco, J.W. Smit, Combined immunostaining with galectin-3, fibronectin-1, CITED-1, Hectortin-1, mesothelin-1, cytokeratin-19, peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$ , and sodium/iodide symporter antibodies for the differential diagnosis of non-medullary thyroid carcinoma, *Eur. J. Endocrinol.* 158 (2008) 375–384.
- [35] S. Iida, Y. Miki, K. Ono, J. Akahira, T. Suzuki, K. Ishida, M. Watanabe, H. Sasano, Novel classification based on immunohistochemistry combined with hierarchical clustering analysis in non-functioning neuroendocrine tumor patients, *Cancer Sci.* 101 (2010) 2278–2285.
- [36] D.L. Barber, E.J. Wherry, D. Masopust, B. Zhu, J.P. Allison, A.H. Sharpe, G.J. Freeman, R. Ahmed, Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection, *Nature* 439 (2006) 682–687.
- [37] M. Stolina, S. Sharma, Y. Lin, M. Dohadwala, B. Gardner, J. Luo, L. Zhu, M. Kronenberg, P.W. Miller, J. Portanova, J.C. Lee, S.M. Dubinett, Specific inhibition of cyclooxygenase 2 restores antitumor reactivity by altering the balance of IL-10 and IL-12 synthesis, *J. Immunol.* 164 (2000) 361–370.
- [38] L. Yang, N. Yamagata, R. Yadav, S. Brandon, R.L. Courtney, J.D. Morrow, Y. Shyr, M. Boothby, S. Joyce, D.P. Carbone, R.M. Breyer, Cancer-associated immunodeficiency and dendritic cell abnormalities mediated by the prostaglandin EP2 receptor, *J. Clin. Invest.* 111 (2003) 727–735.
- [39] C. Denkert, M. Kobel, S. Pest, I. Koch, S. Berger, M. Schwabe, A. Siegert, A. Reles, B. Klosterhalfen, S. Hauptmann, Expression of cyclooxygenase 2 is an independent prognostic factor in human ovarian carcinoma, *Am. J. Pathol.* 160 (2002) 893–903.
- [40] G.P. Dunn, A.T. Bruce, H. Ikeda, L.J. Old, R.D. Schreiber, Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape, *Nat. Immunol.* 3 (2002) 991–998.
- [41] J.R. Brahmer, C.G. Drake, I. Wollner, J.D. Powderly, J. Picus, W.H. Sharfman, E. Stankevich, A. Pons, T.M. Salay, T.L. McMiller, M.M. Gilson, C. Wang, M. Selby, J.M. Taube, R. Anders, L. Chen, A.J. Korman, D.M. Pardoll, I. Lowy, S.L. Topalian, 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.* 28 (2010) 3167–3175.
- [42] R.S. Midgley, C.C. McConkey, E.C. Johnstone, J.A. Dunn, J.L. Smith, S.A. Grumett, P. Julier, C. Iveson, Y. Yanagisawa, B. Warren, M.J. Langman, D.J. Kerr, Phase III randomized trial assessing rofecoxib in the adjuvant setting of colorectal cancer: final results of the VICTOR trial, *J. Clin. Oncol.* 28 (2010) 4575–4580.

## 各論

# 卵巣癌の播種・進展と免疫環境との 関連分子を標的とした治療法の開発

万代昌紀\* 濱西潤三\* 安彦 郁\* 松村謙臣\*  
馬場 長\* 小阪謙三\* 吉岡弓子\* 小西郁生\*

卵巣癌を含む悪性腫瘍の播種・進展に免疫がどのように関与しているかは、大変興味深く、かつ重要な問題であるが、複雑な現象であることもありその解明は進んでいない。しかし、近年、癌の転移と密接に関連していると考えられている、上皮間葉移行 (EMT) や低酸素環境、がん幹細胞といった事柄に腫瘍免疫が深く関与していることを示唆する知見がみられるようになっており、癌は転移に際して、免疫系に対する防御機能をも得ている可能性がある。逆にこのような現象を明らかにすれば、将来的に播種・転移の予防を目指した免疫療法が成立する可能性も考えられる。

## 1. 腫瘍免疫とは

癌に対する免疫、いわゆる腫瘍免疫は大きく自然免疫と獲得免疫に分類される。自然免疫を担うのは natural killer (NK) 細胞であり、一方、獲得免疫は主に CD8T 細胞、別名、細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) によって担われる。腫瘍が発生する過程においては、自然免疫がその抑制・排除に重要な働きを示すが、腫瘍がある程度大きくなると、その抑制に最も効果を持つのは CD8T 細胞であると考えられており、したがって現在の免疫療法の多くは腫瘍特異的な CD8T 細胞をいかに活性化するか、ということ念頭にデザインされることが多い。

近年の基礎免疫学の進歩から免疫系はもともと免疫寛容状態が default であると考えられるようになってきた。すなわち、食物などによって体内に取り込まれる様々な異物は、免疫が拒絶してはならないものなので、取り込む際に免

疫系は免疫寛容を常に誘導し続けているということがわかってきている。もともと半自己である腫瘍に対する有効な免疫を惹起しようとする、それなりに強力な免疫賦活が必要だということになる。さらに免疫寛容を成立させるために免疫系は多種類の負の調節系を有していることも明らかになってきた。制御性 T 細胞の存在がまず認知されたが、そのほかにも抑制性の樹状細胞やマクロファージ、骨髄由来抑制性細胞 (myeloid derived suppressor cell; MDSC) など、多くの種類の免疫抑制細胞が同定されており、また、腫瘍免疫の担い手である CD8T 細胞においても、CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4) や PD-1 (programmed cell death-1) といった分子を介するシグナルが免疫能の不活化をもたらすことが明らかになっている。このような免疫抑制のメカニズムは自己免疫を防ぐという意味では生理学的に非常に重要な役割を演じているのだが、癌にとっては好都合であり、これを利用して免疫系の攻撃から逃

\* Masaki Mandai, Junzo Hamanishi, Iku Yasuhiko, Noriomi Matsumura, Tsukasa Baba, Kenzo Kosaka, Yumiko Yoshioka, Ikuo Konishi 京都大学大学院医学研究科婦人科学産科学講座

れようとする、『免疫逃避機構』の存在が近年、注目されるようになってきた<sup>1)</sup>。

腫瘍免疫を考える際に、全身における免疫と局所における免疫を区別して考える必要があることも最近、認識されるようになってきた。すなわち、癌ワクチンなどの免疫療法で全身免疫を強力に活性化しても、なかなか抗腫瘍効果に結びつかないのは、腫瘍の局所で上記の免疫逃避機構が働いているために宿主の免疫の力が腫瘍にまで及ばないのだと考えられる。このような状態では、局所での免疫逃避機構を打破する免疫療法を同時に行わなければ臨床的な抗腫瘍効果を得るのは難しいということになる。

## 2. 卵巣癌における局所免疫の意義

われわれはこれまでに卵巣癌における局所免疫状態に関して詳細に検討してきた。すなわち、まず、卵巣癌患者の病理標本を用いて、腫瘍局所における免疫細胞の数を免疫染色で検討したところ、腫瘍内に浸潤したCD8T細胞の数が多き患者の予後は有意に良好であることを見出した<sup>1)</sup>。他のグループからも同様の報告が相次いでいることから、腫瘍内浸潤CD8T細胞数は腫瘍局所の免疫状態を評価する最も良い指標の一つと考えられる。次に症例ごとの局所免疫の差異がどのような因子によってもたらされるか、腫瘍側が発現する因子を検索してみた。その結果、もともとは樹状細胞などが発現しているT細胞免疫を抑制する働きがあるPD-ligand (PD-L)1分子を卵巣癌の多くが発現しており、この発現が強い症例ではCD8T細胞の腫瘍への浸潤が少なく、患者の予後も不良であった<sup>1)</sup>。同様に免疫抑制に関与すると考えられるCoxの発現<sup>2)</sup>や、UL16 binding protein (ULBP) 2の発現<sup>3)</sup>も腫瘍浸潤CD8+T細胞数と逆相関するとともに予後不良因子であることが明らかとなった。そこでこれら複数因子を同時に解析してみると、いずれかの因子を発現する卵巣癌は予後不良であり、一方、いずれも発現しない卵巣癌においては免疫細胞の浸潤が有意に多く認められ、かつ予後良好であった<sup>4)</sup>。以上のこと

から、卵巣癌細胞は様々な免疫抑制因子を腫瘍局所で発現し、そのことによって局所の微小免疫環境を負に抑制している、すなわち、免疫逃避機構を発動していることが明らかとなった。

## 3. 卵巣癌の転移と腫瘍免疫

腫瘍の転移に対して免疫がどのように関与しているかという研究は、腫瘍免疫や転移単独の研究に比べると非常に乏しい。両者ともにそうでなくても複雑な現象であり、その組み合わせを研究するのは難しいからであろう。しかし、最近、腫瘍の転移という局面において免疫が重要な役割を果たしていることを示す知見が少しずつ出てきつつある。腫瘍の転移において、上に示した自然免疫と獲得免疫のいずれが重要な役割を果たしているか、あるいは全身免疫と局所免疫のいずれが重要かということは非常に興味深い問題であるが、現時点では明らかではない。転移という現象は、すでに確立した腫瘍から起こっているという点からみて、獲得免疫・局所免疫が密接に関係していることが示唆されるとともに、さらに転移先で新たに腫瘍を形成する過程では自然免疫や全身免疫が防御的な役割を果たしている可能性も想像される。

## 4. 腫瘍の転移形質が腫瘍免疫に及ぼす影響

転移と免疫の関係を考える上で、最近、注目されている興味深い知見として癌の転移形質と免疫に対する抵抗性の関係が挙げられる。下記の上皮間葉移行や低酸素耐性、がん幹細胞化などは癌が転移を起こしやすくなる状態と考えられているが、そのような場合に癌は同時に免疫にも抵抗性になる可能性がある(図1)。そのメカニズムはまだ明らかではないが、転移という点では癌にとって合目的的な変化であることは確かである。

### ■ 上皮間葉移行 (epithelial mesenchymal transition ; EMT) と腫瘍免疫の関連

EMTは癌が転移を起こす際に獲得する重要な形質である。Kudo-Saitoらは、EMTに重要な転写因子であるSnailをマウスおよびヒトの

メラノーマ細胞に遺伝子導入し、免疫との関連を検討した。EMTを導入したメラノーマ細胞はEカドヘリンの減弱やファイブロネクチンの増加、形態の変化など、EMTの特徴的な所見を示した。この細胞は、有意にTGF- $\beta$ やTSP1を分泌し、マウス脾細胞と共培養したところ、CD4+Foxp3+の制御性細胞を誘導した。さらにこの細胞をマウスに静注したところ、有意に多くの肺転移を形成した。以上の結果から著者らはSnailによって誘導されたEMTは周囲の免疫状態を抑制することによっても転移を促進しているのではないかと結論づけている。実際、siRNAなどでSnailを抑制すると、癌は免疫に感受性になり、マウスの生存も延長した<sup>5)</sup>。

## 2 低酸素と腫瘍免疫の関連

原発巣の低酸素状態は、癌が転移を起こす重要な契機と考えられている。Weiらは、グリオブラストーマ細胞を低酸素状態におくと、T細胞の増殖・活性化を抑制し、Foxp3+の制御性T細胞を誘導することを見出した<sup>6)</sup>。また、Nomanらは低酸素下におかれた肺癌細胞がSTAT3を介してCTLによる攻撃に耐性になることを報告した<sup>7)</sup>。

Barsoumらの検討では、前立腺癌細胞DU145や乳癌細胞MDA-MB-231において、低酸素状態は細胞表面のMICA分子の発現を減弱させたが、HIF-1 $\alpha$ をknockdownすると、この効果は失われた。MICA分子はNK細胞の攻撃の標的であることから、NK細胞による細胞障害アッセイを行ったところ、低酸素下ではこれらの細胞はIL2で活性化されたリンパ球による攻撃に耐性を示したが、HIF-1 $\alpha$ -knockdown株ではその効果は弱まった。すなわち、低酸素によって癌細胞はHIF-1 $\alpha$ を介して自然免疫に対する耐性を獲得する可能性が示唆された<sup>8)</sup>。また、Finkらは数種の肝癌細胞に対するNK活性を様々な酸素濃度下で測定し、低酸素下ではNK活性が抑制されることを示した<sup>9)</sup>。このように低酸素下におかれた癌細胞は何らかの機序で免疫抵抗性を獲得する可能性がある。

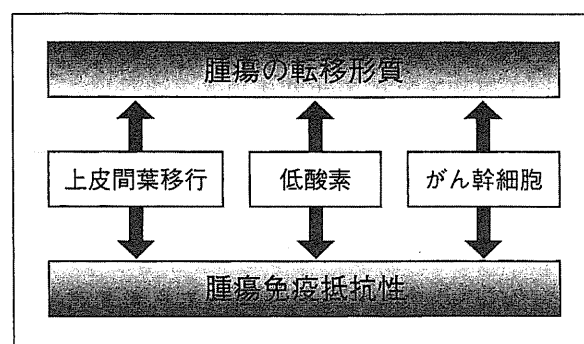


図1 腫瘍の転移形質と免疫抵抗性は共通する要因によってもたらされる？

## 3 がん幹細胞 (cancer stem cell ; CSC) と腫瘍免疫の関連

現在、腫瘍の転移におけるがん幹細胞の役割が注目されている。Chenらは、UP-LN1癌細胞株(原発不明)中で浮遊している細胞群Fと接着している細胞群Aを分離し、その形質を検討したところ、F群がよりCSCの性格を強く持つことを見出した。次にこの2群を免疫学的に検討したところ、F群はNK細胞に対して抵抗性であり、IFN- $\gamma$ に反応してCXCR4を発現する性格を有していた<sup>10)</sup>。すなわち、CSCは通常の癌細胞よりも免疫に抵抗性を有していて、そのために転移を起こしやすい可能性がある。

一方で、もし、CSCに対する免疫治療が可能となれば、より確実に転移や再発が防げる可能性がある。HirohashiらはCSCに対しても免疫応答が成り立つことから、これを標的とした免疫療法の可能性を示唆している<sup>11)</sup>。Laiらは最近、 $\gamma\delta$  T cellsが卵巣癌細胞を効果的に攻撃し、化学療法感受性を高めることを報告した<sup>12)</sup>。またWengらは、DCと卵巣癌CSCの融合細胞をワクチンとすることで卵巣癌CSCに対するCTLを誘導できることを示した<sup>13)</sup>。

## 5. 転移を標的とした免疫療法

転移と免疫の関連が未解決である現状では、明確に腫瘍の転移を抑制することを目的とした免疫療法の研究はほとんどない。しかしながら、免疫治療によって転移を抑制することができたという動物実験は多く報告されている。

Yoshiuraらは血管内皮細胞をワクチンとして利用することでB16メラノーマの肺転移を抑制した<sup>14)</sup>。Suckowらは、自家腫瘍ワクチンを用いてラットの前立腺癌の転移を抑制した<sup>15)</sup>。KomaruらはDCワクチンでマウス神経芽腫の肺転移を抑制できることを示した<sup>16)</sup>。

われわれはマウス卵巣癌細胞 HM-1 の肺転移モデルおよび腹膜播種モデルを用いて、転移巣における免疫逃避機構を打破する免疫治療モデルを作ることを試みた。腫瘍血管が新生される際に血管内皮前駆細胞 (Endothelial Progenitor Cell; EPC) が盛んに取り込まれることを利用して、EPC細胞にケモカイン遺伝子 CCL19 を導入して、これを静脈内投与することで転移巣を標的しうるキャリア細胞を作製した。これをマウス卵巣癌 HM-1 とともに皮下に同時投与すると、腫瘍内の CD8T 細胞浸潤が有意に増加し、腫瘍増殖抑制効果も認めた。そこで HM-1 を尾静脈から注入して肺に転移巣を形成させた後、CCL19 を導入した EPC 細胞を静脈内投与し、治療効果を検討したところ、有意に生存期間が延長した。さらに HM-1 の腹膜播種モデルでも、CCL19-EPC 細胞の投与にて有意に生存期間の延長を認めた。以上から卵巣癌の遠隔転移や播種巣における免疫逃避機構を打破し、免疫微小環境を活性化するという方法も転移の治療法として有効な可能性が示された<sup>17)</sup>。

臨床的にもいくつかの免疫療法が転移を抑制する効果がある可能性が示されている。Kaumayaらは、HER2エピトープに対するキメラ抗体を用いた免疫療法で5例中2例の進行卵巣癌にSDの効果を認めた<sup>18)</sup>。Leffersらはp53に対するワクチンを用いて20例中2例の卵巣癌患者でSDを認めた<sup>19)</sup>。しかしながら、いずれの臨床研究も少数例に対するもので、化学療法後の再発卵巣癌が対象とはいえ、十分な効果とはいえない。

癌の治療において、転移の制御は最重要のテーマであること、上記のように転移と腫瘍免疫は密接にかかわっているらしいことを考慮すると、今後、転移抑制を目的とした免疫療法は

もっと考慮されてもいいのではないかと思われる。そのためには、転移における免疫の関与を詳細に解明する基礎研究が欠かせず、そのメカニズムが明らかとなって初めてこれを標的とした効果的な抗転移免疫療法が開発できることが期待される。

## 文 献

- 1) Hamanishi J et al : Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 3360-3365, 2007
- 2) Liu M et al : Classification using hierarchical clustering of tumor-infiltrating immune cells identifies poor prognostic ovarian cancers with high levels of COX expression. *Mod Pathol* 22 : 373-384, 2009
- 3) Li K et al : Clinical significance of the NKG2D ligands, MICA/B and ULBP2 in ovarian cancer : high expression of ULBP2 is an indicator of poor prognosis. *Cancer Immunol Immunother* 58 : 641-652, 2009
- 4) Hamanishi J et al : The comprehensive assessment of local immune status of ovarian cancer by the clustering of multiple immune factors. *Clin Immunol* 141 : 338-347, 2011
- 5) Kudo-Saito C et al : Cancer metastasis is accelerated through immunosuppression during Snail-induced EMT of cancer cells. *Cancer Cell* 15 : 195-206, 2009
- 6) Wei J et al : Hypoxia potentiates glioma-mediated immunosuppression. *PLoS One* 6 : e16195, 2011
- 7) Noman MZ et al : Blocking hypoxia-induced autophagy in tumors restores cytotoxic T-cell activity and promotes regression. *Cancer Res* 71 : 5976-5986, 2011
- 8) Barsoum IB et al : Hypoxia Induces Escape from Innate Immunity in Cancer Cells via Increased Expression of ADAM10 : Role of Nitric Oxide. *Cancer Res* 71 : 7433-7441, 2011
- 9) Fink T et al : Natural killer cell-mediated basal and interferon-enhanced cytotoxicity against liver cancer cells is significantly impaired under in vivo oxygen conditions. *Scand J Immunol* 58 : 607-612, 2003
- 10) Chen HC et al : Induction of metastatic can-

- cer stem cells from the NK/LAK-resistant floating, but not adherent, subset of the UP-LN1 carcinoma cell line by IFN- $\gamma$ . *Lab Invest* 91 : 1502-1513, 2011
- 11) Hirohashi Y et al : Immune response against tumor antigens expressed on human cancer stem-like cells/tumor-initiating cells. *Immunotherapy* 2 : 201-211, 2010
  - 12) Lai D et al : Human ovarian cancer stem-like cells can be efficiently killed by  $\gamma\delta$  T lymphocytes. *Cancer Immunol Immunother* 2011 [Epub ahead of print]
  - 13) Weng D et al : Induction of cytotoxic T lymphocytes against ovarian cancer-initiating cells. *Int J Cancer* 2010 [Epub ahead of print]
  - 14) Yoshiura K et al : Inhibition of B16 melanoma growth and metastasis in C57BL mice by vaccination with a syngeneic endothelial cell line. *J Exp Clin Cancer Res* 28 : 13, 2009
  - 15) Suckow MA et al : Inhibition of prostate cancer metastasis by administration of a tissue vaccine. *Clin Exp Metastasis* 25 : 913-918, 2008
  - 16) Komaru A et al : Sustained and NK/CD4+ T cell-dependent efficient prevention of lung metastasis induced by dendritic cells harboring recombinant Sendai virus. *J Immunol* 183 : 4211-4219, 2009
  - 17) Hamanishi J et al : Activated local immunity by CC chemokine ligand 19-transduced embryonic endothelial progenitor cells suppresses metastasis of murine ovarian cancer. *Stem Cells* 28 : 164-173, 2010
  - 18) Kaumaya PT et al : Phase I active immunotherapy with combination of two chimeric, human epidermal growth factor receptor 2, B-cell epitopes fused to a promiscuous T-cell epitope in patients with metastatic and/or recurrent solid tumors. *J Clin Oncol* 27 : 5270-5277, 2009
  - 19) Leffers N et al : Immunization with a P53 synthetic long peptide vaccine induces P53-specific immune responses in ovarian cancer patients, a phase II trial. *Int J Cancer* 125 : 2104-2113, 2009

## 特集

## 婦人科がんの Molecular Biology

## 11. cancer stem cell

万代昌紀\*・馬場 長\*・松村謙臣\*・小西郁生\*  
京都大学医学研究科婦人科学産科学\*

## 要旨

cancer stem cell という概念は、癌細胞中に自己複製能・多分化能をもち、腫瘍の形成・維持に必須の細胞があることを想定したものである。cancer stem cell は再発・抗がん剤耐性を克服し、癌を完治するために重要なターゲットであると考えられている。しかしながら婦人科領域を含めた固形癌では、その定義・生物学的性格・意義ともにまだ十分に確立されておらず、臨床応用のためにはさらに基礎的な検討が必要である。

**Key Words** cancer stem cell, 卵巣癌, 子宮体癌

新しい概念が想像される時に言葉が独り歩きすることはよくある。cancer stem cell (CSC) という言葉はこの数年で腫瘍の分野では知らない者はいないくらいに有名になったが、改めて“その本質は？その臨床的意義は？”と聞かれると、なかなか明確には答えにくい。本稿では、改めて CSC という概念とその意味について考察してみたい。

癌を顕微鏡で見ると、その多くは形態の異なる癌細胞で構成されており、核異型や分化の程度も場所や細胞によってかなり異なっているように見える。この癌の形態的多様性は遺伝子の不安定性や微小環境によって引き起こされるとも考えられるが、癌細胞自体が体内で持続的に分化しており、それをある一時点で観察するために多様性があるように見えるとも考えられる。このような癌細胞の分化モデルは仮説と

しては古くからあるが、この10年間にその分化のおおもとになるべき幹細胞、すなわち CSC が実際に同定され、その性質が調べられるようになったことで、一躍脚光を浴びることになった、と同時に、様々な誤解や混乱も引き起こしているのが現状である。

## CSC の定義とその検証法

現在、一般的に CSC の定義として受け入れられているのは、①自己複製能がある、②様々な phenotype の腫瘍細胞から構成された腫瘍そのものを再生することができる、③腫瘍細胞のなかでごくわずかな割合しか存在しない、④造腫瘍能をもたない細胞にも分化する多分化能をもつ、⑤特異的な分化マーカーを発現する、といった特徴を満たすものである。このなかでも



特に①と②は必須のものとされている。

そこで、CSCを同定したことを示すためには、その細胞が①、②をともに満たすことを証明する必要があるが、このための gold standard とされている方法が、NOD/SCID マウス等での継代移植である。すなわち、マウスで3~4代以上、継代できれば①、②を満たしているとみなされている。しかしながら、この方法自体にも移植する場所での間質細胞の影響といった本質的な問題とともに、アッセイに時間がかかり過ぎるといった実際的な問題があり、もう少し high-throughput なアッセイ法の開発が望まれる。このため *in vitro* でのアッセイ法である、sphere assay, serial colony-forming unit assay などが用いられている。Zhang らは、漿液性卵巣癌から足場非依存性増殖を手掛かりに CSC を分離し、これが sphere を形成、幹細胞のマーカーを発現し、かつ造腫瘍能を有することを示した<sup>1)</sup>。しかし、たとえば乳癌の CSC は sphere assay で sphere を形成しないなど、これらの性質だけで CSC とするには、問題が多い。

一方、CSC を分離同定する方法として、Hoechst dye の排出によって規定された SP (side population) 分画という概念もよく用いられる。ABC トランスポーターを介して色素を細胞外に排出する能力が亢進している幹細胞の性質を利用したこの方法により、多くの癌腫から CSC が *in vitro* で同定された。Hirschmann-Jax らは 2004 年に卵巣癌細胞株である SK-OV-3, PA-1 中の SP 細胞を同定し、これに多剤耐性遺伝子である p-glycoprotein が発現していることを示した<sup>2)</sup>。Szotek らは、ヒト卵巣癌細胞株 MOVCAR 等から SP 細胞を分離し、これらが non-SP 細胞に比べて、より少数で早期に癌を形成することを示した<sup>3)</sup>。また、Moserle らは卵巣癌患者から樹立した細胞から SP 細胞を分離し、これが non-SP に比べて高

い増殖能、低いアポトーシスを示し、かつ造腫瘍能が高いことを報告した<sup>4)</sup>。一方、子宮内膜癌においても、Kato らはヒトやラットの内膜癌細胞から SP 細胞を分離同定し、これらが自己複製能・造腫瘍能を有していること、さらには、癌の間質細胞にも分化しうる可能性を示した<sup>5)</sup>。このように、SP 細胞は CSC の性格をもつものが多く、その同定に有用ではあるが組織によっては SP 分画に CSC がほとんど含まれていないこともあり、また、CSC 以外の細胞がここに含まれることもあるので、やはり分離した細胞に機能解析を行って、CSC であることを確認する必要がある。

CSC に特有のマーカー、特に細胞表面マーカーを見つけることができれば、flow cytometry 等で簡便に分離・解析できるので、この探索は CSC 研究で現在最も盛んに研究されているテーマの一つである。CD133, CD44, Sca1, Thy1 等が CSC のマーカーとして報告されている。様々な癌腫で最も広く用いられているのは CD133 であり、Ferrandina らは卵巣癌組織では良性卵巣腫瘍等と比べて CD133 陽性細胞の割合が高いことを報告した<sup>6)</sup>。Baba は卵巣癌細胞株を用いて、CD133 陽性、陰性細胞を分離し、陰性細胞からは陰性細胞のみが増殖するが、陽性細胞からは陽性細胞・陰性細胞の両者が産生されること、後者はヌードマウスでより高い造腫瘍能を示し、かつシスプラチン抵抗性であることを示した<sup>7)</sup>。子宮内膜癌においても、Rutella らは CD133 陽性細胞が造腫瘍能や化学療法抵抗性といった CSC の性格を示すことを報告した<sup>8)</sup>。一方、Bapat らは卵巣癌の腹水から分離した CD44 陽性細胞が、また Deng らは ALDH1 陽性の卵巣癌細胞が、それぞれ CSC の性格をもっていることを報告した<sup>9)10)</sup>。このような特異的な細胞表面マーカーの探索は現在も精力的に続けられているが、ある癌では CSC のマーカーとして使えても、別の癌で

表1 様々な cancer stem cell で報告されているマーカー

腫瘍	マーカー
卵巣癌	CD133 <sup>+</sup> , CD44 <sup>+</sup> , CD44 <sup>+</sup> CD117 <sup>+</sup> , CD44 <sup>+</sup> MYD88 <sup>+</sup> , ALDH-1 <sup>+</sup>
子宮内膜癌	CD133 <sup>+</sup> ,
乳癌	CD44 <sup>+</sup> CD24 <sup>-/low</sup> , CD133 <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> CXCR4 <sup>+</sup> , ALDH-1 <sup>+</sup>
グリオブラストーマ	CD133 <sup>+</sup> , SSEA-1 <sup>+</sup>
前立腺癌	CD44 <sup>+</sup> $\alpha$ 2 $\beta$ 1 <sup>high</sup> CD133 <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> CXCR4 <sup>+</sup>
メラノーマ	CD20 <sup>+</sup> , ABCB5 <sup>+</sup>
肺癌	Sca-1 <sup>+</sup> , CD45 <sup>-</sup> , PECAM <sup>-</sup> , CD34 <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> CXCR4 <sup>+</sup>
大腸癌	CD133 <sup>+</sup> , EpCAM <sup>+</sup> CD44 <sup>+</sup> CD166 <sup>+</sup>
膵臓癌	EpCAM <sup>+</sup> CD44 <sup>+</sup> CD24 <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> , CD133 <sup>+</sup> CXCR4 <sup>+</sup> , ALDH-1 <sup>+</sup>
頭頸部癌	CD44 <sup>+</sup> BMI-1
肝臓癌	CD133 <sup>+</sup> , CD90 <sup>+</sup>

はそうでなかったり、マーカーを発現する癌細胞のごく一部だけが CSC であつたりと、現時点で普遍的で特異的なものはまだ見つからない(表1)。

さらに最近では、多くの遺伝子発現の組み合わせや、細胞内シグナルのパターンから、癌細胞の幹細胞らしさ、“stemness”を規定しようという試みも行われている。CSC とは一体何かという本質的な疑問に答えるためにも、機能的特徴と前述したマーカーの遺伝子発現を結び付ける研究の発展が期待される。

## CSC 研究のトピック

### 1. CSC の起源

CSC がそもそも組織の正常幹細胞の癌化によってできるのか、それともより分化した細胞が癌化する段階で幹細胞としての性格を獲得して CSC になるのかは、発癌を考えるうえで重要な問題である。組織幹細胞は比較的細胞の寿命が長く、アポトーシス抵抗性があることから遺伝子変異のターゲットになりやすく、また、自己複製能によってこの遺伝子変異を次の世代

の細胞に伝えてしまうので、一般的に発癌の起源になりやすいのではないかと考えられている。一方、組織の前駆細胞や、さらには成熟細胞からでも癌化の過程で CSC が生じる可能性もある。実験的には Cozzio らはマウス白血病モデルを用いて造血幹細胞からも骨髄前駆細胞からも同じような phenotype の白血病 CSC が生じることを示した<sup>11)</sup>。すなわち、必ずしも組織の幹細胞が癌化するのではなくても、癌化の過程で何らかの re-programming が生じて幹細胞的な性格を帯びたものが CSC となりうる可能性を示している(図1)。しかしながら、固形癌、特に実際の臨床的な癌で同様の現象があるかどうかは不明である。

### 2. CSC と正常幹細胞の類似性と相違

前述の項目とも関連するが、CSC がどの程度、厳密にいわゆる正常幹細胞との共通性を有しているかは CSC の本質をとらえるうえで重要である。もともと癌(化)において重要と考えられていた幾つかの因子やそれを含むシグナル、すなわち catenin/Wnt, PTEN/Akt 等が正常組織の幹細胞の機能において重要な役割もっていることが近年明らかになってきてい

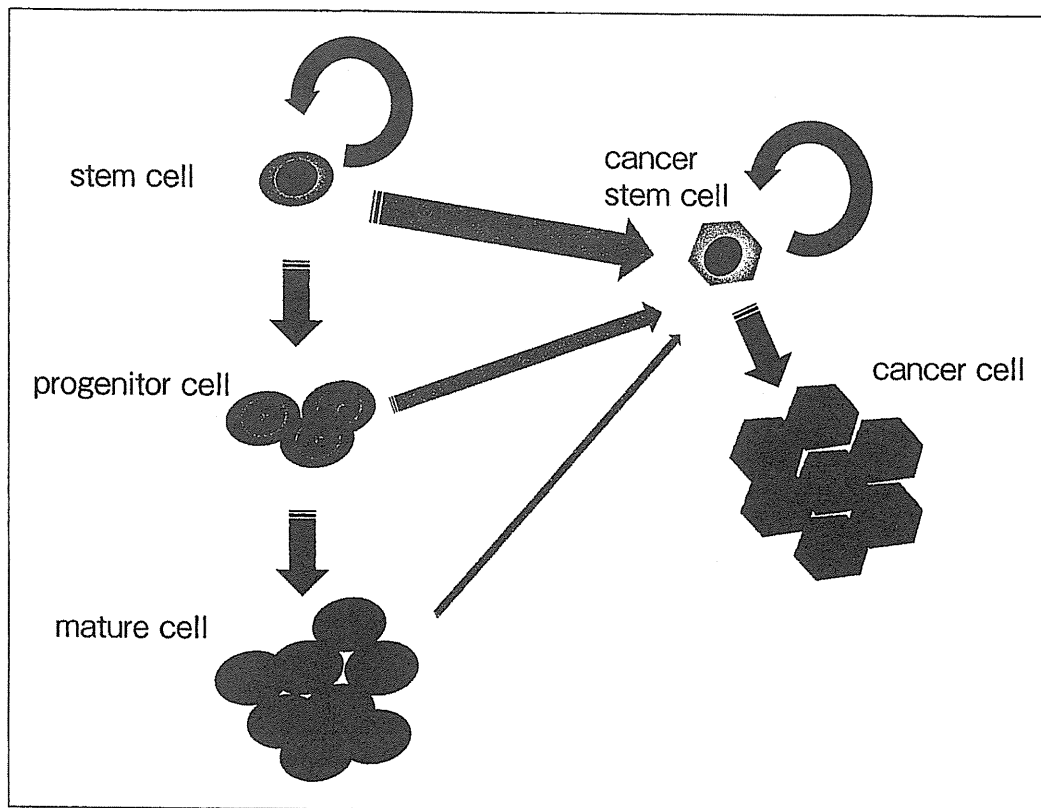


図1 cancer stem cell の起源

る。しかしながら、たとえばマウスの白血病モデルでは PTEN の欠失によって正常造血幹細胞は排除されるが、腫瘍の前駆細胞は逆に増殖することが示されている。すなわち同じシグナルに対する反応が正常幹細胞と CSC で異なっている可能性があり、これを利用して CSC のみに特異的な治療が可能かもしれない<sup>12)</sup>。

### 3. CSC と微小環境

正常幹細胞がその機能維持に微小環境、特に niche とよばれる特殊な環境に依存していることはよく知られているが、CSC も同様に微小環境に依存し、また、それによって CSC の性格や behavior も異なってくるのがわかってきた。正常幹細胞における niche は、自己複製をコントロールし発癌を防ぐ役割を果たしているが、癌ではその性質が変化し、浸潤や転移に利用されている可能性があり、さらに最近では stem cell niche そのものの変異が発癌につながるという仮説も唱えられている。

## CSC 研究の臨床的意義

CSC が注目されているのは、腫瘍学における基礎生物学的な意義もさることながら、さらにこれが臨床面においても癌治療の鍵を握っていると考えられているからである。前述したように、CSC はアポトーシス抵抗性や抗がん剤抵抗性といった臨床的に悪性度と関連する特徴を示すことが多い。さらには、CSC は 1 個あるいは少数個の細胞から腫瘍を形成することができると考えられているため、化学療法後の再発、寛解後の再発等において重要な役割を果たすと考えられている。このような点から、最近では癌の大部分を占める non-CSC ではなく、割合としてはごく少数の CSC をターゲットとして治療し、これを制御できれば non-CSC は分化しつつ自然に消滅するのではないかという考え方に基づいた治療法が考案されている (図

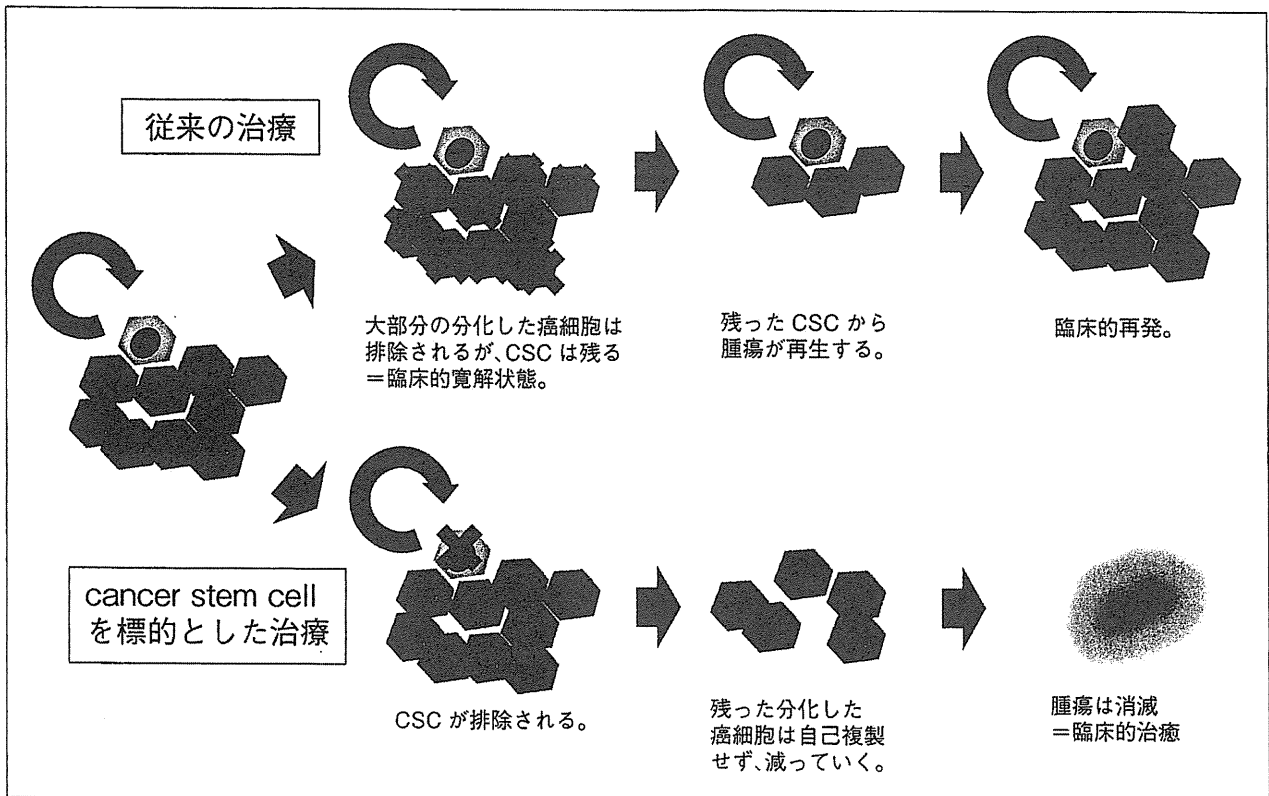


図2 cancer stem cell を標的とした治療の概念

2).

しかしながら、コンセプトとしては非常に期待されるものの、実際そのような strategy に基づいた治療が成り立つのかどうか判断するには、CSC 自体の情報不足している。たとえば、上記の理屈では癌全体のなかでの CSC の割合が高いものほど予後が悪いことが予測される。確かに大腸癌や乳癌等では CSC のマーカーである CD133 や ALDH1 は予後不良因子であることが示されているが、卵巣癌では明らかな予後との関連は見出されなかった<sup>6)13)</sup>。化学療法感受性に関しても同様で、CD133 の発現は大腸癌においては化学療法抵抗性と相関することが報告されたが、卵巣癌ではそのような傾向はみられなかった<sup>6)</sup>。このように、CSC の存在や、その割合が臨床経過にどのような影響を及ぼすかは、癌の種類や CSC の性格によっても異なっている可能性がある。ただし、前記のような単独のマーカーでの検討では、CSC

を正確に反映していない可能性もある。Neumeister らは乳癌において数種類のマーカーの発現から CSC の割合を推定し、その発現が高いものほど予後が悪いことを示した<sup>14)</sup>。また、Hussenet らは乳癌や肺癌の CSC は正常組織幹細胞の molecular phenotype を認め、これが強いものほど悪性度が高いことを報告した<sup>15)</sup>。ただし、このような癌組織全体でのマイクロアレイデータは、ごく少数であるはずの CSC の量や性格を反映しているとは考えづらく、実際に何を表わしているのかは不明である。このように、CSC の実態や臨床上的意義は実際のヒトの癌ではまだ、ほとんどわかっていない。

それでも CSC をターゲットとした治療法が考案され、少しずつ具体性を帯びてきている。一般的な strategy は、まず、CSC に特異的な細胞内シグナルを同定し、これを遮断することによって CSC を排除する、というものである。これまで CSC に関連したシグナルとして Akt

シグナル, Hedgehog シグナル, Notch シグナル, Wnt シグナル等が報告されており, これらをターゲットとした分子標的薬も開発されつつある. 今後, このような薬剤による治療法が実際に CSC を標的できるかどうか, さらに, その結果として臨床的に治療効果をあげられるかどうか注目される.

## おわりに

始めに述べたように, CSC は古い概念であり, 近年の幹細胞研究の流れを受けて長年探し求めていたものがようやく見つかった, というふうに捉えられている. このような背景のなかでは, 一歩間違えると, 人によって様々な異なるものが CSC であるとされ, 混乱を招きかねない. そのため当初は CSC というためには厳密なバイオアッセイによる, ある種ドグマチックな定義があてはめられ, 逆にこれが CSC 研究の足かせになってきた面があるかもしれない. しかし最近, 少しずつ単なる定義を離れた CSC の本質が明らかになりつつあり, CSC という概念の導入により癌研究の多くの側面, すなわち, 癌化, 増殖, 分化, 転移, 微小環境, 再発といった重要な事象にこれまでと異なる角度からの捉えかたが導入されつつあることは確かである. 今後, CSC, さらに幹細胞自体のバイオロジーが明らかになるにつれ, 基礎的・臨床的に多くの恩恵がもたらされることが期待される.

## ●文献

1) Zhang S, et al : Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008 ; 68 : 4311-4320.

- 2) Hirschmann-Jax C, et al : A distinct "side population" of cells with high drug efflux capacity in human tumor cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004 ; 101 : 14228-14233.
- 3) Szotek PP, et al : Ovarian cancer side population defines cells with stem cell-like characteristics and Mullerian Inhibiting Substance responsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006 ; 103 : 11154-11159.
- 4) Moserle L, et al : The side population of ovarian cancer cells is a primary target of IFN-alpha antitumor effects. *Cancer Res* 2008 ; 68 : 5658-5668.
- 5) Kato K, et al : Endometrial cancer side-population cells show prominent migration and have a potential to differentiate into the mesenchymal cell lineage. *Am J Pathol* 2010 ; 176 : 381-392.
- 6) Ferrandina G, et al : Expression of CD133-1 and CD133-2 in ovarian cancer. *Int J Gynecol Cancer* 2008 ; 18 : 506-514.
- 7) Baba T, et al : Epigenetic regulation of CD133 and tumorigenicity of CD133+ ovarian cancer cells. *Oncogene* 2009 ; 28 : 209-218.
- 8) Rutella S, et al : Cells with characteristics of cancer stem/progenitor cells express the CD133 antigen in human endometrial tumors. *Clin Cancer Res* 2009 ; 15 : 4299-4311.
- 9) Bapat SA, et al : Stem and progenitor-like cells contribute to the aggressive behavior of human epithelial ovarian cancer. *Cancer Res* 2005 ; 65 : 3025-3029.
- 10) Deng S, et al : Distinct expression levels and patterns of stem cell marker, aldehyde dehydrogenase isoform 1 (ALDH1), in human epithelial cancers. *PLoS One* 2010 ; 5 : e10277.
- 11) Cozzio A, et al : Similar MLL-associated leukemias arising from self-renewing stem cells and short-lived myeloid progenitors. *Genes Dev* 2003 ; 17 : 3029-3035.
- 12) Yilmaz OH, et al : Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006 ; 441 : 475-482.
- 13) Chang B, et al : ALDH1 expression correlates with favorable prognosis in ovarian cancers. *Mod Pathol*. 2009 ; 22 : 817-823. Epub 2009 Mar 27.
- 14) Neumeister V, et al : In situ identification of putative cancer stem cells by multiplexing ALDH1, CD44, and cytokeratin identifies breast cancer patients with poor prognosis. *Am J Pathol* 2010 ; 176 : 2131-2138.
- 15) Hussenet T, et al : An adult tissue-specific stem cell molecular phenotype is activated in epithelial cancer stem cells and correlated to patient outcome. *Cell Cycle* 2010 ; 9 : 321-327. Epub 2010 Jan 23.

## 著者連絡先

〒606-8507  
 京都府京都市左京区聖護院川原町 54  
 京都大学医学研究科婦人科学産科学  
 万代昌紀



特定非営利活動法人 婦人科悪性腫瘍研究機構

# 化療ニュース

編集委員／上坊敏子、大和田倫孝、角田 肇、加藤久盛、  
喜多恒和、杉山裕子、津田浩史、深澤一雄、  
三上幹男、矢島正純

Vol.19 No.4  
(2011年3月25日発行)

発行／婦人科悪性腫瘍研究機構  
東京都新宿区神楽坂6-22  
小松ビル4階  
TEL (03)5206-1982 FAX (03)5206-1983

## 婦人科がん免疫療法の現状

— 卵巣癌に対するoregovomab, farletuzumabの臨床試験の話題を中心に —

京都大学医学研究科 婦人科学産科学

万代昌紀

### はじめに

昨今の婦人科がんに対する免疫療法と言えば何といってもHPVに対する頸癌予防ワクチンの話題が中心だが、治療的な免疫療法としては卵巣癌に対するものが大部分であり、第III相試験を含め50以上の臨床試験が行われている。今回はその中でも、もっとも代表的なCA-125および葉酸受容体に対する抗体を用いた卵巣癌特異的な免疫療法の臨床試験の成績を中心に紹介したい。抗体による免疫治療は開発に多大な時間と費用を要するが、品質管理が徹底出来て大規模な創薬となることから、免疫療法の中でも重要な位置を占めている (表1)。

### CA-125をターゲットとした免疫療法 (表2)

CA-125は多くの卵巣癌が発現する卵巣癌特異的な蛋白として免疫療法の良い標的になると考えられ、早くから免疫療法が試みられてきた。その代表的なものは、CA-125

に対するマウスモノクローナル抗体B43.13 (oregovomab) を用いたものである。oregovomabを用いた初期の報告では、これに対する抗イディオタイプ抗体やT細胞免疫の誘導と患者の予後が相関する傾向があったことから免疫療法としての効果が期待された<sup>1,2)</sup>。そこでBerekらにより進行期III/IV期の卵巣癌患者で術後TC療法により寛解した患者145例を対象に維持療法としてのoregovomabによる盲検ランダム化試験 (第II相) が行われた。その結果、全体としてはoregovomabは予後改善効果を示さなかったが、強い免疫反応を示した (Ab2の上昇が高かった) 患者は再発までの期間 (time to relapse ; TTR) が18.8カ月であったのに対して、免疫反応の弱かった患者ではこれが6.1カ月、偽薬群では10.3カ月であった<sup>3)</sup>。そこで、さらにその効果を見る目的で同様の患者373例を対象に第III相試験が行われた。しかしながら、この試験ではII相試験の結果を再現することは出来ず、oregovomabによる治療効果はないと結論付けられた<sup>4)</sup>。著者らは、oregovomab単独では免疫反応が弱い可能性を指摘し、化学療法との組み合わせに期

表1 免疫療法全体における抗体療法の位置づけ

特異性による分類 活性化方法 による分類	非特異的免疫療法 (全身の免疫状態を活性化することを 目指したもの)	特異的免疫療法 (がん細胞、あるいはその抗原を特異的に 標的としたもの)
受動的免疫療法 (体外から免疫活性化因子を 投与するもの)	活性化リンパ球 (LAK) 療法 NK細胞療法	抗体療法
能動的免疫療法 (体内で免疫反応を惹起させる ことを目指したもの)	BRM療法 (免疫賦活療法)	ワクチン療法 樹状細胞療法

表2 CA-125を標的とした抗体療法

著者	参考文献	抗体	患者	結果	PubMed ID
Braly, 2009	5	B43.13	III/IV期	化学療法と同時投与の方が、化学療法の1週間後投与より免疫反応が強くなる。	19307994
Berek, 2009	4	B43.13	寛解後、373例	TTRに有意差なし。	19075271
Berek, 2004	3	B43.13	寛解後、145例	TTRに有意差なしだが、Ab2陽性患者の予後は有意に良好。	15337799
Gordon, 2004	2	B43.13	再発、20例	Ca-125または腫瘍に対するT細胞反応があった患者の予後は有意に良好。	15297171
Baum, 1994	1	B43.13	32例	6例のAb2陽性患者はSD以上の効果。	8306256
Reinartz, 2004	7	ACA125	81例(解析症例)	Ab3陽性患者の予後は有意に良好。	15014007
Wagner, 2001	6	ACA125	42例	免疫反応陽性患者の予後は有意に良好。	11350879

B43.13, oregovomab; TTR, time to recurrence; Ab2, 抗イデオタイプ抗体; Ab3, 抗抗イデオタイプ抗体

待すると述べており、実際、最近、他のグループから oregovomab と TC を同時に行うスケジュールがより免疫反応を高める可能性 (40例のランダム化II相試験) が指摘されている<sup>9)</sup>。

CA-125をターゲットとしたもうひとつの有力な免疫療法は、抗CA-125抗体に対する抗イデオタイプ抗体であるACA125を用いたものである。ACA125はその構造上、もともとの抗原であるCA-125と良く似ていると考えられるため、これに対する抗腫瘍免疫が期待できる。Wagnerらは42例の再発卵巣癌を対象にACA125による免疫反応 (Ab3の産生) が予後改善と相関することを示し、さらにReinartzらはこれに症例を追加した119例において、免疫反応があったものの予後は23.4カ月となかったものの4.9カ月に比べて有意に改善していることを報告した。しかし、この試験はランダム化試験ではないため、よりコントロールされた試験の結果が待たれる。

### 葉酸受容体

CA-125と同様、卵巣癌の免疫療法において期待されているのが葉酸受容体 $\alpha$ に対する抗体である。葉酸受容体 $\alpha$ の発現は卵巣癌をはじめ多くの腫瘍で亢進していることが知られており、その発現は癌の増殖に関与していると考えられている。これまでいくつかの抗葉酸受容体抗体を用いて、基礎的、あるいは探索臨床的に卵巣癌に対する治療が試みられ、効果を認めた症例が報告されて来た<sup>8)</sup>。2007年にヒト化抗体であるMORAb-003 (farletuzumab) がMorphotek社により開発され、第I相試験の結果が2007年のASCOに発表された。プラチナ耐性卵巣癌に対する第I相試験では、36%の患者がSDを維持した<sup>9)</sup>。さらに2009年のASCOではプラチナ感受性の初回再発卵巣癌に対する第II相試験の結果 (一部は化学療法との併用) が、2010年春のASCOではプラチナ耐性卵巣癌に対する第II相試験の概要が発表され、現在日本を含む多国間で第III相試験が行われている。

### まとめ

分子標的治療と同様、免疫療法も個別化の時代を迎えており、それぞれの腫瘍に高発現する分子を標的とした免疫

療法が臨床レベルでも試みられるようになった。ここでは代表的なCA-125、葉酸受容体に対する抗体療法を紹介したが、その他にもHER2/neu、MUC-1等に対する抗体療法も試みられている。ただし現時点では総じてこれらの免疫療法の効果は必ずしも臨床的に満足のいくものではなく、さらに新しい原理に基づいた免疫療法の開発が進められている<sup>10)</sup>。

### 参考文献

- 1) Baum RP, Niesen A, Hertel A, Nancy A, Hess H, Donnerstag B, Sykes TR, Sykes CJ, Suresh MR, Noujaim AA, et al. : Activating anti-idiotypic human anti-mouse antibodies for immunotherapy of ovarian carcinoma. *Cancer*. 1994 Feb 1;73(3 Suppl):1121-5.
- 2) Gordon AN, Schultes BC, Gallion H, Edwards R, Whiteside TL, Cermak JM, Nicodemus CF. : CA125- and tumor-specific T-cell responses correlate with prolonged survival in oregovomab-treated recurrent ovarian cancer patients. *Gynecol Oncol*. 2004 Aug;94(2):340-51.
- 3) Berek JS, Taylor PT, Gordon A, Cunningham MJ, Finkler N, Orr J Jr, Rivkin S, Schultes BC, Whiteside TL, Nicodemus CF. : Randomized, placebo-controlled study of oregovomab for consolidation of clinical remission in patients with advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Sep 1;22(17):3507-16.
- 4) Berek J, Taylor P, McGuire W, Smith LM, Schultes B, Nicodemus CF. : Oregovomab maintenance monoimmunotherapy does not improve outcomes in advanced ovarian cancer. *J Clin Oncol*. 2009 Jan 20;27(3):418-25.
- 5) Braly P, Nicodemus CF, Chu C, Collins Y, Edwards R, Gordon A, McGuire W, Schoonmaker C, Whiteside T, Smith LM, Method M. : The Immune adjuvant properties of front-line carboplatin-paclitaxel: a randomized phase 2 study of alternative schedules of intravenous oregovomab chemoimmunotherapy in advanced ovarian cancer. *J Immunother*. 2009 Jan;32(1):54-65.
- 6) Reinartz S, Köhler S, Schlebusch H, Krista K, Giffels P, Renke K, Huober J, Möbus V, Kreienberg R, DuBois A, Sabbatini P, Wagner U. : Vaccination of patients with advanced ovarian carcinoma with the anti-idiotypic ACA125: immunological response and survival (phase Ib/II). *Clin Cancer Res*. 2004 Mar 1;10(5):1580-7.
- 7) Wagner U, Köhler S, Reinartz S, Giffels P, Huober J, Renke

- K, Schlebusch H, Biersack HJ, Möbus V, Kreienberg R, Bauknecht T, Krebs D, Wallwiener D. : Immunological consolidation of ovarian carcinoma recurrences with monoclonal anti-idiotypic antibody ACA125: immune responses and survival in palliative treatment. Clin Cancer Res. 2001 May;7(5):1154-62.
- 7) Crippa F, Bolis G, Serègni E, Gavoni N, Scarfonè G, Ferraris C, Buraggi GL, Bombardieri E. : Single-dose intraperitoneal radioimmunotherapy with the murine monoclonal antibody I-131 MOv18: clinical results in patients with minimal residual disease of ovarian cancer. Eur J Cancer. 1995;31A(5):686-90.
- 9) Konner JA, Bell-McGuinn KM, Sabbatini P, Hensley ML, Tew WP, Pandit-Taskar N, Vander Els N, Phillips MD, Schweizer C, Weil SC, Larson SM, Old LJ. : Farletuzumab, a humanized monoclonal antibody against folate receptor alpha, in epithelial ovarian cancer: a phase I study. Clin Cancer Res. 2010 Nov 1;16(21):5288-95.
- 10) 万代昌紀, 濱西潤三, 松村謙臣, 馬場長, 小西郁生 : 婦人科がん免疫療法の光と影 - 3. がん免疫療法の未来. 産婦人科の実際, 59 : 795-800、2010



