

図 1 担癌生体内における免疫逃避機構

腫瘍は自身の生存や増殖に有利な微小環境を形成し、異常な増殖を可能にしている。著者らは腫瘍内微小環境において、①制御性 T 細胞(Treg)、②骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)、③ IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞(Ty δ 17)が誘導され、それぞれ癌免疫監視機構からの逃避や腫瘍増殖の維持に関与していることを見出している。

熟ミエロイド細胞(immature myeloid cells: ImC), ImC 由来のサプレッサーマクロファージなど(総称して myeloid-derived suppressor cells: MDSC)による免疫抑制が注目を浴びている^{8,9)}。また、著者らは IL-17 産生細胞が腫瘍血管形成を促進し、癌の増殖を促進する protumor 細胞であることも明確にしている¹⁰⁾(図 1)。誌面の都合上、詳細については他の総説¹¹⁾を参考にさせていただき、ここでは著者らが見出した免疫抑制・癌エスケープに関するあらたな知見についてのみ概説する。

1. 癌幹細胞とTreg

CD133⁺癌幹細胞が非癌幹細胞よりも TGF- β 産生能が高く、CD133⁺癌幹細胞を接種した担癌マウスの所属リンパ節では CD133⁻非癌幹細胞担癌マウスに比べ、CD4⁺Foxp3⁺Treg が TGF- β 依存的に多く誘導されていることが明らかとなった。最近、なぜ癌幹細胞が活性型 TGF- β を高産生するのかに関するエピジェネティック分子メカニズムもほぼ解明され、「CD133⁺癌幹細胞は非癌幹細胞に比べ、活性型 TGF- β を高産生し、Treg

を誘導することによって、CD8⁺CTL を介した癌免疫監視機構から逃避している」ことを明らかにしている(図 1-①)。

2. 担癌生体における

ミエロイド由来免疫抑制性細胞(MDSC)

担癌マウス脾内では、①CD11b⁺Gr-1^{low}: F4/80⁺マクロファージ(M Φ -ImC)、②CD11b⁺Gr-1^{mid}: 好中球桿状核球(Neut_{stab}-ImC)、③CD11b⁺Gr-1^{high}: 好中球分葉核球(Neut_{seg}-ImC)、の3つのサブセットが異常増殖する。Gabrilovichiらは、3つのサブセットすべてを含む細胞群を ImC suppressor あるいは MDSC と定義している⁹⁾。しかし著者らは、免疫抑制活性を示すのは M Φ -ImC のみで、他の Neut_{stab}-ImC、や Neut_{seg}-ImC は免疫抑制を示さず、脾内に集積したこれら ImC 群は腫瘍内に移住後に、IL-6 や TGF- β などの腫瘍微小環境サイトカインの影響で免疫抑制性 MDSC (M Φ -ImC と Neut_{seg}-ImC)へと形質変換し、非常に強い免疫抑制を示すことを証明している。したがって、真の MDSC は M Φ -ImC と Neut_{seg}-ImC のみと考えられる。著者らは抗 IL-6R 抗体と

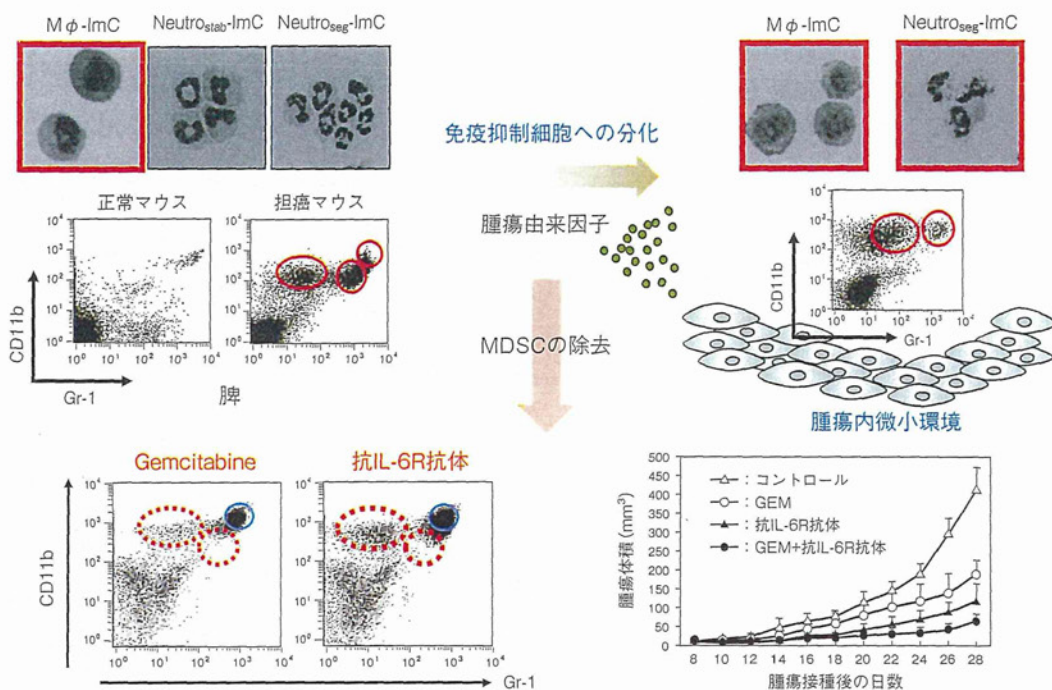


図 2 担癌生体におけるミエロイド由来免疫抑制細胞

担癌生体内で異常増殖する CD11b⁺Gr-1⁺細胞は免疫抑制細胞として MDSC と総称されているが、脾内では免疫抑制能を示さない Neut_{seg}-ImC, Neut_{stab}-ImC, 免疫抑制能を有する MΦ-ImC の 3 種のサブセットが存在する。これらの細胞は腫瘍内環境に曝されることによって強い免疫抑制能を有した Neut_{seg}-ImC, MΦ-ImC へと分化する。また、抗 IL-6R 抗体と gemcitabine (GEM) の併用投与により MDSC が除去され、抗腫瘍免疫を増強し、腫瘍増殖を抑制することができる。

GEM の併用投与により、免疫抑制を担う MΦ-ImC と Neut_{stab}-ImC が選択的に除去され、担癌生体の T 細胞応答が増強され、より効果的な抗腫瘍免疫が誘導されることを証明した(図 1-②, 図 2)¹²⁾。

3. 癌組織に浸潤した IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞は protumor 細胞である

BALB/c マウス腫瘍組織内に浸潤する IL-17 産生細胞群を調べてみると、CD4⁺T 細胞や CD8⁺T 細胞ではなく、 $\gamma\delta$ T 細胞がおもな産生細胞であることがわかった。この $\gamma\delta$ T 細胞は皮膚常在性 $\gamma\delta$ T 細胞ではなく、全身循環している $\gamma\delta$ T 細胞であり、腫瘍組織へ浸潤後に、TCR を介した抗原刺激、NKG2D を介した補助刺激、あるいは癌微小環境で産生される IL-6, TGF- β , IL-23 の刺激を受け T $\gamma\delta$ 17 に分化することが明らかにされた¹⁰⁾。IL-17 KO マウスではメチルコラントレン誘発 carcinoma の形成が腫瘍血管の新生とともに抑えられるので、IL-17 は腫瘍血管新生促進を介して発癌を促進する因子と考えられる(図 1-

③)。また著者らは、IL-17 の扁平上皮癌誘発における促進効果は遺伝子支配されており、Th2 マウスである BALB/c では発癌初期における T $\gamma\delta$ 17 細胞の浸潤と並行して癌幹細胞様細胞の異常増殖、慢性炎症の遷延化ならびに carcinoma の形成が認められるのに対して、Th1 マウスの C57BL/6 マウスにおいては、T $\gamma\delta$ 17 細胞よりも、Th17 細胞が浸潤し、皮膚の肥厚・炎症は早期に沈静化し、carcinoma は形成されず、fibrosarcoma のみが誘発されることを見出している(図 3)。炎症の質の違いと異なる組織癌の発生に関する興味深い知見である。

Th17, Tc17, T $\gamma\delta$ 17 などの IL-17 産生細胞が発癌や癌の増殖過程において、protumor, antitumor のいずれとして作用を示すのかという論争が続いたが、著者らはそれに対する解答を Tc17 の研究で最近明らかにした¹³⁾。すなわち、IL-17 産生細胞は通常の微小環境では protumor として機能し、炎症や血管新生に関与するが、Th1 環境下ではエピジェネティックな可塑的变化を遂げ、キ

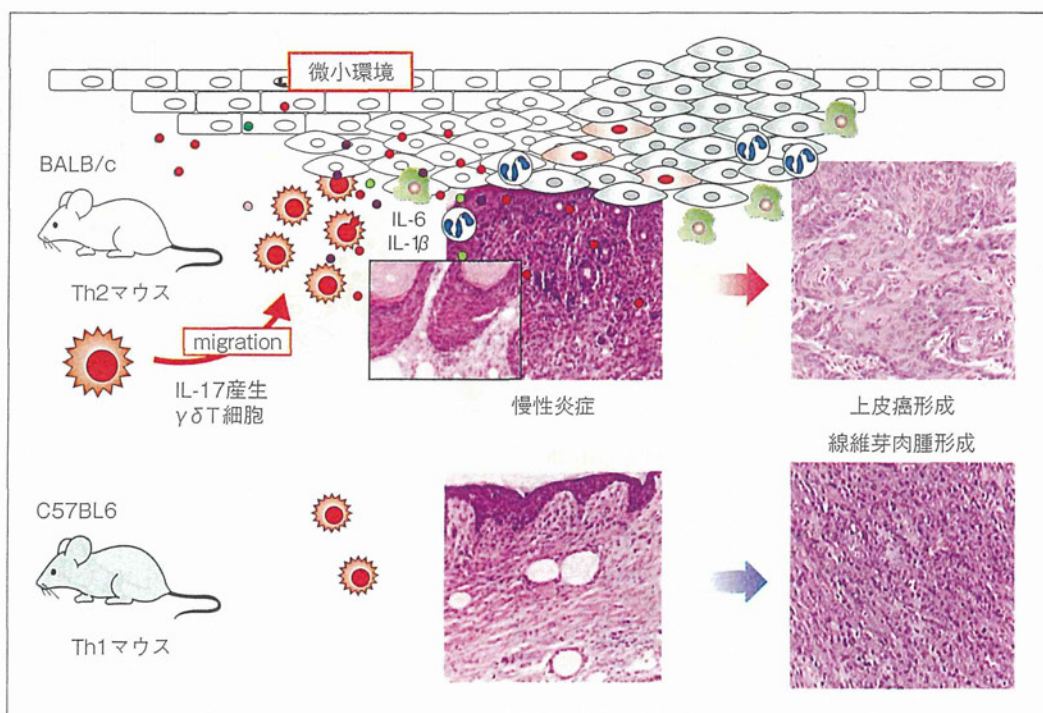


図 3 IL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞は発癌プロモーター細胞 (protumor cell) として働く

発癌過程の局所組織では IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞が浸潤し、慢性炎症を誘起することで上皮癌の発生の促進に寄与している。IL-17 を介した炎症応答制御は強い遺伝子支配を受け、Th2 マウスである BALB/c マウスでは IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞が誘導され、上皮癌が発生するのに対し、Th1 マウスである C57BL/6 マウスでは IL-17 産生 $\gamma\delta$ T 細胞の誘導は弱く、線維芽肉腫の発生が認められた。

ラー活性を有する IL-17/IFN- γ double producing Tc17/IFN- γ へと変換し細胞傷害性能力を獲得、antitumor エフェクター細胞として抗腫瘍免疫にも関与すると思われる¹⁴⁾。

Th1 主導免疫の導入による 担癌生体免疫抑制の打破

担癌生体においては、癌の増殖とともに癌のエスケープを助ける強い免疫抑制が誘導される。したがって、癌患者に癌ワクチン療法を施行する場合にはいかにしてこの負の免疫監視機構を克服し、癌特異的キラー T 細胞 (Tc; CTL) を誘導するかが重要な課題となる。「腫瘍から浸潤リンパ球を濃縮して培養すると、リンパ球は存在するにもかかわらず、数日で死滅し、混在する癌細胞のみが増殖してくる。しかし、ここに一滴の IL-2 を加えると癌を殺しながら増殖するキラー (LAK) が誘導される」。著者が 30 数年前の学生時代に出くわしたセレンディビティーである (図 4)。その日から、IL-2 を産生するヘルパー T 細胞が腫瘍

局所に存在すれば、担癌生体の免疫抑制は克服できるに違いないと考え、①樹状細胞 (DC) による癌抗原のプロセッシング、②ヘルパー T 細胞 (Th) による抗原認識、活性化、そして、③癌特異的キラー T 細胞 (Tc; CTL) の強い活性化誘導までの、自然免疫から獲得免疫までの一連の反応が Th1 主導免疫を活性化できるタイプ 1 免疫依存的に進行することが重要であることを提唱してきた⁴⁻⁶⁾。

IL-12, α -GalCel+IL-12, CpG, OK-432, Poly-I:C, Th1 細胞などがタイプ 1 免疫を誘導する手段としてあげられ、TLR を介したリガンドとしては CpG がもっとも優れた Th1 免疫誘導アジュバントと考えられる。事実、CpG をアジュバントとして癌抗原ワクチンを担癌動物に摂取することにより非常に強い抗腫瘍免疫が誘導される。しかし、Treg の免疫抑制を打破できるという点においては CpG よりも癌特異的 Th1 細胞で Th1 主導免疫を導入する方が優れている⁶⁾。Th1 細胞と癌抗原を腫瘍近傍に投与することによって担癌マウス生体に癌特異的 CTL を効率よく誘導でき、

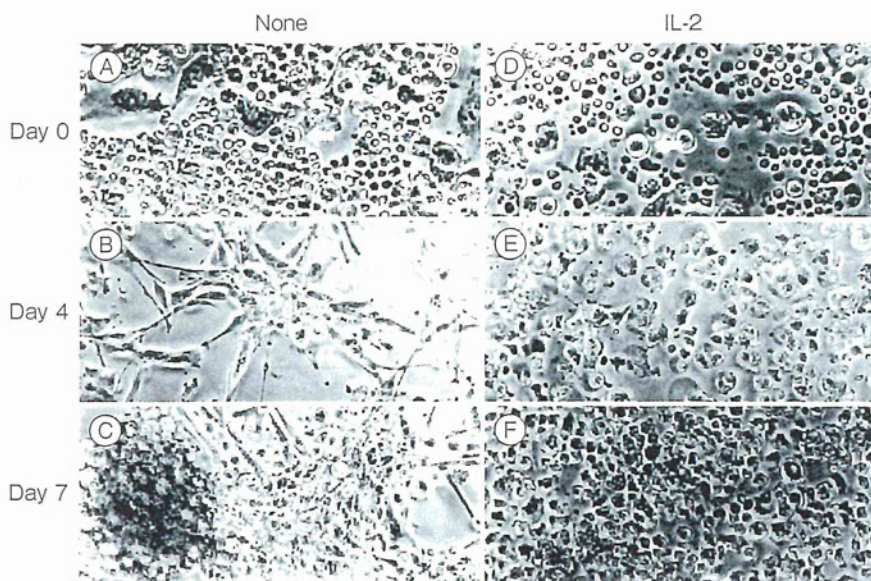


図 4 IL-2を用いた腫瘍内浸潤リンパ球(TIL)からのTIL-LAKの誘導

TIL からガラスウール付着性の癌細胞(矢印で示した大型の細胞)を除去し、リンパ球(癌以外の小型の細胞)が8割、癌細胞が2割程度混在したTILを調整。通常培養(A~C)ではリンパ球はすぐに消失し、7日後には癌のみが単層に増殖する。癌微小環境におけるリンパ球の無力さを物語っている。しかし、IL-2添加群(D~F)では癌が死滅し、7日後にはリンパ球のみが増殖していた。増殖してきた細胞は癌なら何でも殺し、正常細胞は傷害しないキラー細胞であり、TIL-LAKと呼ばれた。

癌の完全治癒も誘導することができる⁴⁻⁶⁾。Th1細胞は癌局所で生きたサイトカイン徐放剤の如く機能すると考えられる。OVA遺伝子を仮想癌抗原として導入したEG7癌細胞を摂取したC57BL/6マウスに、OVA特異的Th1細胞とOVA仮想癌抗原蛋白でワクチン治療すると癌細胞にMHC class IIが発現しないにもかかわらず癌は消失する(図5-A)。これは癌局所にはMHC class II抗原を発現した抗原提示細胞(APC)が存在し、仮想癌抗原OVAを腫瘍内あるいは近傍に投与すれば、APCがOVAを提示し、OVA特異的Th1が癌局所に浸潤しやすい状況をつくりだすことができるからである。

Th1細胞治療のメカニズムは図5-Bに示すように、①癌抗原をプロセッシングした樹状細胞が所属リンパ節に移住し、Th1細胞と相互作用する、②癌抗原を提示した樹状細胞によりTh1細胞が激しく分裂してサイトカインを産生する、③Th1細胞の活性化が起こる所属リンパ節に、血中を循環する宿主CD8⁺T細胞が移住し、癌特異的テトラマー陽性CTLが誘導される、④CTLが所属リンパ節から癌組織に遊走して癌組織を破壊する。

したがって、癌局所で炎症を起こし、所属リンパ節でTh1依存免疫反応を惹起させることが癌特異的CTLの誘導および癌拒絶には不可欠と考えられる。

Th1細胞治療の特筆すべき点は、癌や所属リンパ節に誘導されるTregの増加、蓄積をIFN- γ 依存的に抑制できる点である⁶⁾。また、Th1微小環境でTc17なども抗腫瘍エフェクターに変換させる利点も考えられる。すでに、放射線療法や化学療法(GEM)とTh1細胞治療との併用療法がより有効であることも確認している¹⁵⁾。最近、Th2細胞が産生するIL-4がMDSCの機能を調節して原発乳癌の転移を促進することも報告され、Th1主導免疫の導入が癌の転移や増殖抑制には重要であることが再度確認された¹⁶⁾。

Helper/killer-hybrid epitope long peptide(H/K-HELP)ワクチンの開発と臨床研究への応用

CTLを軸とした癌免疫治療、すなわちMHC class I結合性癌抗原ペプチドを用いた癌ワクチン療法、あるいは試験管内で誘導したCTLを用

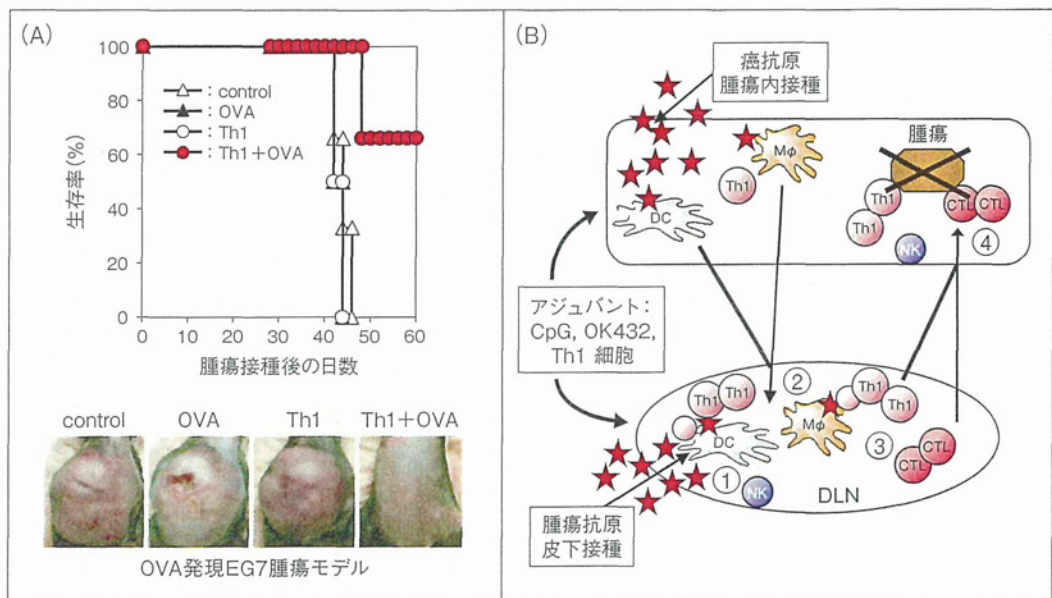


図 5 癌免疫治療におけるTh1主導免疫の重要性

- A: 仮想癌抗原として OVA を発現する EG7 腫瘍細胞(MHC-II 陰性)の担癌マウスに OVA 特異的 Th1 細胞, OVA 蛋白を用いた Th1 細胞治療を実施した. Th1 細胞と OVA を接種した治療群において非常に強い抗腫瘍効果が確認された.
- B: Th1 主導免疫による癌治療では, ①~③の癌所属リンパ節における樹状細胞(DC)の活性化を介した Th1 細胞, CTL の誘導が重要なステップであり, 活性化した CTL が腫瘍局所へと浸潤して癌細胞を殺傷し, 治癒を誘導している. 標準療法と Th1 主導免疫が将来の理想的免疫治療になると考えられる.

いた癌の細胞治療においては, メラノーマなどの癌種に対する有効例は示されているが, 当初期待されたほどの多くの癌に対する有効な治療効果は報告されていない¹⁷⁾. これはヒト CD8⁺CTL は IL-2 の産生が弱く, 生体内においても多くの癌細胞を殺すことなく, 短い寿命で特攻隊のように死滅していくためであろうと想像される. しかし, MHC class I 結合性癌抗原を用いた癌ワクチン療法においても癌は退縮しないが, 制癌剤との併用により患者の QOL が改善され, 癌とともに長期生存する long SD の症例が報告された²⁾. 完璧ではないが, 癌ペプチドには癌細胞増殖阻止効果があることは証明された. 著者は癌ワクチン・細胞治療の有効性を増強させるためには, CD4⁺ヘルパー T 細胞が重要であることを一貫して提唱してきた⁴⁻⁶⁾. 抗癌剤の投与によって lymphopenia を誘導, CTL を移入し homeostatic expansion で CTL 増殖を促すことで, 優れた癌治療効果が期待できると Rosenberg らは報告しているが¹⁸⁾, この治療系においても CD4⁺T 細胞の混在が必要であることが述べられている. 最近, 同グループが

行っていた, CD8⁺T 細胞に癌特異的 TCR 遺伝子と IL-12 遺伝子を導入した癌の細胞治療で複数の死亡例が報告され, CD8⁺T 細胞を非生理的条件下で過剰に活性化させる治療法の困難さが浮き彫りにされ, 今後, 癌特異的 CD4⁺T 細胞を用いた, より生理的な抗腫瘍免疫の活性化が重要な課題になると考えられる. アメリカにおいては, NY-ESO-1 特異的な CD4⁺T 細胞を用いた細胞治療が“癌に対する Endgame begins”というコメントとともに 1 例報告された¹⁹⁾が, 普遍的な癌特異的ヘルパー T 細胞の誘導培養法は確立されていなかった.

しかし, 著者らは最近, 多くの日本人に汎用性のある数種の MHC class II 癌抗原ヘルパーペプチドを単離し²⁰⁾, それらのペプチドを用いて癌特異的 Th1 細胞を容易に試験管内で誘導することに成功している. 図 6 に示したように, MAGE-A4 や Survivin は多くの癌に発現している. さらに著者らは, 癌特異的 Th1 細胞を誘導するためには従来の 15~24 mer の short ペプチドより 40 mer のロングペプチドが有効であることを見出し, ヘル

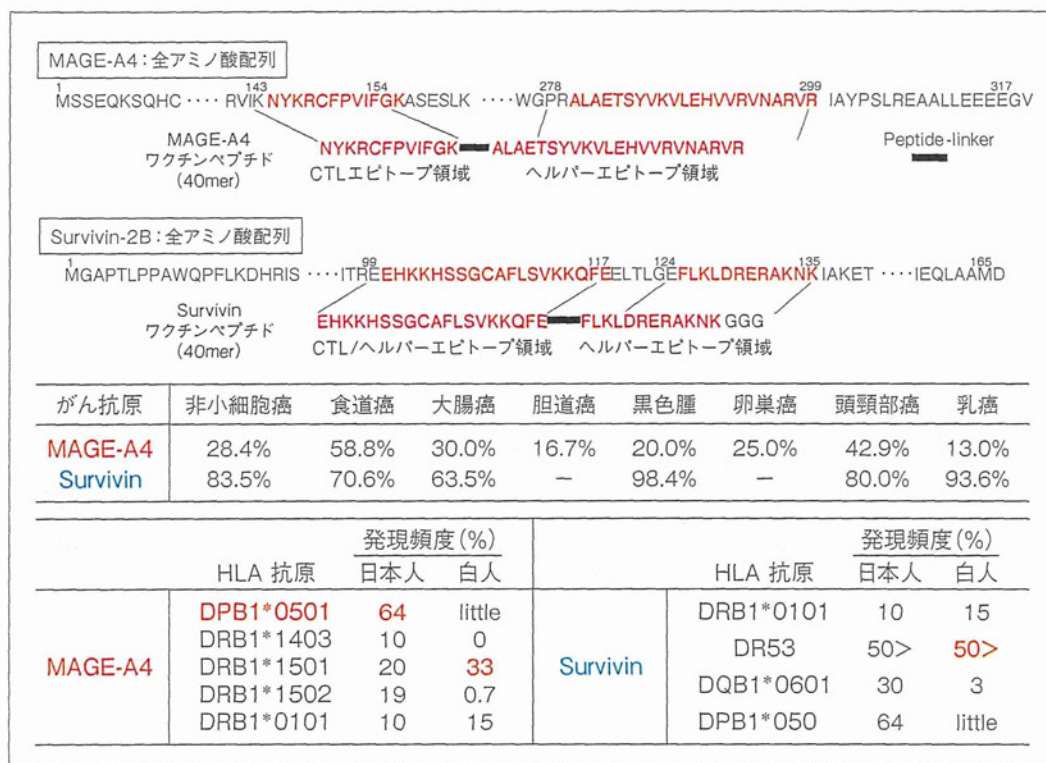


図 6 Th1細胞とCTLの両者を活性化するH/K-HELPの開発

癌抗原である MAGE-A4 および Survivin について、キラーエピトープとヘルパーエピトープをペプチド-linker を用いて結合した 40 個のアミノ酸からなるロングペプチド(helper/killer-hybrid epitope long peptide : H/K-HELP) を作出した。MAGE-A4, Survivin は多くの癌種で高頻度に発現が認められ、癌免疫治療の標的として非常に有用である。また、H/K-HELP 作成に用いたキラーエピトープ、ヘルパーエピトープはさまざまな HLA アレルへの拘束性を確認しており、ほぼ 100% の日本人に適応可能である有効な癌ワクチンペプチドである。

パーエピトープとキラーエピトープを人工的に結合させた helper/killer-hybrid epitope long peptide(H/K-HELP) を作製した⁷⁾。

著者らの最終ゴールは H/K-HELP と H/K-HELP 特異的 Th1 細胞の両者を用いた Th1 細胞治療であるが、それに先立ち、NEDO プロジェクトで、H/K-HELP 癌ワクチンの安全性を確認するための第 I 相試験を北海道大学病院、札幌北楡病院、(株)バイオイミュランス、テラ(株)との共同研究で開始した。最終的には東海大学、慈恵医大、近畿大、愛媛大、産業医科大とも連携し、全国的多施設共同ヘルパーコンソーシアムを構築して本研究の推進をはかった(図 7)。第 I 相臨床研究の目的は H/K-HELP の安全性確認であり、副次目的は癌ワクチン接種による免疫誘導効果のモニタリングである。マウス実験系においてはクラス II 結合性ペプチド投与による抗腫瘍効果を誘導することは困難であったので、ヒト臨床試験においても生体ペプチターゼで分解されてしまい、期

待するペプチドワクチン効果は難しいのではないかと考えていた。しかし、OK-432 と Montanide をアジュバントとして用いて、MAGE-A4-H/K-HELP および Survivin-H/K-HELP 癌ワクチン治療を施行したところ、驚くべきことに、従来のキラー T 細胞をターゲットとしたショートペプチドに比べ、ワクチン投与後、早期に癌特異 Th1 細胞、Tc1 細胞の活性化誘導が確認された。さらに、Th1 依存的に誘導される、IFN- γ 依存的にクラススイッチを起こす補体結合性の IgG1, IgG3 サブクラスの癌特異的抗体の上昇も確認された(図 8)⁷⁾。すでに、第 I 相臨床研究は終了し、これまで評価可能患者 11 例中 9 例で H/K-HELP 特異的な免疫反応が確認されている。このなかには、トリプルネガティブの乳癌患者の制癌剤、放射線耐性、頸部転移癌が CT 画像上消失する CR 1 例、および癌の増殖が抑えられた SD 1 例も観察された(図 9)。この結果を受けて著者らは、厚生労働省の創薬基盤研究推進事業で Survivin-H/K-

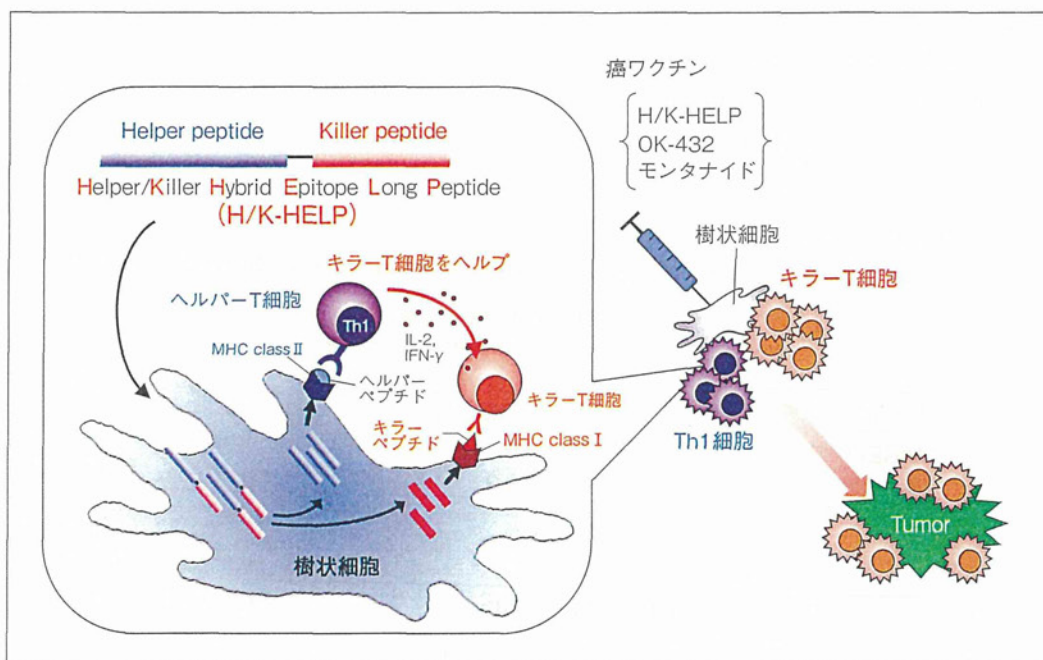


図 7 癌抗原分子由来H/K-HELPを用いた癌ワクチン治療第 I 相臨床試験

Th1 細胞と CTL の両者を活性化することによる癌ワクチン治療を開発するため、MAGE-A4, Survivin の H/K-HELP を用いた癌ワクチン治療の第 I 相臨床試験を NEDO プロジェクトにて実施した。臨床試験実施にあたり全国的な他施設共同ヘルパーコンソーシアムを構築し、研究の推進をはかった。

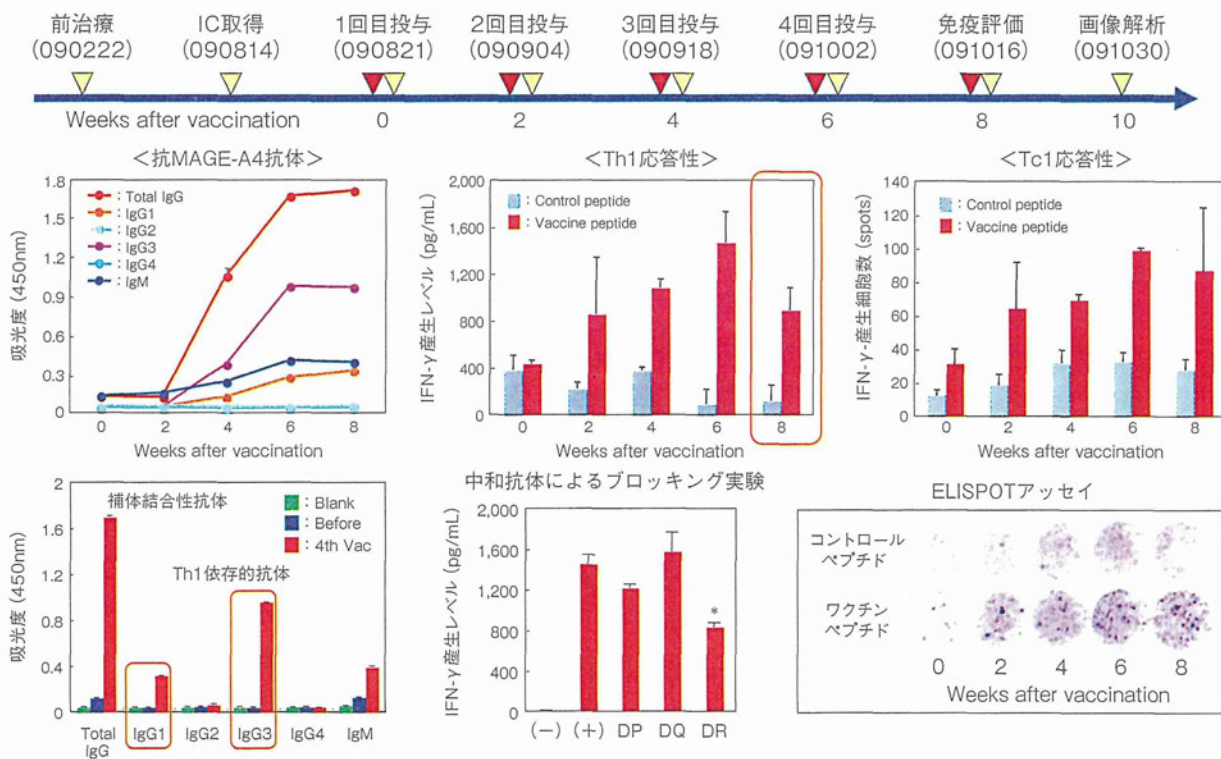
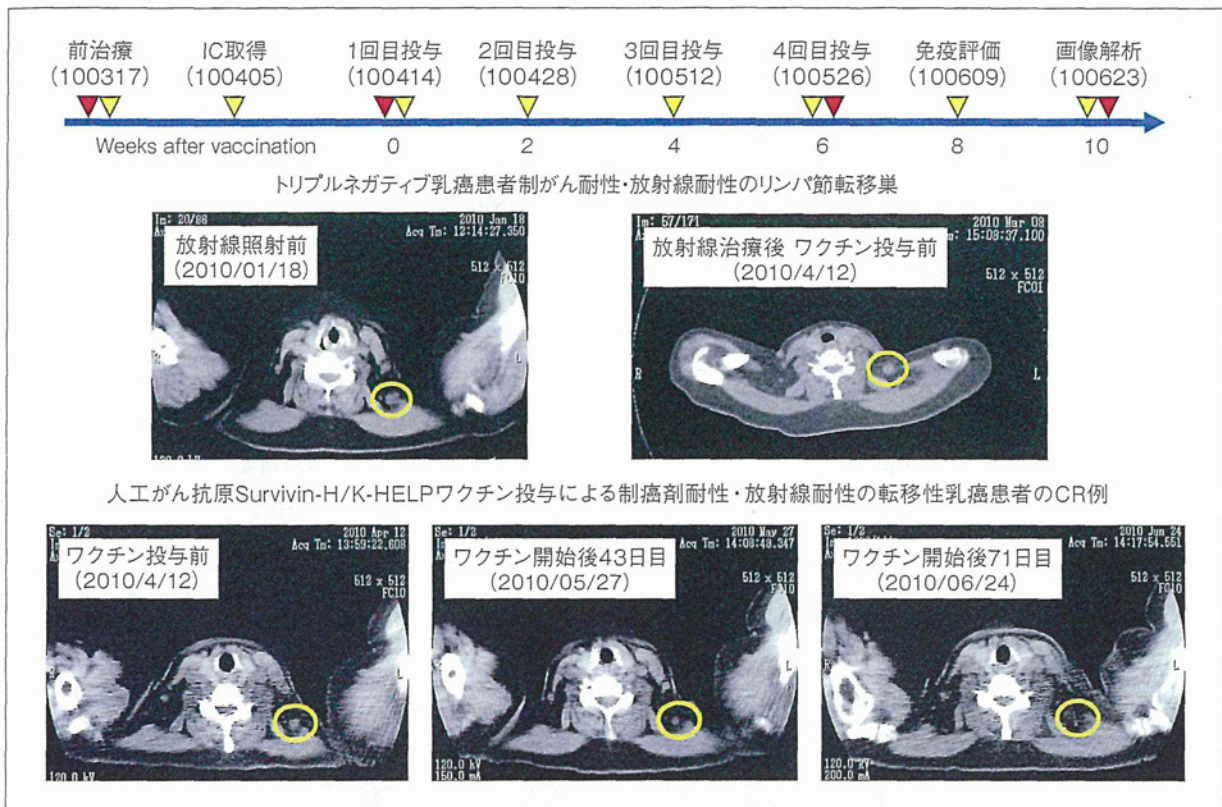


図 8 MAGE-A4-H/K-HELP癌ワクチン投与による免疫応答の評価

MAGE-A4-H/K-HELP の投与によって、癌患者生体内でペプチド特異的な抗体産生が誘導された。また、その抗体の種類は Th1 (IFN-γ) 依存的にクラススイッチを起こす補補体結合性 IgG1 および IgG3 サブタイプであることが確認された。さらに、ペプチド特異的な Th1, Tc1 免疫応答も増強していたことから、H/K-HELP は癌患者生体内で効果的に Th1 依存的免疫応答を惹起できることが確認された。*: $p < 0.05$ 。(北海道大学第一外科・高橋先生、藤堂教授との共同研究)



人工がん抗原Survivin-H/K-HELPワクチン投与による制癌剤耐性・放射線耐性の転移性乳癌患者のCR例

図 9 Survivin-H/-HELP癌ワクチン治療による転移性乳癌細胞の消失

Survivin-H/-HELP 癌ワクチン投与によって、制癌剤耐性・放射線耐性のトリプルネガティブ乳癌患者のリンパ節転移癌細胞がCT画像上消失したことが確認された。(近畿大学外科, 奥野教授との共同研究)

HELPの大腸癌, 乳癌に対する効果に関する第II相臨床研究を北海道大学と近畿大学で開始している。

マウスの研究ではヘルパーペプチドワクチンの投与で, このようなTh1主導免疫を誘導できた経験はなく, ヒトのショートペプチドワクチン治療においても, 5~6回のワクチン投与で特異的キラーT細胞が誘導できれば良しとされており, このような早期の免疫応答はあまり例がない。著者らが開発したH/K-HELP癌ワクチンは, 著者らが30数年間, マウス基盤研究で構築したTh1主導免疫導入による癌免疫治療に関する免疫理論 (proof of concept) を, ヒトの臨床研究で実証するためのよいツールになったといえる。

さきにも述べたが, もっとも有効な癌免疫治療は, H/K-HELPと癌特異的Th1細胞をセルアジュバントとして用いるTh1細胞治療と考えている。これまでは癌特異的Th1細胞の誘導も困難であったが, 著者らが開発したH/K-HELPを用いれば, 癌特異的Th1細胞やTc1細胞の誘導が

容易にできることをすでに確認している。このH/K-HELPと癌特異的Th1細胞との併用による世界初のTh1細胞治療の臨床研究は北大病院で開始され, 耳鼻科・福田教授らによって良好な治療結果がすでに得られている。

📌 ロングペプチド(H/K-HELP)癌ワクチンはなぜ従来のショートペプチドより有効なのか

OVAを仮想癌抗原として発現したEG7やA20-OVAを用いて担癌状態のマウスを完治させるメカニズムを明確にして“癌を直す免疫理論”を確立しなければ, ヒト癌に対する有効な免疫治療法を開発できないであろうと考え, 癌免疫の基盤研究を30数年間続けてきた。「ヒトとマウスは違うし, そんな仮想抗原を発現した癌を直しても, ヒトには応用できないだろう」とコメントする研究者もいた。しかし, ヘルパーエピトープとキラーエピトープを化学的に結合させた人工ロングペプチド(H/K-HELP)癌ワクチンの予想もし

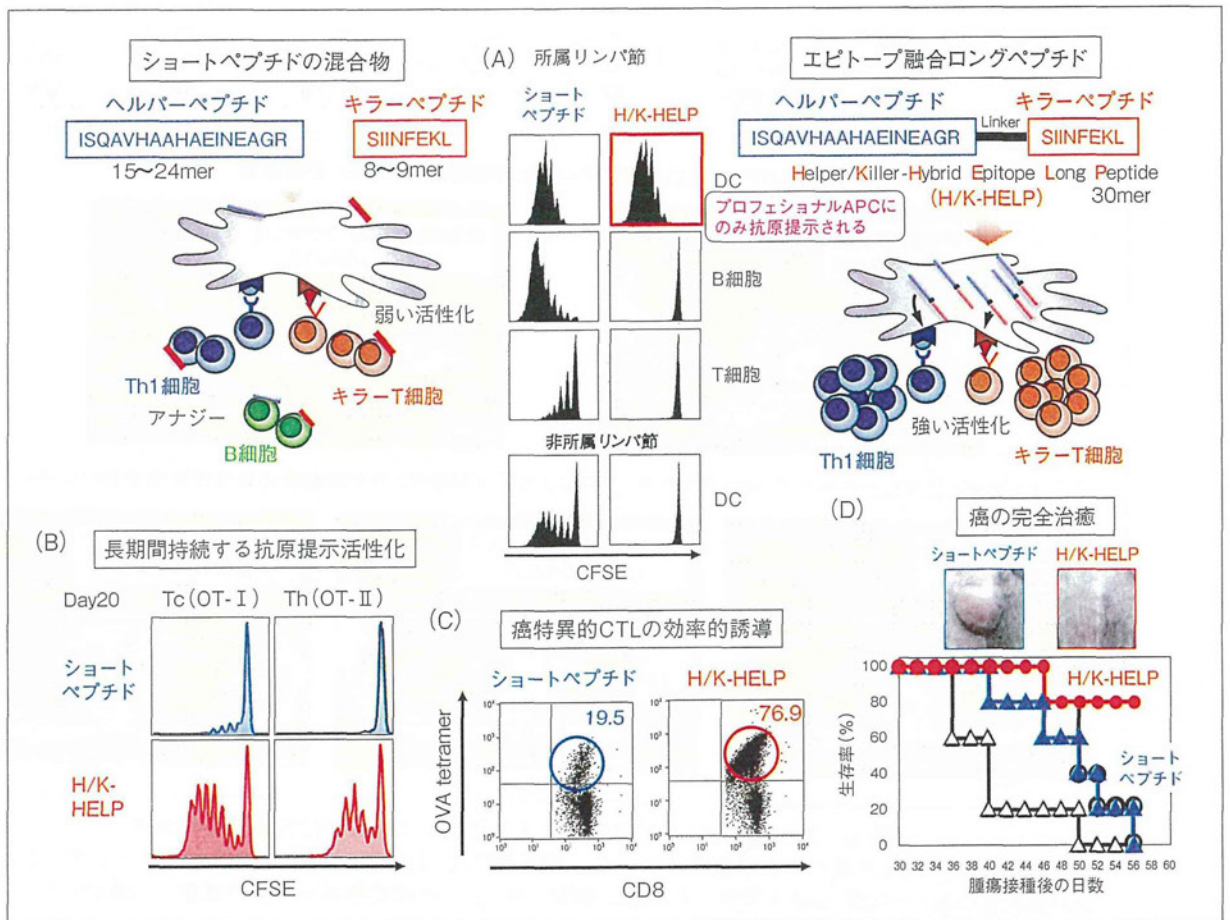


図 10 H/K-HELPによる抗腫瘍免疫増強の作用機序

H/K-HELP 癌ワクチンの効果的な免疫賦活効果のメカニズムを解明するため、卵白アルブミン(OVA)のヘルパーエペトープ、キラーエペトープをペプチドリンカーで化学的に結合させ H/K-HELP を作成し、マウスモデルにおいて詳細な検討を実施した。

- A : H/K-HELP を足蕨に投与、膝下リンパ節、遠隔リンパ節から APC を採取し、CFSC ラベル下 OT1 細胞と混合培養した。
- B : CSFC ラベル OT1, OT2 を i.v. 投与し、所属リンパ節における抗原提示能の持続を検討した。所属リンパ節の DC 特異的に、かつ長期間、抗原提示されることが確認された。
- C : また、マウス生体内においてショートペプチドに比べて、H/K-HELP で効果的に OVA 特異的 CTL が誘導された。
- D : 担癌マウスを用いた治療実験では、H/K-HELP 癌ワクチンでは約 80% のマウスで完全治癒が認められたが、short peptide では延命効果のみであった。

ない臨床研究の成果は OVA を仮想抗原としたマウス免疫治療モデルの基盤研究から生まれ、マウス癌治療モデルを用いた POC の構築はけっしてむだでないことを教えてくれた。

予期をしなかった H/K-HELP の従来ペプチドを上まわる免疫誘導効果はどうして発現したのか。そのためには、臨床研究からもう一度、仮想癌抗原 OVA を用いたマウス基盤研究に戻り、そのメカニズムを解明する必要がある。そうしなければ、癌患者に免疫理論に基づいた朗報を伝えることはできないし、それが科学者の使命と考えている。OVA のクラス I エペトープならびにク

ラス II エペトープはあまりにも有名で既存する。また、それぞれのエペトープに反応性を示す T 細胞のトランスジェニックマウス OT1, OT2 も存在する。したがって、アッセイ手段はすべて揃っている。明確にすべき点は、「本当に、OVA のヘルパーエペトープとキラーエペトープを化学的に結合させた 30 mer の人工ロングペプチド(H/K-HELP)は、クラス I およびクラス II のショートペプチドに比べ強い免疫応答を誘導できるのか。そのメカニズムは？」である。

結果は図 10 に示したが、H/K-HELP とショートペプチドの間で、驚くべき免疫賦活機構の差

が示された。マウス足蘆に CpG をアジュバントとして、OVA-H/K-HELP あるいは OVA-short peptide (ヘルパーエピトープとキラーエピトープの混合物) をワクチン接種し、投与後 36 時間後に所属リンパ節である膝下リンパ節あるいは遠隔リンパ節中に存在する抗原提示細胞について解析した (図 10-A)。この結果をみて最初に脳裏に浮かんだのが、2011 年にノーベル賞を受賞しながら逝去された Steinmann 博士の偉大さであった。H/K-HELP は所属リンパ節のプロフェッショナル DC にのみ提示されていたのである。しかし、short peptide は所属リンパ節の DC のみならず、T、B 細胞にも提示され、遠隔のリンパ節にまで抗原提示細胞が分布していた。パッとみた感じでは全身で各種細胞が OVA 抗原エピトープを提示したほうが宿主の免疫賦活には有利のような印象を受ける。しかし、T 細胞や B 細胞には補助分子が発現していないため、このような細胞群が抗原提示した場合には免疫寛容を誘導するという報告もある。実際にショートペプチドをパルスされた T 細胞や B 細胞は抗原特異的 T 細胞分裂は惹起できるが、抗腫瘍免疫に重要な Th1 主導免疫を誘導する能力は DC に比べれば著しく劣っていた。それに比べ、H/K-HELP の場合はプロフェッショナルな抗原提示細胞である DC にのみ提示され、しかもその抗原提示細胞が抗原を摂取した所属リンパ節にのみとどまるという、奇跡に近いほど魅力的なデータであった。30 mer のアミノ酸からなり、MHC との直接的結合はできなく、一度 DC に取り込まれてからペプチダーゼで、ヘルパーエピトープとキラーエピトープに切断され、DC 細胞表面上のクラス I、クラス II に提示され、対応する特異的 T 細胞を刺激する。担癌生体における癌治療過程では所属リンパ節における“Treg と Th1 の攻防”が、その後の癌特異的 CTL 誘導を決定する重要因子であることを考慮すると、H/K-HELP が従来のショートペプチドと異なり、所属リンパ節の DC にのみ提示され、Th1 細胞、Tc1 細胞を効果的に誘導できることが、ヒト臨床研究で H/K-HELP が予想外のよい効果を示した重要な理由のひとつと考えられる。

図 10-B に示したように、H/K-HELP ワクチ

ンはショートペプチドに比べ、より長くワクチン効果が持続し、short peptide は 10 日ほどで減弱しはじめるのに対して、H/K-HELP を接種したマウスの抗原提示 DC 細胞は 90 日以上の間、T 細胞刺激能を持続することができた。さらに、H/K-HELP は short peptide に比べて効果的に癌特異的テトラマー陽性のキラー T 細胞やヘルパー T 細胞を誘導でき、担癌マウスを完全治癒させることができる強い抗腫瘍免疫を誘導できることが示された (図 10-C, D)

おわりに

癌抗原が発見され、癌特異的免疫治療で癌の制圧をと思っていたが、癌幹細胞の概念や免疫バランスのあらたな概念が提唱され、癌はさまざまな治療法を回避しながら無制限な増殖を維持し、免疫監視機構までも味方にして生き延びる術をもっているらしいことが判明した。サイエンスのロマンがつかないことは科学者冥利に尽きる。しかし、癌に苦しむ人口は増加するなかで、1 日も早く免疫理論に基づいた治療法を開発することが科学者の急務であると考えている。もし、癌幹細胞に存在する共通癌抗原を見出し、その抗原に特異的な Th1 細胞を誘導することができれば、Treg の誘導を抑制しながら癌患者に癌特異的 CTL を効果的に誘導でき、再発防止さえも可能な画期的な癌免疫細胞治療の開発が期待できるであろう。放射線治療により癌特異的 CTL が腫瘍内に誘導されることも確認しており¹⁵⁾、臨床に应用する際には放射線治療や化学療法剤などと併用治療をすることが、よりよい癌免疫療法の開発につながるものと考えている。

Th1 細胞治療に関するマウスを用いた基礎的研究はほぼ終了し、その免疫理論背景にも矛盾はないものと考えている。事実、H/K-HELP 癌ワクチン治療の第 I 相試験で、効果的な Th1 依存免疫の誘導と相まって評価対象癌が画像上、完全に消失する症例が確認された。したがって、ヘルパーエピトープとキラーエピトープを結合させた癌抗原ロングペプチドの開発が今後、有効な癌ワクチンとして世界中の争点となると予想される。

また著者らは、細胞治療の最終ゴールは Th1 細胞

胞治療と信じている。最近, Survivin-H/K-HELPを用いて癌患者末梢血から誘導したTh1細胞とSurvivin-H/K-HELPを用いたTh1細胞治療の第I相臨床研究を世界に先がけ開始し,すでに良好な結果を得たので,今後の臨床研究成果にも期待したい。

文献

- 1) van der Bruggen, P. et al.: *Science*, **254**: 1643-1647, 1991.
- 2) Hattori, T. et al.: *Cancer Immunol. Immunother.*, **58**: 1843-1852, 2009.
- 3) Kenter, G. G. et al.: *N. Engl. J. Med.*, **361**: 1838-1847, 2009.
- 4) Nishimura, T. et al.: *J. Exp. Med.*, **190**: 617-627, 1999.
- 5) Chamoto, K. et al.: *Cancer Res.*, **66**: 1809-1817, 2006.
- 6) Zhang, Y. et al.: *Int. Immunol.*, **19**: 151-161, 2007.
- 7) Takahashi, N. et al.: *Cancer Sci.*, **103**: 150-153, 2012.
- 8) Curiel, T. J. et al.: *Nat. Med.*, **10**: 942-949, 2004.
- 9) Cheng, P. et al.: *J. Exp. Med.*, **205**: 2235-2249, 2008.
- 10) Wakita, D. et al.: *Eur. J. Immunol.*, **40**: 1927-1937, 2010.
- 11) 脇田大功, 西村孝司: *Medical Science Digest*, **36**(2): 18-20, 2010.
- 12) Sumida, K. et al.: Anti-IL-6 receptor mAb eliminates myeloid-derived suppressor cells and inhibits tumor growth by enhancing T-cell responses. *Eur. J. Immunol.* (in press)
- 13) Tajima, M. et al.: *Int. Immunol.*, **23**: 751-759, 2011.
- 14) Satoh, T. et al.: The development of IL-17/IFN- γ -double producing CTLs from Tc17 cells is driven by epigenetic suppression of Socs3 gene promoter. *Eur. J. Immunol.* (in press)
- 15) Takeshima, T. et al.: *Cancer Res.*, **70**: 2697-2706, 2010.
- 16) DeNardo, D. G. et al.: *Cancer Cell*, **16**: 91-102, 2009.
- 17) Rosenberg, S. A. et al.: *Nat. Med.*, **10**: 909-915, 2004.
- 18) Dudley, M. E. et al.: *Scienc*e, **298**: 850-854, 2002.
- 19) Hunder, N. N. et al.: *N. Engl. J. Med.*, **358**: 2698-2703, 2008.
- 20) Ohkuri, T. et al.: *Br. J. Cancer*, **100**: 1135-1143, 2009.

* * *

特集：免疫疾患の病理解明と診断の進歩
 総 説

ヘルパー T 細胞を軸とした癌免疫応答の制御
 —基盤研究から次世代癌ワクチン，H/K-HELP の発見まで—

西村 孝司^{*1,*2}

The regulation of antitumor immune responses by helper T cells
 —From the bench research to the discovery of H/K-HELP cancer vaccine—

Takashi NISHIMURA^{*1,*2}

^{*1}*Division of Immunoregulation, Institute for Genetic Medicine Hokkaido University*

^{*2}*Division of ROYCE' Health Bioscience, Institute for Genetic Medicine Hokkaido University*

(Received August 22, 2012)

summary

During past decades, cancer vaccine therapy has been focused on only the activation of CTL, but its therapeutic effect was not successful though long SD was induced. The failure of cancer vaccine is derived from (i) the existence of a strong tumor escape mechanisms and (ii) the ignorance of helper T cell activation. We have proposed that Th1-dominant immunity played a critical role for overcoming immunosuppressive tumor-escape mechanisms to induce tumor-specific CTL, which are essential for the complete cure of tumor and prevention of tumor recurrence. To apply these basic findings, we started a clinical trial of a novel cancer vaccine/cell therapy (Th1 cell therapy) using H/K-HELP of MAGE-A4 or Survivin cancer antigen. In phase I study, H/K-HELP consisted of both killer and helper epitopes and Th1 adjuvants (OK-432 and Montanide) were subcutaneously administered into cancer patients 4 times at 2 wks intervals. Both MAGE-A4-H/K-HELP and Survivin-H/K-HELP cancer vaccine induced cancer-specific Th1 and Tc1 immune responses and cancer-specific C-fixing antibodies (IgG1 and IgG3) in cancer patients. Moreover, Survivin-H/K-HELP vaccination induced a complete regression of chemo and radio-resistant lateral deep cervical node recurrence of triple-negative breast cancer. H/K-HELP vaccination with Th1 adjuvants or its combination with Th1 cells will become a promising cancer vaccine/cell therapy of human cancer.

Key words—cancer vaccine therapy; H/K-HELP; helper T cells; Th1 cells

抄 録

CTL の活性化に焦点をあてた癌ワクチン治療で、癌患者の生存日数は延長したが、未だ期待されたほどの成果は得られていない。この敗因の主な原因として(i)担癌生体における強い免疫抑制、(ii)ヘルパー T 細胞活性化を無視した、こと等があげられる。我々は、これまで、担癌生体の免疫抑制、癌エスケープ機構を打破して、癌特異的な CTL を誘導するためには、Th1 主導免疫の導入が重要であることを提唱してきた。この基盤研究を臨床研究に結びつけるために、ヒト癌抗原 (MAGE-A4 と Survivin) の新たなヘルパーエピトープを同定した。さらに、ヘルパー T 細胞とキラー T 細胞の両者を活性化できる Helper/killer-hybrid epitope long peptide (H/K-HELP) を開発して、H/K-HELP 癌ワクチン治療の第一相臨床研究を開始した。従来のショートペプチドに比べて、ワクチン開始早期に癌特異的抗体 (Th1 依存的 IgG1 や IgG3) の上昇や癌特異的 Th1, Tc1 の活性化が多く患者で確認された。臨床効果としては、大腸癌の増殖抑制やトリプルネガティブの転移性乳癌の消失が確認された。従って H/K-HELP ロングペプチド癌ワクチンは、革新的次世代癌ワクチンとして期待される。

はじめに

1991 年のテリー・ブーン博士らによるがん抗原の発見によって、がんに対する特異的免疫誘導が可

能であることが示された¹⁾。アミノ酸 8~9 個からなるクラス I 結合性がん抗原キラーペプチドを用いたがんワクチン治療の臨床研究は、一時は無効とされたが、最近では、癌組織の縮小は認められない場合が多いものの、癌特異的 CTL が弱いながらも誘導され、制癌剤との併用により癌患者の生存日数が

^{*1}北海道大学遺伝子病制御研究所・免疫制御分野

^{*2}ROYCE' 健康バイオ

大幅に延長されることが示されている²⁾。さらに、最近では、クラス II 結合性癌抗原ヘルパーペプチドの同定もなされ、ヘルパー T 細胞とキラー T 細胞の両者を活性化できる Synthetic Long Peptide (SLP) の混合ワクチンがオランダの Melief らによって開発され、HPV で誘発されるヒト外陰部上皮異形成の治療効果があることが示された³⁾。我々は 30 数年に及ぶ基盤的癌免疫研究から、より有効な癌免疫治療を開発するためには、①担癌生体の免疫抑制性癌エスケープ機構を解明することと②宿主免疫抑制を打破するためのヘルパー T 細胞、特に癌特異的 Th1 細胞を活性化することが重要であることを提唱してきた^{4~6)}。最近、①に関しては、新たな分子メカニズムや免疫抑制性細胞群が明らかにされ、さらには癌治療抵抗性を担う癌幹細胞の存在も明らかになってきている。また、②に関しては、癌抗原ヘルパーエペトープの同定により、癌特異的 Th1 細胞の誘導が可能となり、さらに、ヘルパーエペトープとキラーエペトープを化学的に結合させた人工癌抗原ロングペプチド (H/K-HELP : helper/killer hybrid epitope long peptide) も開発され、臨床研究において Th1 依存的免疫の誘導効果や癌消失効果も証明されている⁷⁾。本章では、担癌生体における免疫抑制打破における Th1 主導免疫の重要性や H/K-HELP 癌ワクチン開発に至る癌免疫の基盤研究とその成果の臨床研究への応用、そして再びなぜ H/K-HELP ロングペプチドワクチンが従来のショートペプチドに比べ有効であるかを解き明かす基盤研究について概説したい。

I. 担癌生体における免疫抑制・癌エスケープ機構

がん患者末梢血リンパ球は健常人のそれに比べ、異常に T 細胞応答が低下している。これは、癌が増殖と共に、宿主の免疫応答を抑制し、癌が増殖しやすい場を形成するためと考えられる。従来は、(1) 癌細胞における MHC の消失、(2) 癌細胞あるいは免疫担当細胞による免疫抑制因子 (TGF- β や IL-10) の産生などが免疫逃避の主なメカニズムとして報告されてきた。しかし、最近では担癌生体の癌局所において異常に集積する CD4⁺Foxp3⁺ 制御生 T 細胞 (Treg)、CD11b⁺Gr-1⁺ 未熟ミエロイド細胞 (Immature myeloid cells : ImC)、ImC 由来のサブレッサーマクロファージなど (総称して MDSC : myeloid-derived suppressor cells) による免疫抑制が注目を浴びている^{8,9)}。また我々は、IL-17

産生細胞が腫瘍血管形成を促進し、癌の増殖を促進する protumor 細胞であることも明確にしている¹⁰⁾ (図 1)。紙面の都合上、詳細については、他の総説¹¹⁾を参考にさせていただき、ここでは我々が見出した免疫抑制・癌エスケープに関する新たな知見についてのみ概説する。

1. 癌幹細胞と Treg

最近、放射線療法や制がん剤に対して耐性を示す癌幹細胞の概念が提唱されているが、この癌幹細胞が免疫療法に対しても耐性を示すか否かは明らかにされていない。筆者らは、癌幹細胞と免疫逃避に関する研究を行うために、メチルコラントレン誘発 CMC1carcinoma から CD133⁺ 癌幹細胞と CD133⁻ 非癌幹細胞を分離し、単離した CD133⁺ 癌幹細胞と CD133⁻ 非癌幹細胞の活性型 TGF- β の産生能を検討した。その結果、CD133⁺ 癌幹細胞が非癌幹細胞よりも TGF- β 産生能が高く、CD133⁺ 癌幹細胞を接種した担癌マウスの所属リンパ節では CD133⁻ 非癌幹細胞担癌マウスに比べ、CD4⁺Foxp3⁺ Treg が TGF- β 依存的に多く誘導されていることが明らかとなった。現在、なぜ癌幹細胞が活性型 TGF- β を高産生するのかに関する分子メカニズムもほぼ解明が終わり、「CD133⁺ 癌幹細胞は、非癌幹細胞に比べ、活性型 TGF- β を高産生し、Treg を誘導することによって、CD8⁺CTL を介した癌免疫監視機構から逃避している」ことを明らかにしている (図 1-①)。

2. 担癌生体におけるミエロイド由来免疫抑制性細胞 (MDSC)

担癌マウス脾臓内には CD11b⁺Gr-1^{low} : F4/80⁺ マクロファージ (M ϕ -ImC)、CD11b⁺Gr-1^{mid} : 好中球桿状核球 (Neut_{stab}-ImC)、CD11b⁺Gr-1^{high} : 好中球分葉核球 (Neut_{seg}-ImC) の 3 つのサブセットが存在する。担癌生体において、過剰産生される GM-CSF、IL-6、VEGF などによってこれらの ImC が脾臓内で異常増殖したと考えられる。Gabrilovich らは、3 つのサブセット全てを含む細胞群を ImC suppressor あるいは MDSC と定義している⁹⁾。しかし、我々は、担癌生体の脾細胞で免疫抑制活性を示すのは、M ϕ -ImC のみで、他の Neut_{stab}-ImC、や Neut_{seg}-ImC は免疫抑制を示さず、脾臓内に集積したこれら ImC 群は、腫瘍内に移住後に、IL-6 や TGF- β 等の腫瘍微小環境サイト

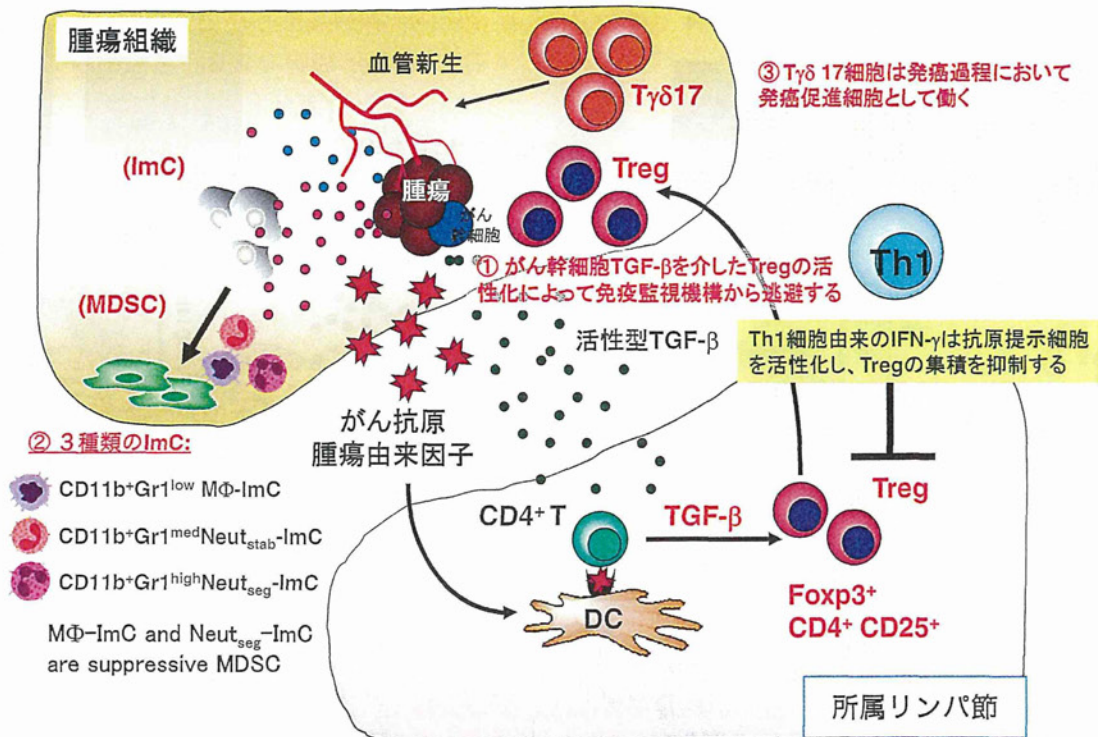


図1 担癌生体内における免疫逃避機構

腫瘍は自身の生存や増殖に有利な微小環境を形成し、異常な増殖を可能にしている。筆者らは、腫瘍内微小環境において、①制御性T細胞(Treg)、②骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)、③IL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞(T $\gamma\delta$ 17)が誘導され、おのおの癌免疫監視機構からの逃避や腫瘍増殖の維持に関与していることを見いだしている。

カインの影響で免疫抑制性MDSC(M Φ -ImCとNeut_{seg}-ImC)へと形質変換し、非常に強い免疫抑制を示すことを証明している。従って、真のMDSCはM Φ -ImCとNeut_{seg}-ImCのみで、これらのMDSCをターゲットにした新たな癌治療も考えられる。事実、我々は抗IL-6R抗体とGEMの併用投与により、免疫抑制を担うM Φ -ImCとNeut_{stab}-ImCが選択的に除去され、担癌生体のT細胞応答が増強され、より効果的な抗腫瘍免疫が誘導されることを証明した(図1-②, 図2)¹²⁾。

3. 癌組織に浸潤したIL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞はprotumor細胞である

免疫バランス制御の新しいパラダイムの提唱、すなわち、Th1/Th2細胞以外のTreg/Th17細胞の発見によって、従来は考えることができなかった免疫調節機構を自己免疫病や担癌生体内で再検討する必要性が出てきた。BALB/cマウス腫瘍組織内に浸潤するIL-17産生細胞群を調べてみると、CD4⁺T細胞やCD8⁺T細胞ではなく、 $\gamma\delta$ T細胞が主な産生細胞であることが分かった。この $\gamma\delta$ T細胞は、皮膚常在性 $\gamma\delta$ T細胞ではなく、全身循環している $\gamma\delta$ T細胞であり、腫瘍組織へ浸潤後に、TCRを介した

抗原刺激、NKG2Dを介した補助刺激、あるいは癌微小環境で産生されるIL-6, TGF- β , IL-23の刺激を受けT $\gamma\delta$ 17に分化することが明らかにされた¹⁰⁾。IL-17KOマウスでは、メチルコラントレン誘発carcinomaの形成が腫瘍血管の新生とともに抑えられるので、IL-17は腫瘍血管新生促進を介して、発癌を促進する因子と考えられる(図1-③)。また、筆者らは、IL-17の扁平上皮癌誘発における促進効果は、遺伝子支配されており、Th2マウスであるBALB/cでは、発癌初期におけるT $\gamma\delta$ 17細胞の浸潤と並行して、癌幹細胞様細胞の異常増殖、慢性炎症の遷延化ならびにcarcinomaの形成が認められるのに対して、Th1マウスのC57BL/6マウスにおいては、T $\gamma\delta$ 17細胞よりも、Th17細胞が浸潤し、皮膚の肥厚、炎症は早期に沈静化し、Carcinomaは形成されず、Fibrosarcomaのみが誘発されることを見出している(図3)。炎症の質の違いと異なる組織癌の発生に関する興味深い知見である。Th17, Tc17, T $\gamma\delta$ 17等のIL-17産生細胞が発癌や癌の増殖過程において、protumor, antitumorのいずれとして作用を示すのかという論争が続いたが、筆者らはそれに対する解答をTc17を用いた研究で最近明らかにした¹³⁾。Tc17細胞はIL-17産生を介し

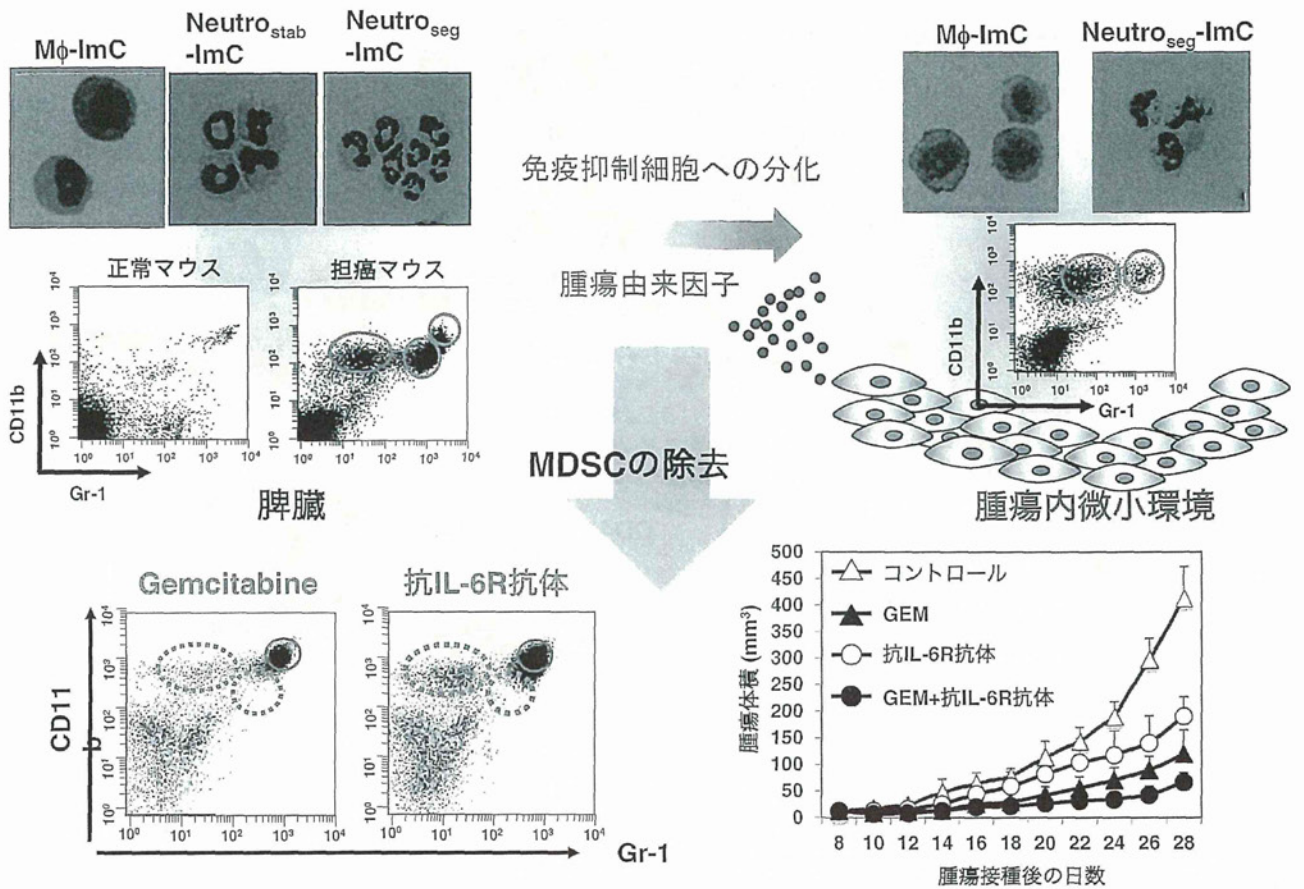


図2 担癌生体におけるミエロイド由来免疫抑制細胞

担癌生体内で異常増殖する CD11b⁺Gr-1⁺ 細胞は免疫抑制細胞として、MDSCと総称されているが、脾臓内では免疫抑制能を示さない Neut_{seg}-ImC, Neut_{stab}-ImC, 免疫抑制能を有する Mφ-ImC の 3 種のサブセットが存在する。これらの細胞は、腫瘍内環境に曝されることによって強い免疫抑制能を有した Neut_{seg}-ImC, Mφ-ImC へと分化する。また、抗 IL-6R 抗体と Gemcitabine (GEM) の併用投与により、MDSCが除去され、抗腫瘍免疫を増強し、腫瘍増殖を抑制することができる。

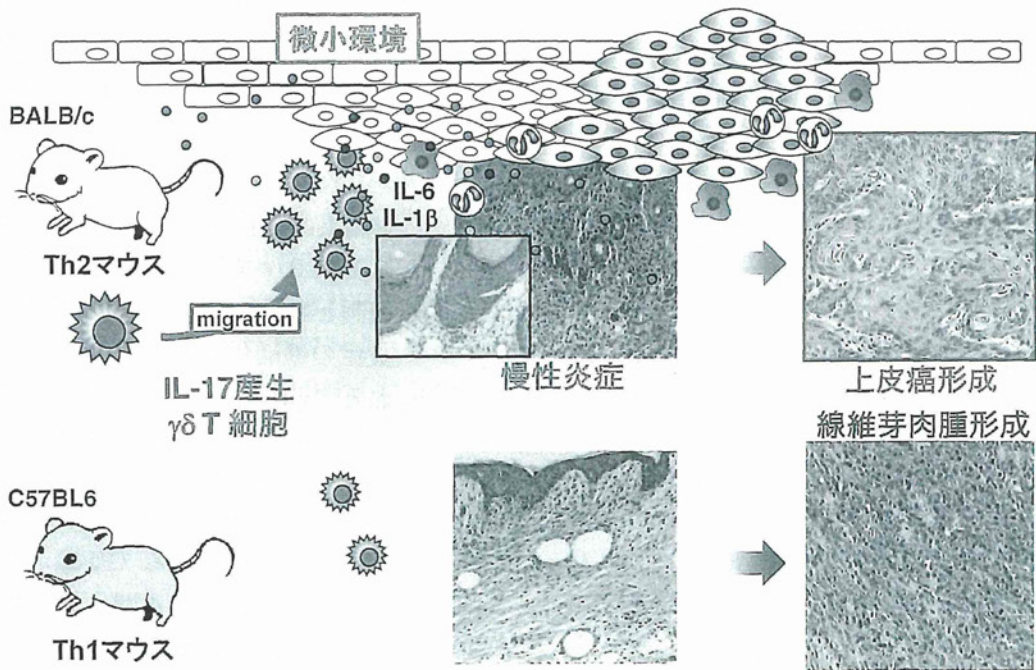


図3 IL-17 産生 γδT 細胞は発癌プロモータ細胞 (protumor cell) として働く

発癌過程の局所組織では、IL-17 産生 γδT 細胞が浸潤し、慢性炎症を誘起することで上皮癌の発生の促進に寄与している。IL-17 を介した炎症応答制御は強い遺伝子支配を受け、Th2 マウスである BALB/c マウスでは IL-17 産生 γδT 細胞が誘導され、上皮癌が発生するのに対し、Th1 マウスである C57BL/6 マウスでは IL-17 産生 γδT 細胞の誘導は弱く、線維芽肉腫の発生が認められた。

てケモカイン産生を促し、炎症を惹起する能力は持つが、パーフォリンの発現もキラー活性も示さず、抗腫瘍活性は示さない。しかし、Tc17がIL-12の存在下などでEpigeneticalにPlastic change(可塑的变化)を起こすと、IL-17産生と同時にIFN- γ 産生能も獲得し、IFN- γ 依存的にパーフォリンを発現し、キラー活性を有するIL-17/IFN- γ double producing Tc17/IFN- γ 細胞に変換し、生体内においてもTc1細胞と同等の抗腫瘍活性を示すようになる¹⁴⁾。すなわちIL-17産生細胞は通常の微小環境ではprotumorとして機能し、炎症や血管新生に関与する細胞であるが、Th1環境下では可塑的变化を遂げ、組織傷害性能力を獲得、antitumorエフェクター細胞へと変換し抗腫瘍免疫にも関与すると思われる。Tc17, Th17がIFN- γ のみを産生するTc1やTh1にepigenetical変化を遂げeffector細胞になり得ることも報告されている。

II. Th1主導免疫の導入による担癌生体免疫抑制の打破

上記のように、担癌生体には癌の増殖とともに癌のエスケープを助ける強い免疫抑制が誘導される。従って、がん患者に癌ワクチン療法を施行する場合には、如何にしてこの負の免疫監視機構を克服し、癌特異的キラーT細胞(Tc; CTL)を誘導するかが重要な課題となる。『腫瘍から浸潤リンパ球を濃縮して培養すると、リンパ球は存在するにも関わらず、数日で死滅し、混在する癌細胞のみが増殖してくる。しかし、ここに、一滴のIL-2を加えると、癌を殺しながら増殖するキラー(LAK)が誘導される。』筆者が30数年前の学生時代に出くわした、セレンディビティーである(図4)。その日から、IL-2を産生するヘルパーT細胞が腫瘍局所に存在すれば、担癌生体の免疫抑制は克服できるに違いないと考え、①樹状細胞(DC)による癌抗原のプロセッシング、②ヘルパーT細胞(Th)による抗原認識、活性化、そして③癌特異的キラーT細胞(Tc; CTL)の強い活性化誘導までの、自然免疫から獲得免疫までの一連の反応がTh1主導免疫を活性化できるタイプ1免疫依存的に進行する事が重要であることを提唱してきた^{4~6)}。

IL-12, α -GalCel+IL-12, CpG, OK-432, Poly-I: C, Th1細胞等が、タイプ1免疫を誘導する手段としてあげられ、TLRを介したリガンドとしては、CpGが最も優れたTh1免疫誘導アジュバントと考

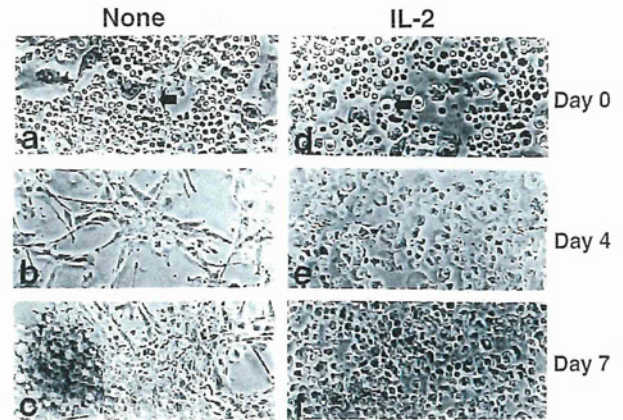


図4 IL-2を用いた腫瘍内浸潤リンパ球(TIL)からのTIL-LAKの誘導

TILからグラスウール附着性の癌細胞(→で示した大型の細胞)を除去し、リンパ球(癌以外の小型の細胞)が8割、癌細胞が2割程度混在したTILを調整。通常培養(a-c)では、リンパ球はすぐに消失し、7日後には癌のみが単層に増殖する。癌微小環境におけるリンパ球の無力さを物語っている。しかし、IL-2添加群(d-f)では、癌が死滅し、7日後にはリンパ球のみが増殖していた。増殖してきた細胞は、癌なら何でも殺し、正常細胞は傷害しないキラー細胞であり、TIL-LAKと呼ばれた。

えられる。事実、CpGをアジュバントとして癌抗原ワクチンを担癌動物に摂取することにより、非常に強い抗腫瘍免疫が誘導される。しかし、Tregの免疫抑制を打破できるという点においては、CpGよりも、癌特異的Th1細胞でTh1主導免疫を導入する方が優れている⁶⁾。Th1細胞と癌抗原を腫瘍近傍に投与することによって、担癌マウス生体に癌特異的CTLを効率よく誘導でき、癌の完全治癒も誘導することができる^{4~6)}。Th1細胞は癌局所で生きたサイトカイン徐放剤の如く機能すると考えられる。OVA遺伝子を仮想癌抗原として導入したEG7癌細胞を摂取したC57BL/6マウスに、OVA特異的Th1細胞とOVA仮想癌抗原タンパクでワクチン治療すると、癌細胞にMHCクラスIIが発現しないにも関わらず癌は消失する(図5左)。これは、癌局所にはMHCクラスII抗原を発現した抗原提示細胞(APC)が存在し、仮想癌抗原OVAを腫瘍内あるいは近傍に投与すれば、APCがOVAを提示し、OVA特異的Th1が癌局所に浸潤しやすい状況を作り出すことができるからである。Th1細胞治療のメカニズムは、図5右に示すように1)癌抗原をプロセッシングした樹状細胞が所属リンパ節に移住し、Th1細胞と相互作用する、2)癌抗原を提示した樹状細胞によりTh1細胞が激しく分裂して、サイトカインを産生する、3)Th1細胞の活性化が起こる所属リンパ節に、血中を循環する宿主CD8⁺T細胞

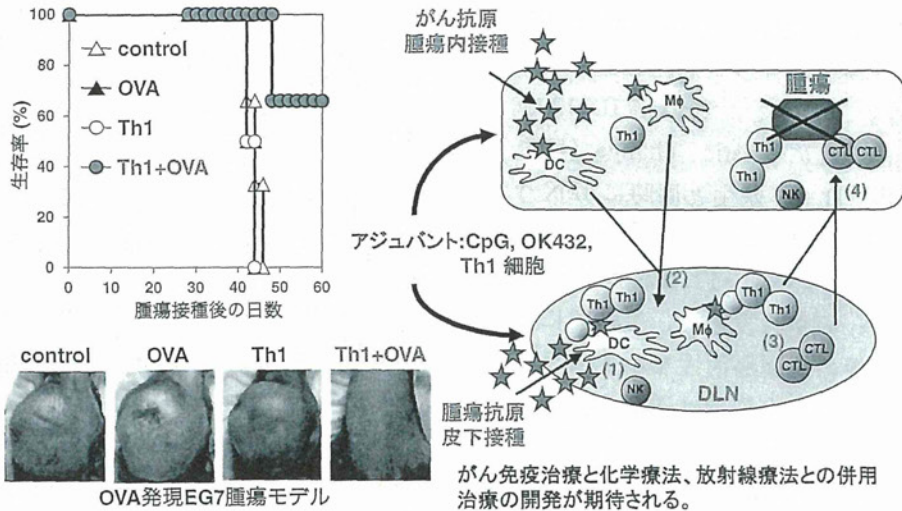


図5 がん免疫治療における Th1 主導免疫の重要性

仮想がん抗原として OVA を発現する EG7 腫瘍細胞 (MHC II 陰性) の担癌マウスに OVA 特異的 Th1 細胞, OVA タンパクを用いた Th1 細胞治療を実施した. Th1 細胞と OVA を接種した治療群において, 非常に強い抗腫瘍効果が確認された (左図). Th1 主導免疫によるがん治療では, 右図. (1)から(3)のがん所属リンパ節における樹状細胞の活性化を介した Th1 細胞, CTL の誘導が重要なステップであり, 活性化した CTL が腫瘍局所へと浸潤して癌細胞を殺傷し, 治癒を誘導している. 標準療法と Th1 主導免疫が将来の理想的免疫治療になると考えられる.

が移住し, 癌特異的テトラマー陽性 CTL が誘導される. 4) CTL が所属リンパ節から癌組織に遊走して癌組織を破壊する. 従って, 癌局所で炎症をおこし, 所属リンパ節で Th1 依存的免疫反応を惹起させることが癌特異的 CTL の誘導および癌拒絶には不可欠と考えられる. Th1 細胞治療の特筆すべき点は, 癌や所属リンパ節に誘導される Treg の増加, 蓄積を IFN- γ 依存的に抑制できる点である⁶⁾. また, Th1 微小環境で Tc17 等も抗腫瘍エフェクターに変換させる利点も考えられる. 既に, 放射線療法や化学療法 (GEM) と Th1 細胞治療との併用療法がより有効であることも確認している¹⁵⁾. 最近, Th2 細胞が産生する IL-4 が MDSC の機能を調節して原発乳がんの転移を促進することも報告され, Th1 主導免疫の導入が癌の転移や増殖抑制には重要であることが再度確認された¹⁶⁾.

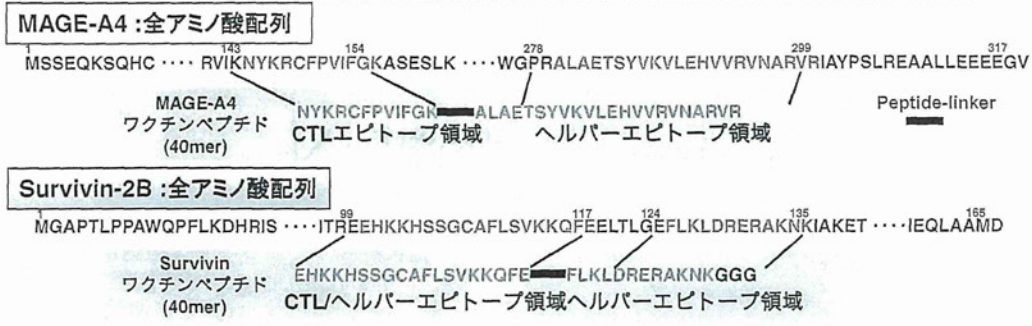
III. Helper/killer hybrid epitope long peptide (H/K-HELP) ワクチンの開発と臨床研究への応用

CTL を軸とした癌免疫治療, すなわち, MHC クラス I 結合性がん抗原ペプチドを用いた癌ワクチン療法, あるいは試験管内で誘導した CTL を用いた癌の細胞治療においては, メラノーマなどの癌種に対する有効例は示されているが, 当初期待されたほどの, 多くの癌に対する有効な治療効果は報告されていない¹⁷⁾. これは, ヒト CD8⁺CTL は IL-2 の

産生が弱く, 生体内においても多くの癌細胞を殺すことなく, 短い寿命で特攻隊のように死滅して行くためであろうと想像される. しかし, MHC クラス I 結合性がん抗原を用いた癌ワクチン療法においても, 癌は退縮しないが, 制癌剤との併用により, 患者の QOL が改善され, 癌とともに長期生存する long SD の症例が報告された²⁾. 完璧ではないが癌ペプチドには癌細胞増殖阻止効果があることは証明された. 筆者は, 癌ワクチン・細胞治療の有効性を増強させるためには CD4⁺ ヘルパー T 細胞が重要であることを一貫して提唱してきた⁴⁻⁶⁾. 抗がん剤の投与によって lymphopenia を誘導, CTL を移入し Homeostatic expansion で CTL 増殖を促すことで, 優れたがん治療効果が期待できると Rosenberg らは報告しているが¹⁸⁾, この治療系においても CD4⁺ T 細胞の混在が必要である事が述べられている. 最近, 同グループが行っていた, CD8⁺ T 細胞に癌特異的 TCR 遺伝子と IL-12 遺伝子を導入した癌の細胞治療で複数の死亡例が報告され, CD8⁺ T 細胞を非生理的条件下で過剰に活性化させる治療法の困難さが浮き彫りにされ, 今後, 癌特異的 CD4⁺ T 細胞を用いた, より生理的な抗腫瘍免疫の活性化が重要な課題になると考えられる. 米国においては, NY-ESO-1 特異的な CD4⁺ T 細胞を用いた細胞治療が「癌に対する Endgame begins」というコメントと共に 1 例報告された¹⁹⁾が, 普遍的な癌特異的ヘルパー T 細胞の誘導培養法は確立されていなかった

ヘルパーT細胞とキラーT細胞の両者を活性化できる人工長鎖がんペプチドワクチン

Helper/Killer Hybrid Epitope Long Peptide (H/K-HELP) 40mer



がん抗原	非小細胞癌	食道癌	大腸癌	胆道癌	黒色腫	卵巣癌	頭頸部癌	乳癌
MAGE-A4	28.4%	58.8%	30.0%	16.7%	20.0%	25.0%	42.9%	13.0%
Survivin	83.5%	70.6%	63.5%	-	98.4%	-	80.0%	93.6%

HLA 抗原	発現頻度		HLA 抗原	発現頻度	
	日本人	白人		日本人	白人
MAGE-A4			Survivin		
DPB1*0501	64%	little	DRB1*0101	10%	15%
DRB1*1403	10%	0%	DR53	50% >	50% >
DRB1*1501	20%	33%	DQB1*0601	30%	3%
DRB1*1502	19%	0.7%	DPB1*050	64%	little
DRB1*0101	10%	15%			

図6 Th1細胞とCTLの両者を活性化するH/K-HELPの開発

がん抗原であるMAGE-A4およびSurvivinについて、キラーエпитープとヘルパーエピトープをpeptide-linkerを用いて結合した40個のアミノ酸からなるロングペプチド (Helper/killer-Hybrid Epitope Long Peptide (H/K-HELP)) を作出した。MAGE-A4, Survivinは多くの癌種で高頻度に発現が認められ、がん免疫治療の標的として非常に有用である。また、H/K-HELP作成に用いたキラーエピトープ、ヘルパーエピトープは様々なHLAアレルへの拘束性を確認しており、ほぼ100%の日本人に適応可能である有効ながんワクチンペプチドである。

た。
 しかし、筆者らは最近、多くの日本人に汎用性のある数種のMHCクラスII癌抗原ヘルパーペプチドを単離し²⁰⁾、それらのペプチドを用いて癌特異的Th1細胞を容易に試験管内で誘導することに成功している。図6に示したように、MAGE-A4やsurvivinは多くの癌に発現している。さらに、我々は、癌特異的Th1細胞を誘導するためには、従来の15-24merのshortペプチドより、40merのロングペプチドが有効であることを見出し、ヘルパーエピトープとキラーエピトープを人工的に結合させたHelper/Killer-Hybrid Epitope Long Peptide (H/K-HELP) を作製した⁷⁾。筆者の最終ゴールはH/K-HELPとH/K-HELP特異的Th1細胞の両者を用いたTh1細胞治療であるが、それに先立ち、NEDOプロジェクトで、H/K-HELP癌ワクチンの安全性を確認するための第一相試験を北海道大学病院、札幌北楡病院、㈱バイオミューランス、テラ㈱との共同研究で開始した。最終的には、東海大学、慈恵医大、近畿大、愛媛大、産業医科大とも連携し、全国的多施設共同ヘルパーコンソーシアムを構築して本研究の推進を計った (図7)。第一相臨床研究の目的はH/K-HELPの安全性確認であり、副次目的は、癌ワクチン接種による免疫誘導効果のモニタリングである。マウス実験系においては、クラスII結合性ペプチド投与による抗腫瘍効果を誘導することは困難であったので、ヒト臨床試験においても、生体ペプチターゼで分解されてしまい、期待するペプチドワクチン効果は難しいのではないかと考えていた。しかし、OK-432とMontanideをアジュバントとして用いて、MAGE-A4-H/K-HELPおよびSurvivin-H/K-HELP癌ワクチン治療を施行したところ、驚くべきことに、従来のキラーT細胞をターゲットとしたショートペプチドに比べ、ワクチン投与後、早期に癌特異Th1細胞、Tc1細胞の活性化誘導が確認された。さらに、Th1依存的に誘導される、IFN- γ 依存的にクラススイッチを起こす補体結合性のIgG1, IgG3サブクラスの癌特異的抗体の上昇も確認された (図8)⁷⁾。既に、第一相臨床研究は終了し、これまで評価可能患者11例中9例でH/K-HELP特異的な免疫反応が確認されている。この中には、トリプルネガティブの乳癌患者

癌抗原分子由来H/K-HELPを用いた新規癌ワクチン療法 — MAGE-A4 と Survivin H/K-HELP — 第I相臨床試験

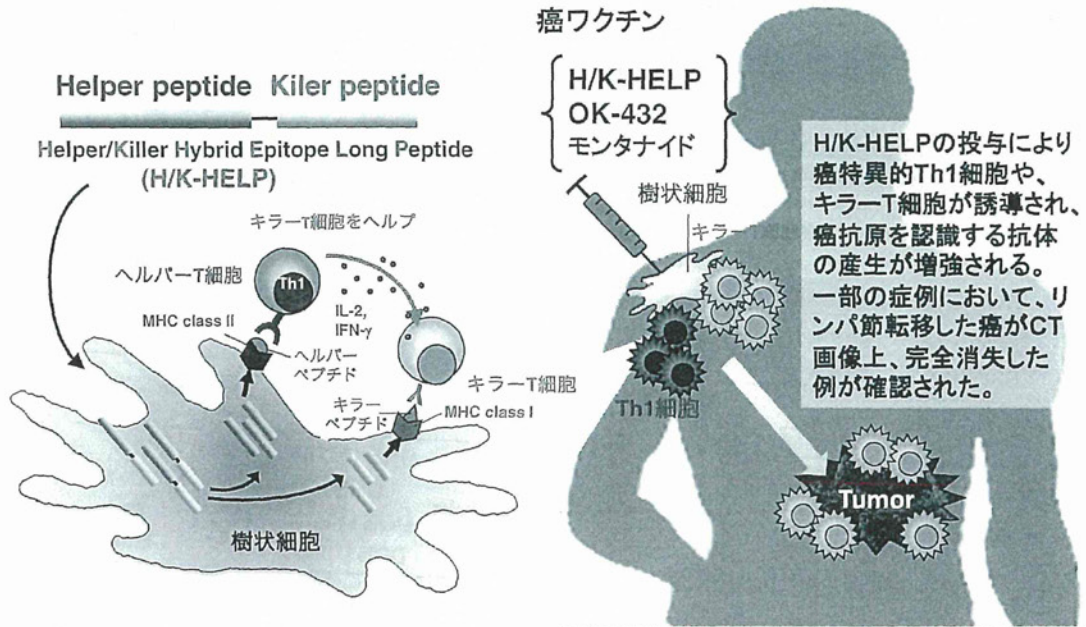


図7 がん抗原由来 H/K-HELP を用いたがんワクチン治療第 I 相臨床試験

Th1 細胞と CTL の両者を活性化することによるがんワクチン治療を開発するため、MAGE-A4, Survivin の H/K-HELP を用いたがんワクチン治療の第 I 相臨床試験を NEDO プロジェクトにて実施した。臨床試験実施にあたり、全国的な他施設共同ヘルパーコンソーシアムを構築し、研究の推進を計った。

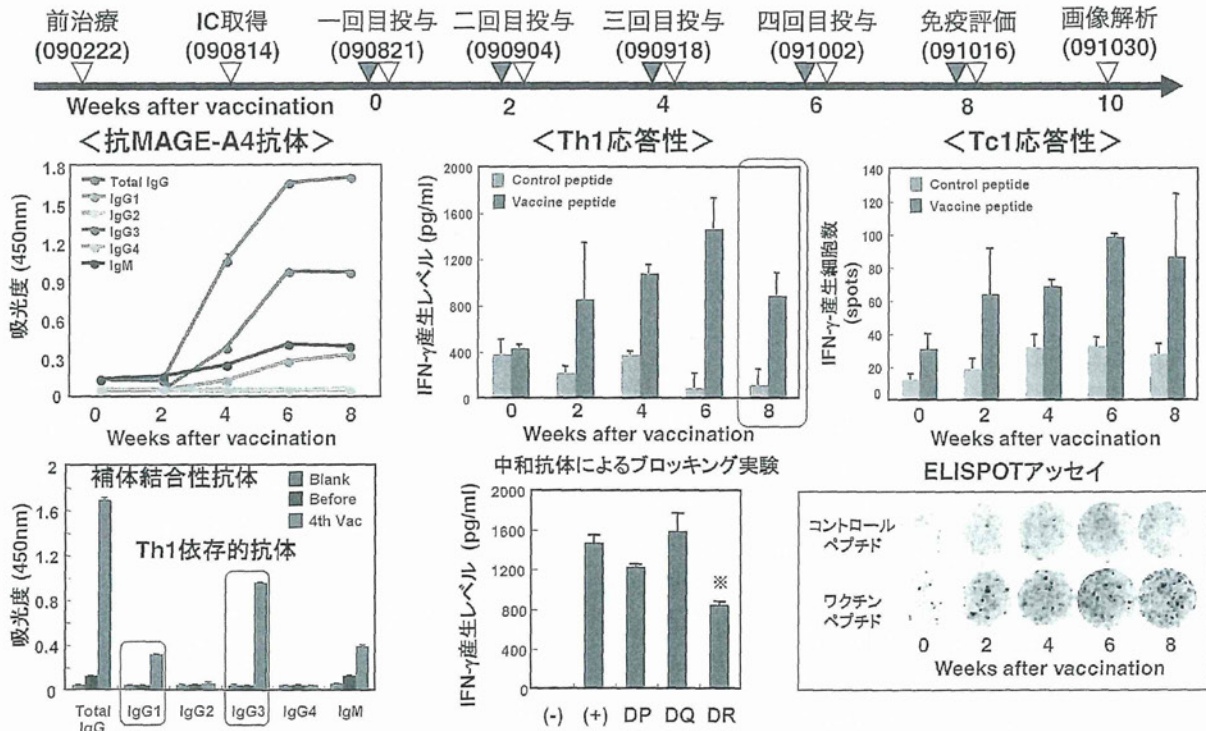


図8 MAGE-A4-H/K-HELP がんワクチン投与による免疫応答の評価

MAGE-A4-H/K-HELP の投与によって、がん患者生体内でペプチド特異的な抗体産生が誘導された。また、その抗体の種類は、Th1 (IFN- γ) 依存的にクラススイッチを起こす補体結合性 IgG1 および IgG3 サブタイプであることが確認された。さらに、ペプチド特異的な Th1, Tc1 免疫応答も増強していたことから、H/K-HELP はがん患者生体内で効果的に Th1 依存的免疫応答を惹起できることが確認された。北海道大学、第一外科、高橋先生、藤堂教授との共同研究。

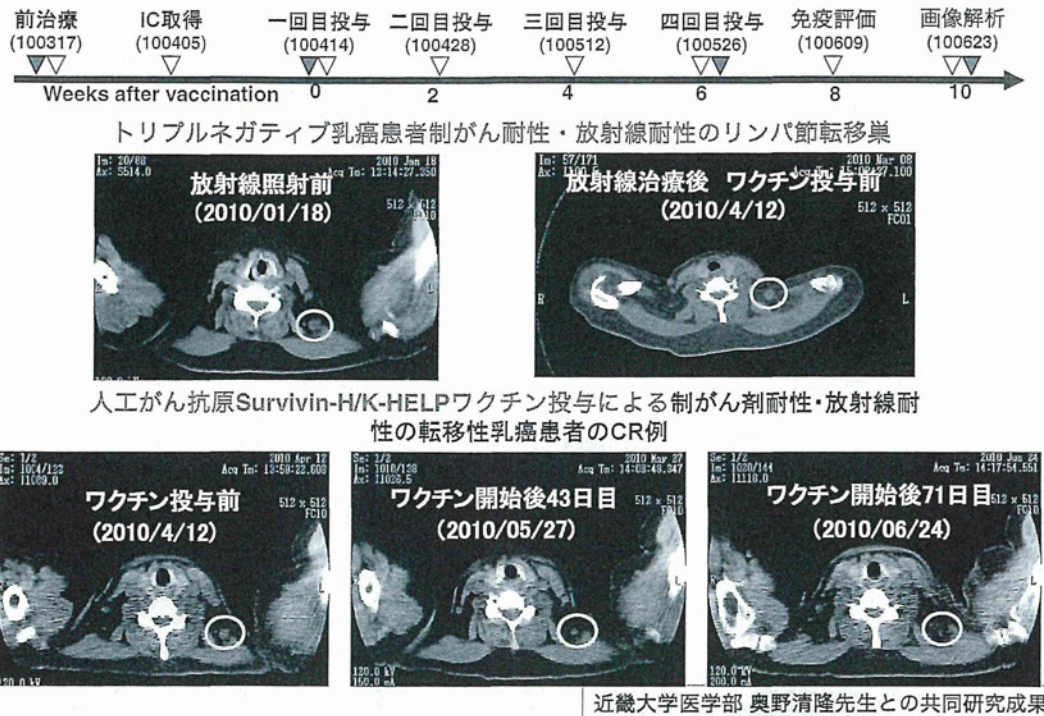


図9 Survivin-H/-HELP がんワクチン治療による転移性乳癌細胞の消失

Survivin-H/-HELP がんワクチン投与によって、制がん剤耐性・放射線耐性のトリプルネガティブ乳がん患者のリンパ節転移がん細胞がCT画像上消失したことが確認された。近畿大学、外科、奥野教授との共同研究。

の制癌剤、放射線耐性、頸部転移癌がCT画像上消失するCR 1例、および癌の増殖が抑えられたSD 1例も観察された(図9)。この結果を受けて、筆者らは、厚生労働省の創薬基盤研究推進事業でSurvivin-H/K-HELPの大腸がん、乳癌に対する効果に関する第二相臨床研究を北海道大学と近畿大学で開始している。

マウスの研究では、ヘルパーペプチドワクチンの投与で、このようなTh1主導免疫を誘導できた経験はなく、ヒトのショートペプチドワクチン治療においても、5-6回のワクチン投与で特異的キラーT細胞が誘導できれば良しとされており、このような早期の免疫応答はあまり例がない。我々が開発したH/K-HELP癌ワクチンは、筆者らが、三十数年間、マウス基盤研究で構築したTh1主導免疫導入による癌免疫治療に関する免疫理論(Proof of concept)をヒトの臨床研究で実証するための良いツールになったと言える。

先にも、述べたが、最も有効な癌免疫治療は、H/K-HELPと癌特異的Th1細胞をセルアジュバントとしても用いる、Th1細胞治療と考えている。これまでは、癌特異的Th1細胞の誘導も困難であったが、筆者らが開発したH/K-HELPを用いれば、癌特異的Th1細胞やTc1細胞の誘導が容易にできる

ことを既に確認している。このH/K-HELPと癌特異的Th1細胞との併用による世界初のTh1細胞治療の臨床研究は、北大病院で開始され、耳鼻科、福田教授らによって良好な治療結果が既に得られている。

IV. ロングペプチド(H/K-HELP)癌ワクチンは何故従来のショートペプチドより有効なのか?

OVAを仮想癌抗原として発現したEG7やA20-OVAを用いて、担癌状態のマウスを完治させるメカニズムを明確にして、「癌を直す免疫理論」を確立しなければ、ヒト癌に対する有効な免疫治療法を開発できないだろうと考え、癌免疫の基盤研究を30数年間続けてきた。「ヒトとマウスは違うし、そんな仮想抗原を発現した癌を直しても、ヒトには応用できないだろう」とコメントする先生もいた。しかし、ヘルパーエピトープとキラーエピトープを化学的に結合させた人工ロングペプチド(H/K-HELP)癌ワクチンの予想もしない臨床研究の成果は、OVAを仮想抗原としたマウス免疫治療モデルの基盤研究から生まれ、マウス癌治療モデルを用いたPOCの構築は決して無駄でないことを教えてくれた。