

大腸癌肝転移に対する腫瘍免疫療法

Immunotherapy for colorectal liver metastases

奥野 清隆* 中居 卓也** 北口 博士***
 Kiyotaka Okuno Takuya Nakai Hiroshi Kitaguchi
 山崎 満夫*4 杉浦 史哲*** 井上 啓介***
 Mitsuo Yamasaki Fumiaki Sugiura Keisuke Inoue

●要旨●腫瘍免疫療法はヒトがんで特異的抗原が同定されたことから急速に臨床応用が試みられ、2010年には前立腺癌に対するワクチンが初めてFDAに認可された。しかし、大腸癌肝転移治療の主体は肝切除であり、免疫化学療法は切除不能肝転移をいかに切除可能に転換させるか、それもFOLFOXに代表される全身化学療法が奏効率を上げている現在、それを凌駕するものでなければならない。われわれはIL-2やPeg-IFNを用いる免疫化学肝動注を提唱し、高い奏効率とともに肝障害度が少ないことから本法の有用性を報告してきた。さらに全身的な免疫療法として多臓器転移を有する肝転移で標準の全身化学療法に抵抗性、あるいは不耐性となった場合の大腸癌ペプチドワクチン療法の現状について解説した。

● key words : 切除不能肝転移, 免疫化学肝動注, がんペプチドワクチン療法

はじめに

大腸癌肝転移の治療原則は肝切除であり、これまでの報告では肝切除によって20~50%の5年生存率が得られている¹⁾。しかし現実的には切除可能な肝転移は全体の10~20%に過ぎず、大半は両葉多発の切除不能肝転移例や、多臓器転移併存(主に肺転移)例である。したがって治療戦略として切除不能例をいかに切除可能に転換させるか、そのためにどのような治療アームを導入するかが肝転移の治療成績向上の鍵となる。

われわれはこれまで肝の免疫臓器としての特性(図1)、すなわち類洞内にNK細胞、NKT細胞、 $\gamma\delta$ 型T細胞など系統発生的に古くから存在する非特異的エフェクター細胞と胸腺由来の $\alpha\beta$ 型T細胞をあわせもつことに基づいて、これらを活性化して転移巣を縮小させ、手術可能に転換(conversion)させる治療法(とくに免疫化学肝動注)を模索してきた^{2)~4)}。

大腸癌肝転移に対するわれわれの治療アルゴリズムを示したうえで、それぞれの治療法を解説し、さらに

がんペプチドワクチン療法の現状と展望について述べる。

われわれの肝転移治療アルゴリズム(図2)

肝切除によって20~50%の5年生存が得られることから、大腸癌において肝は第一次転移臓器であり、そこから肺、脳など全身的な転移が拡大するという考え方(step-wise theory)⁵⁾が提唱されている。したがって治療戦略としてまず転移臓器が肝のみであるか、すでに多臓器に及んでいるか、肝のみの場合はその転移個数、占居部位を正確に把握することが重要であり、造影CT検査、MRI検査、PET/CT検査を駆使して正確に診断することから始まる。肝転移のみで切除可能な場合は肝切除を選択する。径2cm以下の病巣にはラジオ波凝固の併用も可とする。切除不能の場合は肝転移巣の縮小を図り、治癒的肝切除の可能性を追求する。具体的には肝動注療法であり、一般的にはWHF(weekly high-dose 5-FU:週1回5-FU 1,000mg/m²を5時間かけて肝動注)が用いられるが、われわれはインターロイキン2(IL-2)やペグ化インターフェロン(Peg-IFN)による免疫化学肝動注を提唱する(詳細は後述)。肺転移などの多臓器転移が確認されれば全身化学療法(FOLFOX, FOLFIRI

* 近畿大学医学部外科主任教授 ** 同准教授
 *** 同教室 *4 同講師

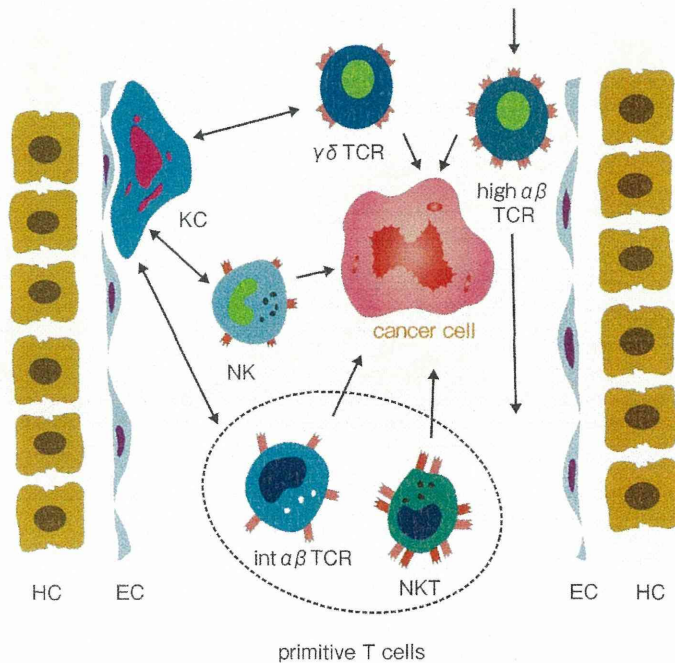


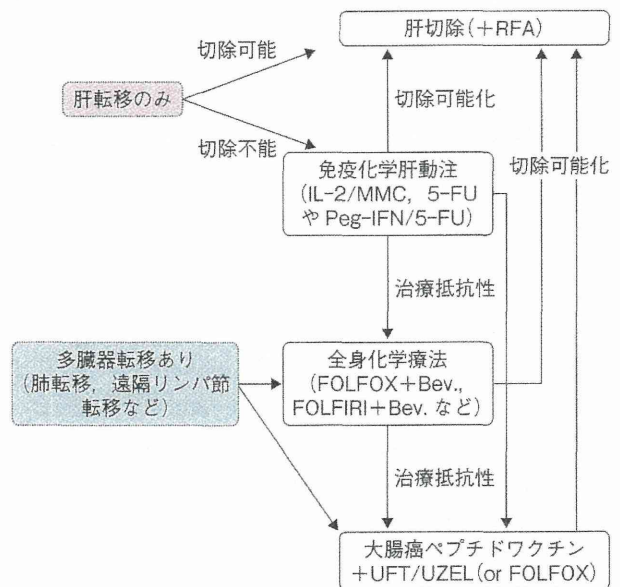
図1 肝類洞内免疫機構

肝類洞内には網内系の70%を占めるマクロファージ (Kupffer 細胞) や系統発生的に原始的なT細胞群 (primitive T cells), すなわち細胞質に小顆粒 (pit) を含むために pit 細胞と命名されていた肝類洞固有の natural killer (NK) 細胞, T細胞とNK細胞双方の特徴をあわせもつNKT細胞, T細胞レセプターが $\gamma\delta$ 型のT細胞などが豊富に存在する。さらに胸腺由来の $\alpha\beta$ 型レセプターをもつ成熟 $CD4^+$, $CD8^+$ T細胞も類洞内に流入して二重の免疫機構を構築し, 門脈由来の癌細胞の着床, 増殖 (肝転移) に対処するものと考えられる。なお図を簡略化するため, サイトカインカスケードは省略した

EC: 内皮細胞, HC: 肝実質細胞, KC: Kupffer 細胞

図2 われわれの肝転移治療アルゴリズム

肝転移のみで, それが切除可能なら肝切除, 場合によってはラジオ波凝固療法 (RFA) を併用する。切除不能なら免疫化学肝動注 (IL-2・MMC, 5-FU や Peg-IFN/5-FU) を行い, 奏効程度に応じて次の治療に移行する。多臓器転移のある場合は全身化学療法を原則とするが, それに抵抗性となった場合, あるいは有害事象のため継続困難となった場合はがんペプチドワクチン+化学療法を実施している (本文参照)



十分子標的治療薬) を選択する。肝転移集縮小には FOLFOX が優れており, 奏効率が48~72%, 肝切除可能化は16~28%と報告されている⁶⁾。全身化学療法に抵抗性となった場合, あるいは有害事象のため継続が困難な場合は大腸癌ペプチドワクチン+UFT/UZEL による全身免疫化学療法を選択している。

1. 免疫化学肝動注療法

一般的に肝血流は80%程度が門脈, 20%程度が肝動脈由来であるが肝転移集は100%肝動脈由来であることから肝動脈にカテーテルを挿入し, ここから高濃度の化学療法薬を投与する肝動注療法が考案された。薬剤による効果的な転移集の縮小が期待できるとともにその薬剤は肝で代謝されるため肝抽出率の高い化学

表1 切除不能肝転移に対する免疫化学療法 (IL-2・MF) と化学療法 (MF) の多施設共同無作為化比較試験：奏効率 (CR+PR) の比較

総合効果 (奏効率) に基づく奏効率の群間比較：FAS						
治療群	評価例数	奏効例数	奏効率	95%信頼区間		検定
				下限	上限	
MF 群	61	25	41.0%	28.6	54.3	$p=0.0010$
IL-2・MF 群	58	41	70.7%	57.3	81.9	

検定：分割表タイプの直接確率計算法

総合効果 (奏効率) の分布：FAS							
治療群	評価例数	奏効率 (下段：構成率%)					
		CR	PR	MR	NC	PD	判定不能
MF 群	61	0	25	9	15	7	5
		0.0	41.0	14.8	24.6	11.5	8.2
IL-2・MF 群	58	1	40	4	10	3	0
		1.7	69.0	6.9	17.2	5.2	0.0

判定不能症例の理由：

有害事象あるいは副作用のため早期に中止された症例 (4例)

併用薬違反により早期に中止された症例 (1例)

IL-2・MF 群の奏効率は70.7%、MF 群は41.0%であり、それまでのパイロット試験の再現性が得られた

FAS：full analysis set

療法薬を使えば全身の有害事象を軽減できる。5-FUはこの観点から優れた薬剤であり、肝動注に頻用される。米国ではさらに肝抽出率の高いFUDRが使用されるが、重篤な胆管障害を引き起こしやすく(硬化性胆管炎)、わが国では使用が許可されていない。わが国ではAraiら⁷⁾の提唱するWHFがよく行われ、多施設共同試験では奏効率52%、平均生存期間16.3カ月であった。われわれは肝臓リンパ球の免疫機能に注目し、T細胞増殖因子であるIL-2併用による免疫化学肝動注を施行し、全国15施設による多施設共同試験(第II相)119例では肝転移巣への高い奏効率(免疫化学肝動注70.7% vs. 化学肝動注41.0%)が示された(表1)、肝局所の制御も良好であった(図3)^{2)~4)}。しかしIL-2が大腸癌に対する保険適応がなく、高価であることから比較的安価で、IL-2と作用機序の重複性(redundancy)があり、かつ作用時間の長いPeg-IFNと5-FUを用いる肝動注(Peg-IFN/5-FU肝動注)を考案した。倫理委員会の承認を得て、パイロット研究として20例に行ったところ、奏効率(PR)は55%であった(表2)。これらのなかにはFOLFOXをはじめとする全身化学療法に抵抗性となった症例が含まれており、前治療のない肝転移例12例に限れば

肝縮小(PR)は67%に得られ、肝切除移行率も高かった(50%)。さらに肝切除施行例では全生存期間の中央値(MST)は49.1カ月で、切除不能のまま推移した群(MST:26.9カ月)と比較して有意に生存期間の延長が認められた($p=0.0031$) (図4)。

2. 肝切除導入率と肝障害からみた免疫化学肝動注の利点：5-FU肝動注(WHF)、全身化学療法(FOLF-FOX)との比較

一般的に行われる全身化学療法(FOLFOX, FOLFIRI)のうち、肝転移巣の縮小にはFOLFOXが優れており、奏効率は48~72%、切除不能肝転移から肝切除への導入率(conversion rate)は16~28%と報告されている。しかし、化学療法後の類洞拡張(うっ血によるblue liver)や脂肪肝(yellow liver)、脂肪性肝炎(chemotherapy-associated steato-hepatitis: CASH)などの肝障害が肝切除の際の問題となっている⁸⁾。一方、荒井らによると本邦の肝動注で一般的なWHFの奏効率は49~83%、肝切除への導入率は明確にはされていないが、「肝動注化学療法で肝動脈の障害が生じる可能性が高いことを考慮すれば肝切除の障害を減じる点からも肝動注化学療法は推奨され

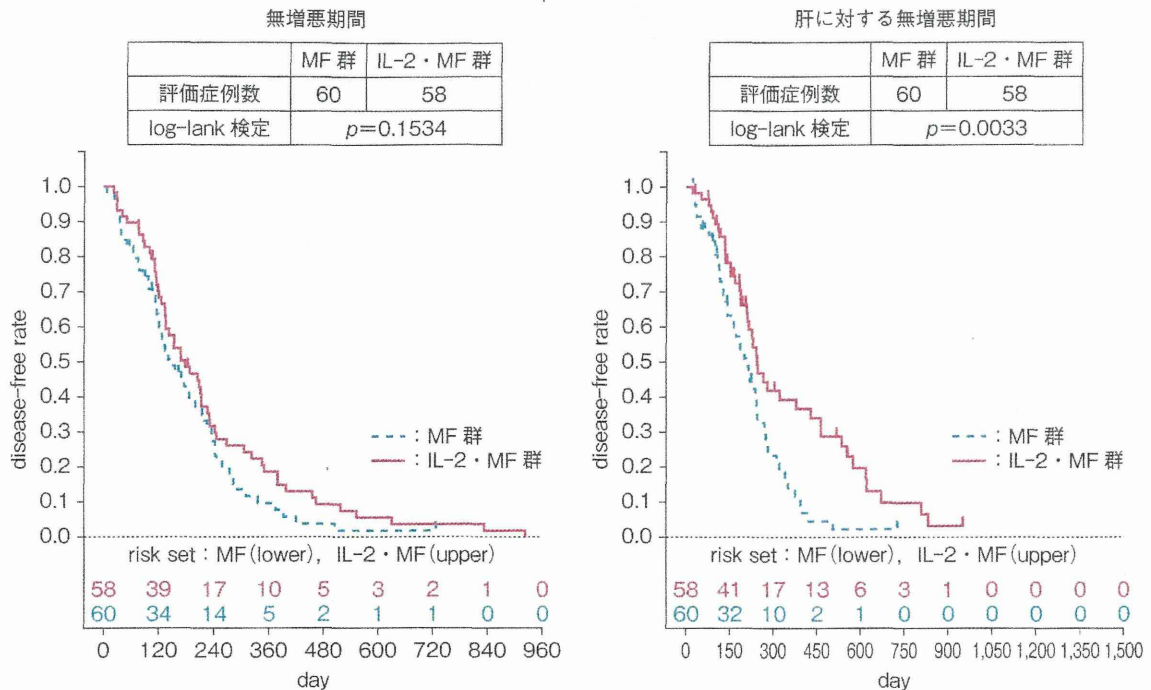


図3 切除不能肝転移に対する免疫化学療法 (IL-2・MF) と化学療法 (MF) の無作為化比較試験：無増悪期間，肝に対する無増悪期間の比較
 肝に対する無増悪期間は有意にIL-2・MF群が優れていたが他病変出現（肺転移など）を含めると有意差には至らなかった。すなわち肝動注はあくまでも肝局所制御のみの効果であり，他病巣制御には全身療法の併用が必要であることが示唆された

ない」と述べている⁶⁾。つまり5-FUの高用量を肝動注すれば同様に肝障害が起り、肝切除の障害となると警鐘を与えている。

われわれの免疫化学肝動注はIL-2にせよIFNにせよ、肝実質や肝動脈に与える障害は少なく、安全な肝切除が可能である。blue liver, yellow liverが問題となる全身化学療法や肝動脈障害が懸念されるWHF肝動注とは明らかに異なり、肝切除を前提とする肝動注では免疫療法を加える肝動注療法は新たなニーズがあると考えられ、現在は多施設共同ランダム化試験を計画中である。

大腸癌ペプチドワクチン療法

ここからはがんペプチドワクチン療法を述べるが肝転移を特段に対象としたわけではなく、肺転移などを含む多臓器転移があり、かつ標準的化学療法に抵抗性となった状態の患者を対象としている。したがって肝転移に特化した免疫療法ではないことをまずお断わりしておく。

1991年Boonらによって初めてヒトメラノーマにおける腫瘍抗原(MAGE-1)が同定された⁹⁾が、その後同じ手法を用いて次々と新規癌抗原が多種類の癌腫に対して同定された。大腸癌もその例外ではなく、多くの大腸癌関連抗原が同定され、それら由来のがんペプチドワクチンの安全性、臨床効果が欧米をはじめわが国でも盛んに検討されている。

1. テーラーメイド型ワクチン

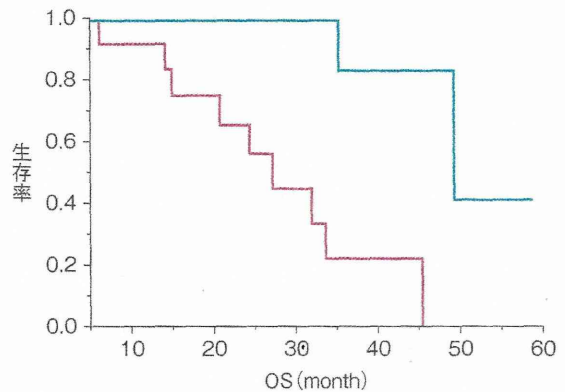
伊東恭悟教授(久留米大学免疫学)はBoonらと同じcDNA発現クローニング法を用いて(メラノーマではなく)本邦に患者の多い腺癌や扁平上皮癌に発現するがん関連抗原を数多く同定した。それらから本邦に多いHLAタイプであるHLA-A24(日本人の約60%が該当)やHLA-A02(同じく約20%)に結合し、キラーT細胞を誘導できるペプチド(9-mer)を同定し、それらの臨床効果を検証しようと試みた。多くの進行・再発癌に投与したがペプチド特異的なT細胞反応がみられても多くは癌の進行を抑えられず、臨床効果としては乏しいものであった。そこであらかじめ

表2 切除不能肝転移に対する Peg-IFN/5-FU 肝動注療法

症例	クール	治療前/後 CEA 値	縮小率 (%)	RECIST	前治療	肝切除
1	6	1346/5.7	41	PR	—	+
2	3	35.7/12.4	-0.8	SD	—	
3	3	170.9/2.4	53.8	PR	—	+
4	3	43.2/63.5	7.2	SD	OK-432, 5-FU	
5	4	14.1/4.8	36.1	PR	OK-432, MMC, 5-FU	
6	6	17.0/1.2	55.4	PR	—	+
7	6	429.1/120.1	15.6	SD	FOLFOX	
8	3	3.4/3.2	31	PR	—	+
9	3	418.8/451.5	-17.6	SD	FOLFOX, FOLFIRI	
10	6	1070/57.2	51.7	PR	—	
11	3	983.2/144.5	19.7	SD	—	
12	3	65.4/6.9	33.2	PR	—	+
13	5	2175/55.6	36.3	PR	—	
14	4	48.4/5.0	38.1	PR	FOLFOX	+
15	3	100.3/85.2	14.8	SD	FOLFOX, FOLFIRI	+
16	11	48.4/2.4	35.2	PR	FOLFOX, FOLFIRI+Bev	
17	3	10.9/0.7	33.1	PR	—	+
18	3	23.7/7.1	13.5	SD	—	
19	4	61.7/164.8	-5.0	SD	FOLFOX, FOLFIRI+Bev	
20	2	54.3/—	-8.0	PD (副腎転移)	—	

肝動注が奏効して肝切除が施行できた症例をハイライトで示す。#20は開始2クールで副腎転移が発見されたため、その時点で中止し、全身化学療法に移行した

め、患者末梢血リンパ球を採取し、彼らが有する40種類程度のがんペプチドの免疫応答性をスクリーニングして応答性の高い3~4種を選定して患者に投与する個別化ワクチン (personalized vaccination)¹⁰⁾を考案した。患者の免疫能に合わせたワクチン療法であるためテラーメイド型ワクチンとも呼ばれる。こうすればただちに強い免疫応答が得られ、従来型ワクチンでの免疫誘導にかかるタイムラグがなくなる利点がある。さらに彼らは臨床効果増強のために化学療法との併用も検討した。一般的に化学療法は免疫反応を抑制すると考えられ、事実、多くの化学療法薬は骨髄抑制作用を有し、顆粒球減少、リンパ球減少をきたしやすいが、用法、用量によってはこのような有害事象がみられないことがある。さらに化学療法薬の併用によって、①癌患者の担癌量が減少する、②キラーT細胞のdeath signalに対する腫瘍抵抗性を低下させる(がん細胞が殺されやすくなる)、③担癌状態で出現する制御性T細胞(Treg)を減少させる、という相乗的



肝切除あり(—) MST: 49.1 カ月
なし(—) 26.9 カ月 log-rank p=0.0031

図4 肝切除の有無による全生存期間の比較
転移巣の縮小が得られ、肝切除が施行された8例と肝切除が施行できなかった12例の全生存期間(OS)を示す

な効果も報告¹¹⁾されている。したがって組み合わせる化学療法薬の種類、投与法を慎重に検討すれば化学療法併用は臨床効果の増強を期待できる。このような見地からわれわれは伊東教授らと共同研究で、手術不能、化学療法抵抗性の進行・再発大腸癌患者に対するUFT/LV (UZEL[®]) 経口抗がん剤とテラーメイド型がんワクチン療法を検討した。UFT/LVは静注5-FU/LVとの同等性が証明され、『大腸癌治療ガイドライン』でも大腸癌の標準的化学療法の1つと認められているが、顆粒球減少、リンパ球減少の有害事象は少なく免疫療法との併用に適していると判断したからである。登録された14例のうち臨床効果の評価が行えた13例では6例がSD(うち3例がMR)、7例がPDで、無増悪期間(progression-free survival; PFS)は10.7週(範囲:5.0~51週)であったが、3年以上の長期生存がみられ、興味あることにペプチドワクチン投与による抗原特異的T細胞反応やIgG反応の強い患者に長期生存期間が認められた¹²⁾。

2. 大腸癌高発現型ペプチドワクチン

中村祐輔教授(元東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター、現シカゴ大学医学部教授、個別化医療センター副センター長)らはcDNAマイクロアレイの手法を用いて網羅的遺伝子解析を行い、癌腫に特異的に高発現し、さらに細胞増殖に重要な役割を果たしていると考えられる遺伝子を多数同定した。それらからキラーT細胞(CTL)の標的となるようなHLAクラスI、これも前項で述べたように日本人に多く存在するHLA-A2402に結合し得るペプチドを探索し、新規がん抗原(オンコアンチゲン)を同定した。大腸癌を例にあげればRNF43(Ring finger protein 43)¹³⁾、TOMM34(34 kDa-translocase of the outer mitochondrial membrane)¹⁴⁾などであり、彼らの解析では大腸癌サンプルならびに大腸癌細胞株の約80~90%に発現がみられるが正常組織は精巢を除いてほとんど発現がないことが確認された。これらはがん免疫療法の理想的な抗原であり、誘導されたCTLは大腸癌細胞を特異的に傷害するが正常組織は傷害しない(精巢では抗原は発現するがクラスI抗原の発現がないためCTLの攻撃は免れる)。

われわれは彼らとの共同研究で標準療法抵抗性となった進行・再発大腸癌のうちHLA-A24陽性患者を対象にRNF43、TOMM34の2種類のペプチドと経口抗がん剤UFT/LVを併用するがんペプチド免疫

化学療法を行った。施行された21例のうち、プロトコルの規定投与に達しなかった2例を除くとSD16例、PD3例であり、PFSの中央値は7.2カ月、全生存期間(overall survival; OS)の中央値は24.4カ月という結果であった。第I相のシングルアームであるため、評価は難しいがほとんどが通常の化学療法(一次、二次)に抵抗性となった対象症例であることを考えれば、大規模な化学療法比較試験であるE3200試験¹⁵⁾のPFS中央値(FOLFOX4:4.5カ月 vs. FOLFOX4+bevacizumab:7.5カ月)、OS中央値(FOLFOX4:10.8カ月 vs. FOLFOX4+bevacizumab:13.0カ月)と比較して遜色のない成績と考えられる。さらに興味深いのはこの21例のうち、RNF43、TOMM34のCTL誘導能との関連であった。すなわちいずれの抗原に対してもCTLが誘導された群ではそうでなかった群に比べて生存期間が延長する傾向があり、とくに双方にCTLが誘導された群はどちらか一方に誘導された群、あるいはまったくCTLが誘導されなかった群に比較して有意に生存期間が延長していた¹⁶⁾(図5)。双方にCTLが誘導された群の平均生存期間は3年(36.1カ月)に達しており、今後さらに大規模な試験で検証する価値があると考えられた。われわれの施設では2種類の大腸癌関連ペプチドワクチンを用いたが、裕ら(山口大学)は同様に進行再発大腸癌患者に上記のRNF43、TOMM34に加えてKOC1、さらに腫瘍新生血管を傷害するために血管内皮細胞受容体(VEGFR1、VEGFR2)ペプチドを加えた5種類のペプチドカクテルとFOLFOXを併用する免疫化学療法を行ったところ、17例に対してPR10例、SD7例、PDは0例という成績であったという(personal communication)。

3. がんペプチドワクチン療法の展望

1) 多種ペプチドによるカクテルワクチンの試み

進行・再発大腸癌の治療において2種類のペプチドワクチンでは効果が限られるとすれば当然、より多くの組合せ(ペプチドカクテル)による効果が期待される。われわれはこれまで用いてきたRNF43、TOMM34の2種に加えて、新たに中村祐輔研究室で開発された新規大腸癌ペプチド(FOXMI1、MELK、HJURP)3種とさらに血管内皮細胞受容体(VEGFR1、VEGFR2)ペプチド2種を組み合わせた7種類のカクテルペプチドによるワクチン治療を開始した。UFT/LV併用でこれまでに30例が登録され、治療を開

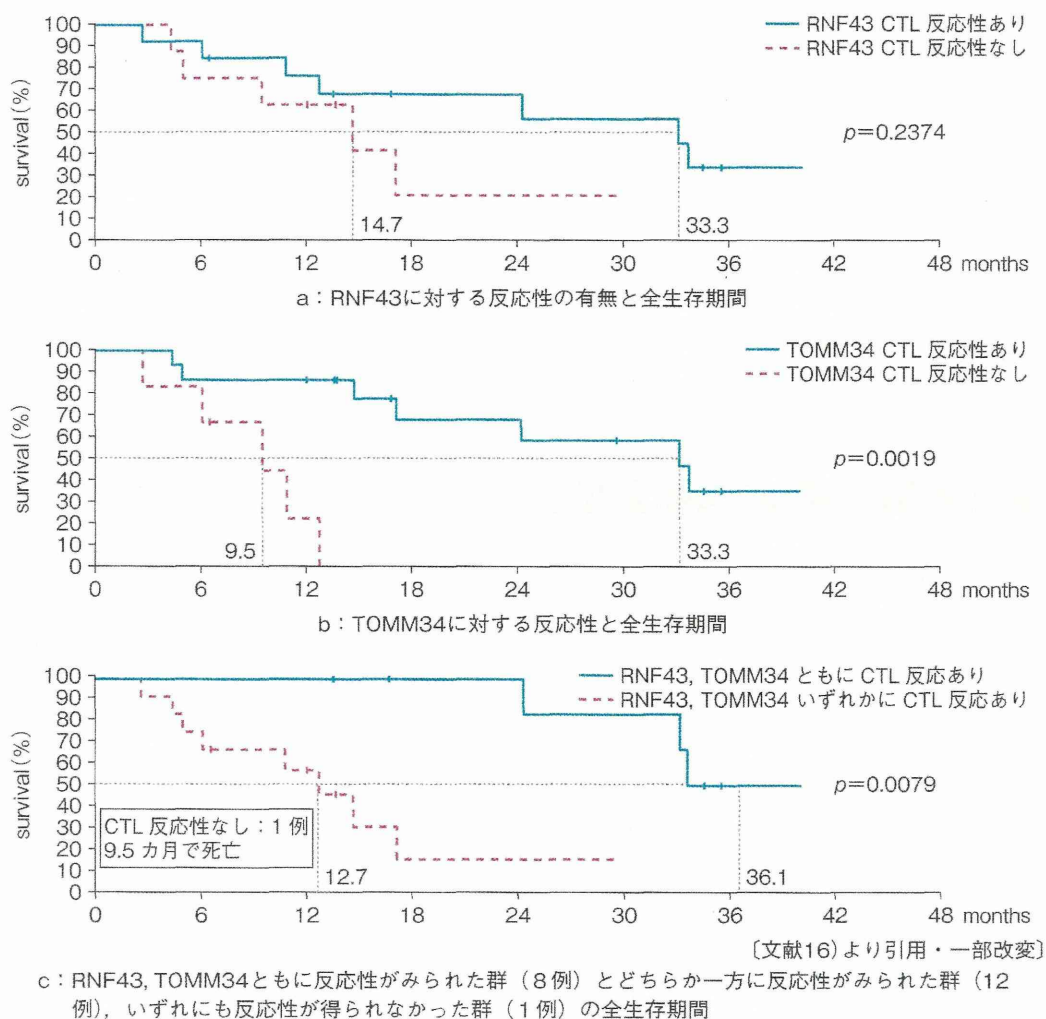


図5 ペプチドワクチンのCTL反応性と生存期間

始しているが、すでに肝、肺転移巣の縮小 (PR) を4例に、腫瘍マーカーの低下を2例に認め、ペプチドワクチンカクテルの手応えを感じている。ちなみに欧米では13種類の大腸癌関連ペプチドを組み合わせたペプチドカクテルによる第I/II相試験が実施されている (IMA-910: immatics biotechnologies)。まだ結果に関する報告はされていないが興味のもたれる臨床研究である。

2) ヘルパーキラーハイブリッドペプチド、オーバーラッピングペプチドなどの試み

西村孝司教授 (北海道大学遺伝子制御研究所) らはキラーT細胞のみでなくヘルパーT細胞活性の増強をも目論んだハイブリッドペプチド (helper/killer hybrid epitope long peptide) の開発に取り組んでいる。in vivo で抗腫瘍効果を得るためにはヘルパーT

細胞の導入が必須であることは1980年代からマウスの実験系を中心に数多く報告されてきた¹⁷⁾。キラーT細胞の増殖、分化にヘルパーT細胞 (ことにTh1型) 由来サイトカイン (IL-2, IFN- γ) が重要な役割を果たすことはいままでもなく、このアプローチは理論的にも支持されるものと考えられる。このほかオーバーラッピングペプチド (overlapping peptides) を含めたロングペプチド (30~40-mer) の試みも欧米を中心に開始されており¹⁸⁾、今後の展開が大いに期待される。

おわりに

大腸癌肝転移に特化した免疫療法として免疫化学肝動注療法を紹介した。切除不能肝転移巣の効率的な縮

小効果が認められるうえ、肝障害が少なく、肝切除を前提とした治療法として新たな展開が期待される。一方、がんペプチドワクチン療法は肝転移に限った治療ではなく、多臓器転移を有し、しかも標準的化学療法に抵抗性となった患者を対象としている。極度進行状態で通常は免疫機能も低下しており、大きな期待のもてない状況であるにもかかわらず、多種ペプチドカクテルで objective response がみられ始めていることは注目に値する。近いうちにこれらの成績を明らかにしたうえで、治験に入る準備を進めたいと目論んでいる。

文 献

- 1) 大腸癌研究会編：大腸癌治療ガイドライン（医師用2010年版），金原出版，東京，2010，p. 20～21.
- 2) Okuno, K., Yasutomi, M., Kon, M., Hatakeyama, K., Muto, T., Kitajima, M., Koyanagi, Y., Hamano, K., Ohta, H., Aiba, K., Arai, Y., Sowa, M., Kikkawa, N., Takayasu, Y. and Isomoto, H. : Intrahepatic interleukin-2 with chemotherapy for unresectable liver metastases : A randomized multicenter trial. *Hepatogastroenterology*, 46 : 1116～1121, 1999.
- 3) Okuno, K., Kaneda, K. and Yasutomi, M. : Regional IL-2-based immunochemotherapy of colorectal liver metastases. *Hepatogastroenterology*, 46 : 1263～1267, 1999.
- 4) Okuno, K., Hirohata, T., Nakamura, K., Jinnai, H., Shigeoka, H., Koh, K., Shindo, K. and Yasutomi, M. : Hepatic arterial infusions of interleukin-2 (IL-2)-based immunochemotherapy in the treatment of unresectable liver metastases from colorectal cancer. *Clin. Ther.*, 15 : 672～683, 1993.
- 5) Weiss, L., Grundmann, E., Torhorst, J., Hartveit, F., Moberg, I., Eder, M., Fenoglio-Preiser, C. M., Napier, J., Horne, C. H., Lopez, M. J., et al. : Hematogenous metastatic patterns in colonic carcinoma : An analysis of 1541 necropsies. *J. Pathol.*, 150 : 195-203, 1986.
- 6) 荒井保明, 竹内義人 : 肝転移の治療方針 ; 動注化学療法. *大腸癌 FRONTIER*, 1 : 286～291, 2008.
- 7) Arai, Y., Inaba, Y., Takeuchi, Y. and Ariyoshi, Y. : Intermittent hepatic arterial infusion of high-dose 5-FU on a weekly schedule for liver metastases from colorectal cancer. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 40 : 526～530, 1997.
- 8) Morris-Stiff, G., Tan, Y. M. and Vauthey, J. N. : Hepatic complications following preoperative chemotherapy with oxaliplatin or irinotecan for hepatic colorectal metastases. *Eur. J. Surg. Oncol.*, 34 : 609～614, 2008.
- 9) Boon, T. : Tumor antigens recognized by cytotoxic T lymphocytes : Present perspectives for specific immunotherapy. *Int. J. Cancer*, 54 : 177～180, 1993.
- 10) Itoh, K. and Yamada, A. : Personalized peptide vaccines : A new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci.*, 97 : 970～976, 2006.
- 11) Correale, P., Cusi, M. G., Tsang, K. Y., Del Vecchio, M. T., Marsili, S., Placa, M. L., Intrivici, C., Aquino, A., Micheli, L., Nencini, C., Ferrari, F., Giorgi, G., Bonmassar, E. and Francini, G. : Chemo-immunotherapy of metastatic colorectal carcinoma with gemcitabine plus FOLFOX 4 followed by subcutaneous granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 induces strong immunologic and antitumor activity in metastatic colon cancer patients. *J. Clin. Oncol.*, 23 : 8950～8958, 2005.
- 12) Hattori, T., Mine, T., Komatsu, N., Yamada, A., Itoh, K., Shiozaki, H. and Okuno, K. : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with UFT and UZEL for metastatic colorectal carcinoma patients. *Cancer Immunol. Immunother.*, 58 : 1845～1854, 2009.
- 13) Uchida, N., Tsunoda, T., Wada, T., Furukawa, Y., Nakamura, Y. and Tahara, H. : Ring finger protein 43 as a new target for cancer immunotherapy. *Clin. Cancer Res.*, 10 : 8577～8586, 2004.
- 14) Shimokawa, T., Matsushima, S., Tsunoda, T., Tahara, H., Nakamura, Y. and Furukawa, Y. : Identification of TOMM34, which shows elevated expression in the majority of human colon cancers, as a novel drug target. *Int. J. Oncol.*, 29 : 381～386, 2006.
- 15) Giantonio, B. J., Catalano, P. J., Meropol, N. J., O'Dwyer, P. J., Mitchell, E. P., Alberts, S. R., Schwartz, M. A. and Benson, A. B. 3rd. : Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200 : Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer : Results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J. Clin. Oncol.*, 20 : 1539～1544, 2007.
- 16) Okuno, K., Sugiura, F., Hida, J., Tokoro, T., Ishimaru, E., Sukegawa, Y. and Ueda, K. : Phase I clinical trial of a novel peptide vaccine in combination with UFT/LV for metastatic colorectal cancer. *Exp. Ther. Med.*, 2 : 73～79, 2011.
- 17) DeVita, V. T. Jr., Hellman, S. and Rosenberg, S. A. : *Biologic Therapy of Cancer*. JB Lippincott Company, New York, 1991. p. 197～213.
- 18) 奥野清隆 : 海外で臨床試験の進んでいるペプチドワクチン療法. *Mebio*, 27 : 43～48, 2010.

特

集

消化器がんにおけるがんワクチン療法

Gastrointestinal
Research

大腸がんにおけるがんワクチン療法

奥野清隆*

Summary

cDNA 発現クローニング法や網羅的遺伝子発現解析法を用いて大腸がんを高発現する新規がん遺伝子がつぎつぎと発見され、その遺伝子にコードされるがん抗原がペプチドレベルで同定された。まさにがん特異的免疫療法の幕開けである。本稿では進行・再発大腸がんにおいてこれまでわが国で施行されたテラーメイド型ワクチンと大腸がん高発現型ワクチンの臨床結果を解説するとともに、現状の問題点、ならびに今後の展望について、筆者の経験をもとに考察する。

Key words

テラーメイド型ペプチドワクチン 大腸がん高発現型ペプチドワクチン 進行・再発大腸がん

はじめに

大腸がんはわが国において罹患、死亡数ともに多く、とくに女性のがん死因の第1位であることから大腸がん治療はきわめて重要な課題である。手術療法、化学療法、放射線療法の進歩により、大腸がん全体の5年生存率は70%程度が得られているものの、Stage IVは依然20%以下であり、新たな集学的治療の開発が望まれる所以でもある。1991年 T. Boon らによってはじめてヒトメラノーマにおける腫瘍抗原 (melanoma antigen-encoding gene-1: MAGE-1) が同定された¹⁾ことを嚆矢として、その後つぎつぎと新規がん抗原が多種類のがん腫に対して同定された。大腸がんもその例外ではなく、多くの大腸がん抗原が同定され、それら由来のがんペプチドワクチンの安

全性、臨床効果が欧米をはじめわが国でも盛んに検討されている。本稿では筆者の経験をもとに、わが国における大腸がんペプチドワクチン研究の現状と今後の展望について述べたい。

1 | がんペプチドワクチンによる免疫療法

1) テラーメイド型ワクチン

伊東恭悟教授 (久留米大学免疫学) は、Boon らと同じ complementary DNA (cDNA) 発現クローニング法を用いて (メラノーマではなく) わが国に患者の多い腺がんや扁平上皮がんが発現するがん関連抗原を数多く同定した。それらからわが国に多い human leukocyte antigen (HLA) タイプである HLA-A24 (日本人の約 60% が該当) や HLA-A02 (同じく約 20%) に結合し、キラー T

*OKUNO Kiyotaka/近畿大学医学部外科学

細胞 (cytotoxic T lymphocyte : CTL, 細胞傷害性 T 細胞ともいう) を誘導できるペプチド (9-mer) を同定し、それらの臨床効果を検証しようと試みた。多くの進行・再発がんに投与したが、ペプチド特異的な T 細胞反応がみられても多くはがんの進行を抑えられず、臨床効果としては乏しいものであった。そこであらかじめ、患者末梢血リンパ球を採取し、伊東らが有する 40 種類程度のがんペプチドの免疫応答性をスクリーニングして、応答性の高い 3~4 種を選定して患者に投与する個別化ワクチン (personalized vaccination)²⁾ を考案した。患者の免疫能にあわせたワクチン療法なのでテーラーメイド型ワクチンともよばれる。こうすればただちに強い免疫応答が得られ、従来型ワクチンでの免疫誘導にかかるタイムラグがなくなる利点がある。

さらに伊東らは臨床効果増強のために化学療法との併用も検討した。一般的に化学療法は免疫反応を抑制すると考えられ、事実、多くの化学療法薬は骨髄抑制作用を有し、顆粒球減少、リンパ球減少をきたしやすいが、用法、用量によってはこのような有害事象がみられないことがある。さらに化学療法薬の併用によって、①がん患者の担がん量が減少する、②CTL の death signal に対する腫瘍抵抗性を低下させる (がん細胞が殺されやすくなる)、③担がん状態で出現する制御性 T 細胞 (regulatory T cell : Treg) を減少させる、という相乗的な効果も報告されている³⁾。したがって組み合わせる化学療法薬の種類、投与法を慎重に検討すれば、化学療法併用は臨床効果の増強を期待できる。このような見地からわれわれは伊東教授らと共同研究で、手術不能、化学療法抵抗性の進行・再発大腸がん患者に対するホリナート・テガフル・ウラシル [UFT/LV (ロイコボリン[®], ユーゼル[®])] 経口抗がん剤とテーラーメイド型がんワクチン療法を検討した。UFT/LV は静注フルオロウラシル (5-FU)/LV との同等性が証明され、広く世界で大腸がんの標準的薬療法と認め

られているが、顆粒球減少、リンパ球減少の有害事象は少なく免疫療法との併用に適していると判断したからである。登録された 14 例のうち、臨床効果の評価がおこなえた 13 例では、6 例が stable disease (SD) [うち 3 例が minor response (MR)]、7 例が progressive disease (PD) で、無増悪生存期間 (progression-free survival : PFS) は 10.7 週 (範囲 : 5.0-51 週) であったが、3 年以上の長期生存がみられ、興味あることに、ペプチドワクチン投与による抗原特異的 T 細胞反応や免疫グロブリン G (IgG) 反応の強い患者に長期生存期間が認められた⁴⁾。

2) 大腸がん高発現型ペプチドワクチン

中村祐輔教授 (東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター) らは、cDNA マイクロアレイの手法を用いて網羅的遺伝子解析をおこない、がん腫に特異的に高発現し、さらに細胞増殖に重要な役割を果たしていると考えられる遺伝子を多数同定した。それらから CTL の標的となるような HLA クラス I、これも前項で述べたように日本人に多く存在する HLA-A2402 に結合しうるペプチドを探索し、新規がん抗原 (オンコアンチゲン) を同定した。大腸がんを例にあげれば ring finger protein 43 (RNF43)⁵⁾、34 kDa-translocase of the outer mitochondrial membrane (TOMM34)⁶⁾ などであり、中村らの解析では大腸がんサンプルならびに大腸がん細胞株の約 80~90% に発現がみられるが、正常組織は精巣を除いてほとんど発現がないことが確認された。これらはがん免疫療法の理想的な抗原であり、誘導された CTL は大腸がん細胞を特異的に傷害するが正常組織は傷害しない (精巣では抗原は発現するがクラス I 抗原の発現がないため CTL の攻撃は免れる)。われわれは中村らとの共同研究で、標準療法抵抗性となった進行・再発大腸がんのうち HLA-A24 陽性患者を対象に、RNF43、TOMM34 の 2 種類のペプチドと経口抗がん剤 UFT/LV を

併用するがんペプチド免疫化学療法をおこなった。施行された21例のうち、プロトコールの規定投与に達しなかった2例を除くとSD 16例、PD 3例であり、PFSの中央値は7.2ヵ月、全生存期間(overall survival: OS)の中央値は24.4ヵ月という結果であった。第I相試験のシングルアームであるため評価はむずかしいが、ほとんどが通常の化学療法(一次、二次)に抵抗性となった対象症例であることを考えれば、大規模な化学療法比較試験であるE3200試験⁷⁾のPFS中央値[5-fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin (FOLFOX4): 4.5ヵ月 vs. FOLFOX4+ペバシズマブ: 7.5ヵ月]、OS中央値(FOLFOX4: 10.8ヵ月 vs. FOLFOX4+ペバシズマブ: 13.0ヵ月)と比較して遜色のない成績と考えられる。さらに興味深いのは、この21例のうち、RNF43, TOMM34のCTL誘導能との関連であった。すなわちいずれの抗原に対しても、CTLが誘導された群ではそうでなかった群にくらべて、生存期間が延長する傾向があり、とくに双方にCTLが誘導された群はどちらか一方に誘導された群、あるいはまったくCTLが誘導されなかった群と比較して、有意に生存期間が延長していた⁹⁾(図1)。双方にCTLが誘導された群の平均生存期間は3年(36.1ヵ月)に達しており、今後さらに大規模な試験で検証する価値があると考えられた。われわれの施設では2種類の大腸がん関連ペプチドワクチンを用いたが、裕彰一ら(山口大学大学院医学研究科消化器・腫瘍外科学)は同様に進行再発大腸がん患者に上記のRNF43, TOMM34に加えてKOC1, さらに腫瘍新生血管を傷害するために血管内皮細胞受容体[vascular endothelial growth factor receptor 1 (VEGFR1), VEGFR2]ペプチドを加えた5種類のペプチドカクテルとFOLFOXを併用する免疫化学療法をおこなったところ、17例に対してPR 10例、SD 7例、PDは0例という成績であったという(personal communication)。

2 | 今後の展望

1) 術後補助療法(再発予防)への応用

がんペプチドワクチン療法の第I相試験では接種局所の皮膚発赤、硬結以外には強い有害事象もなく、すべて安全に投与できている。また臨床効果も症例数、観察期間は短いもののペプチド特異的CTL反応と生存期間には相関が認められた。

しかし、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST)基準を満たす病巣の縮小(CR, PR)例はほとんどみられず、最大の理由は過大な担がん量だと考えられた。現実的にはペプチドワクチンが最も威力を発揮できるのは再発予防と考えられ、現在Stage III大腸がんを対象に術後にペプチドワクチン+UFT/LVを投与するランダム化比較試験を開始している。HLA-key openという手法(わが国ではHLA-A24が全人口の60%を占めるため、全例投与すれば60%が適合例、残り40%が非適合となり、理論的には6:4に自然に割り振られる)を用いてone armで、主要評価項目(primary endpoint)は3年無再発生存率である。これまで16例に対して術後6クール(30週)投与した(表1)。うち9例はすでに予定量を完遂して観察中である。いまだ再発例はなく、治療の継続、観察をつづけているが、feasibility studyとしては安全性、実行性に問題なく、今後はHLA-A24症例を対象に大規模なpivotal studyを計画している。

2) 多種ペプチドによるカクテルワクチンの試み

進行・再発大腸がんの治療において、2種類のペプチドワクチンでは効果が限られるとすれば当然、より多くの組み合わせ(ペプチドカクテル)による効果が期待される。われわれはこれまで用いてきたRNF43, TOMM34の2種に加えて、新たに中村研で開発された新規大腸がんペプチド[forkhead box M1 (FOXM1), maternal embry-

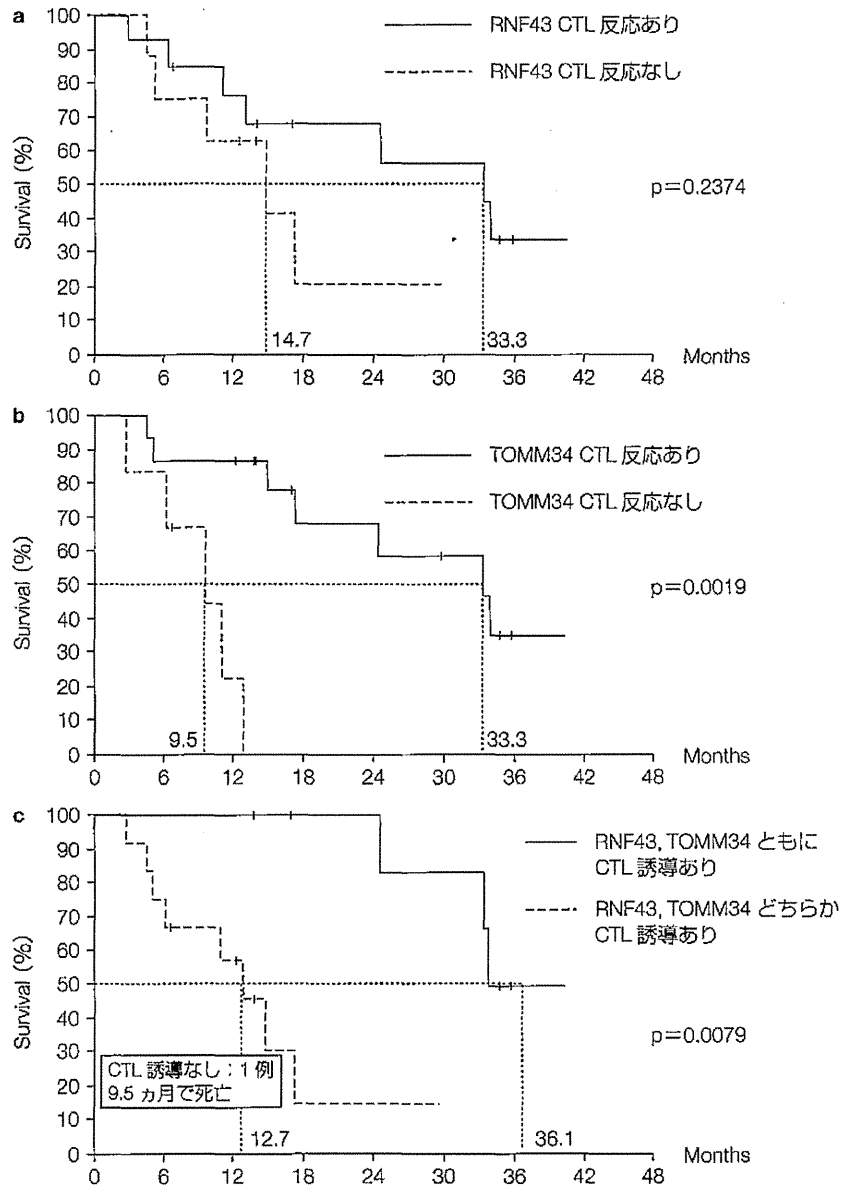


図 1. ペプチドワクチンの CTL 反応性と OS

再発大腸がん 21 例のうち RNF43, TOMM34 ともに CTL 反応あり (8 例), RNF43 のみ CTL 反応あり (5 例), TOMM34 のみ CTL 反応あり (7 例), いずれにも CTL 反応なし (1 例).

a : RNF43 に対する CTL 反応性と OS

b : TOMM34 に対する CTL 反応性と OS

c : RNF43, TOMM34 に対する CTL 反応性と OS

(Okuno K *et al.*, 2011⁹ より一部改変引用)

表 1. Stage III大腸がん術後のがんペプチドワクチン+UFT/LVによるアジュバント療法

Pt. No.	Gender	Age	Location	Stage	PS	Vac	Rec	RFS	Skin reaction	Institute
1	F	71	RS	IIIa	0	30	—	18 M	G1	Kinki Univ
2	F	76	A	IIIb	1	30	—	18 M	G1	Kinki Univ
3	F	69	A	IIIa	0	30	—	18 M	G1	Kinki Univ
4	F	58	S	IIIa	0	30	—	18 M	—	Kinki Univ
5	F	60	T	IIIb	0	30	—	18 M	G1	Kinki Univ
6	M	61	A	IIIa	0	30	—	12 M	G1	Kinki Univ
7	M	64	Rb	IIIa	0	30	—	17 M	G1	Kinki Univ
8	F	73	S	IIIa	0	30	—	7 M	G1	Kinki Univ
9	F	58	Ra	IIIa	0	30	—	8 M	G1	Kinki Univ
10	F	47	Ra	IIIa	0	28	—	3 M	G1	Kinki Univ
11	M	62	Rb	IIIb	0	24	—	4 M	G1	Kinki Univ
12	M	74	S	IIIa	0	19	—	4 M	G1	Kinki Univ
13	F	37	S	IIIa	0	20	—	5 M	G1	Yamaguchi Univ
14	F	70	S	IIIa	0	11	—	—	G1	Kinki Univ
15	M	67	A	IIIa	0	3	—	—	—	Kinki Univ
16	M	64	Ra	IIIb	0	5	—	—	—	Kinki Univ

これまで Stage III大腸がん術後 16 例に施行された。うち 9 例は重篤な有害事象もなく、安全に予定 5 クール (30 回ワクチン投与) を完遂した。まだ最長観察期間が 18 ヶ月であるが再発例はない。Vac : vaccination, Rec : recurrence, RFS : recurrence free survival (無再発生存期間), G1 : grade 1

onic leucine zipper kinase (MELK), Holliday junction recognition protein (HJURP) 3 種とさらに血管内皮細胞受容体 (VEGFR1, VEGFR2) ペプチド 2 種を組み合わせた, 7 種類のカクテルペプチドによるワクチン治療を開始した。現状では最強の大腸がん治療ペプチドワクチンと考えられ, 標準療法抵抗性の再発大腸がんに対する臨床効果を期待している。ちなみに欧米では, 13 種類の大腸がん関連ペプチドを組み合わせたペプチドカクテルによる第 I/II 相試験が実施されている (IMA-910 : immatics biotechnologies)。まだ結果に関する報告はされていないが, 興味のもたれる臨床研究である。

3) ヘルパーキラーハイブリッドペプチド, オーバーラッピングペプチドなどの試み

西村孝司教授 (北海道大学遺伝子病制御研究所) らは, CTL のみでなくヘルパー T (Th) 細胞活性

の増強をも目論んだハイブリッドペプチド (helper/killer hybrid epitope long peptide) の開発に取り組んでいる。In vivo で抗腫瘍効果を得るためには Th 細胞の導入が必須であることは, 1980 年代からマウスの実験系を中心に数多く報告されてきた⁹⁾。CTL の増殖, 分化に Th 細胞 (とくに Th1 型) 由来サイトカイン [インターロイキン (IL)-2, インターフェロン (IFN)- γ] が重要な役割を果たすことはいままでもなく, このアプローチは理論的にも支持されるものと考えられる。このほか, オーバーラッピングペプチド (overlapping peptides) を含めたロングペプチド (30~40-mer) の試みも欧米を中心に開始されており¹⁰⁾, 今後の展開が大いに期待される。

おわりに

がんペプチドワクチン療法の臨床研究はまだ端緒についたばかりで, 科学的評価ができるほど充

分な症例数, 比較試験がなされているわけではない。その見地からは本法を評価するのは時期尚早であるが, 大腸がんを例にとっても本稿のように興味深い結果が得られつつある。近い将来, がんペプチドワクチンの科学的評価がなされて, 臨床現場に新規治療薬として登場することを信じて執筆する。

文献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P *et al* : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 254 : 1643-1647, 1991
- 2) Itoh K, Yamada A : Personalized peptide vaccines : a new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci* 97 : 970-976, 2006
- 3) Correale P, Del Vecchio MT, Genova GD *et al* : Chemo-immunotherapy of metastatic colorectal carcinoma with gemcitabine plus FOLFOX 4 followed by subcutaneous granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 induces strong immunologic and antitumor activity in metastatic colon cancer patients. *J Clin Oncol* 23 : 8950-8958, 2005
- 4) Hattori T, Mine T, Komatsu N *et al* : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with UFT and UZEL for metastatic colorectal carcinoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 58 : 1843-1852, 2009
- 5) Uchida N, Tsunoda T, Wada T *et al* : Ring Finger protein 43 as a new target for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 10 : 8577-8586, 2004
- 6) Shimokawa T, Matsushima S, Tsunoda T *et al* : Identification of TOMM34, which shows elevated expression in the majority of human colon cancers, as a novel drug target. *Int J Oncol* 29 : 381-386, 2006
- 7) Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ *et al* : Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer : results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 20 : 1539-1544, 2007
- 8) Okuno K, Sugiura F, Hida J *et al* : Phase I clinical trial of a novel peptide vaccine in combination with UFT/LV for metastatic colorectal cancer. *Exp Ther Med* 2 : 73-79, 2011
- 9) Yang JC, Rosenberg SA : Adoptive cellular therapy : Pre-clinical studies. In : *Biologic Therapy of Cancer*, ed. by DeVita VT *et al*, JB Lippincot Co., Philadelphia, 1991, pp. 197-213,
- 10) 奥野清隆 : 海外で臨床試験の進んでいるペプチドワクチン療法. *Mebio* 27 : 43-48, 2010

日本臨牀 70 卷 増刊号 7 (2012 年 9 月 20 日発行) 別刷

乳癌(第 2 版)

—基礎と臨床の最新研究動向—

I. 乳癌の診断・治療の変遷と展望

内分泌療法の変遷と展望

山下啓子 遠山竜也 岩瀬弘敬 小林俊三

内分泌療法の変遷と展望

Change and perspective in endocrine therapy

山下啓子¹ 遠山竜也² 岩瀬弘敬³ 小林俊三⁴

Key words: 乳癌, 内分泌療法, エストロゲンレセプター

はじめに

乳癌の遺伝子発現プロファイル解析によるとエストロゲンレセプター(estrogen receptor: ER)陽性乳癌とER陰性乳癌ではプロファイルが大きく異なり, 発生・進展のメカニズムが異なると考えられている¹⁾。乳癌のエストロゲン依存性は乳癌細胞でホルモンレセプター(ERとプロゲステロンレセプター(progesterone receptor: PgR))の少なくともどちらかが発現していることを前提とする。ER陽性乳癌は日本人女性においては全乳癌の約8割を占め²⁾, エストロゲンがERに結合することによりエストロゲン依存性増殖・進展が促進される。乳癌の内分泌療法(ホルモン療法)はERを標的とする分子標的治療であり, 1896年のBeatsonによる卵巣摘出術以来115年の歴史をもつ。内分泌療法はホルモンレセプター陽性症例に対して①卵巣や末梢組織でのエストロゲン産生を抑制する, または②ホルモンレセプターの機能を修飾することにより乳癌細胞へのエストロゲンの作用を阻害する, を基本概念としている。なお, 本稿で用いているERは記載がない場合はすべてエストロゲンレセプターアルファ(estrogen receptor α : ER α)である。

1 乳癌組織におけるホルモンレセプター(ER/PgR)の発現

ER陽性乳癌は現在, 正常乳腺の分化の最終段階である分化した乳管上皮細胞から発生すると考えられている¹⁾。乳癌のエストロゲン依存性は, 乳癌細胞がホルモンレセプター(ER/PgR)を発現していることを前提とする。エストロゲンがその受容体であるERに結合することにより乳癌の増殖・進展が促進され, また, PgRはエストロゲンによりERを介して誘導されるERの標的遺伝子の一つである。

乳癌組織におけるホルモンレセプターの発現は現在, 免疫組織化学法で評価している。ERの発現を正常乳腺および前癌病変で検討した報告によると, 閉経前の正常乳管上皮細胞は約30%がER陽性細胞である³⁾。一方, atypical ductal hyperplasiaなどの前癌病変ではほぼすべての上皮細胞がER強陽性を示す。low gradeの非浸潤性乳管癌(ductal carcinoma *in situ*: DCIS)ではほぼすべての癌細胞がER強陽性を示すが, high gradeのDCISではほぼすべての癌細胞がER陰性である。浸潤性乳癌におけるホルモンレセプターの発現量(陽性細胞率)は症例により様々な分布を示し0%から100%まで

¹Hiroko Yamashita: Breast and Endocrine Surgery, Hokkaido University Hospital 北海道大学病院 乳腺・内分泌外科 ²Tatsuya Toyama: Breast and Endocrine Surgery, Nagoya City University Hospital 名古屋市立大学病院 乳腺内分泌外科 ³Hiroataka Iwase: Department of Breast and Endocrine Surgery, Faculty of Life Sciences, Kumamoto University 熊本大学大学院生命科学研究部 乳腺・内分泌外科学分野 ⁴Shunzo Kobayashi: Nagoya Municipal Hospital 名古屋市病院局

連続的に存在する。

乳癌組織におけるホルモンレセプターの陽性/陰性の判定方法は、陽性細胞率を評価する方法、および陽性細胞率と染色強度をスコア化して評価する Allred score や H score が広く用いられている。日本乳癌学会の班研究「適切なホルモンレセプター検索に関する研究」(梅村班)では、陽性細胞率10%以上を陽性、10%未満を境界域、陽性細胞率0を陰性とする J-score を提唱した。また2010年、米国臨床腫瘍学会と臨床病理医協会(ASCO/CAP)から、ホルモンレセプター陽性と判定するカットオフを1%とすることが提唱された⁹⁾。癌細胞の核に少なくとも1%の染色陽性細胞がある場合、ER/PgR陽性と判定することを推奨している。

ER陽性乳癌においてERの陽性細胞率は1%から100%まで存在するが、乳癌組織のERの発現量と予後について Allred らは術後内分泌療法を行った症例の予後を解析しERの発現量が高いほど予後良好であることを報告した⁹⁾。最近の閉経後乳癌の術後内分泌療法の臨床試験の報告においても、アロマターゼ阻害剤、タモキシフェンともにER/PgRの発現量が高いほど予後良好であることが示されている。著者らは内分泌療法を施行した再発乳癌における乳癌組織のER/PgRの発現量と内分泌療法の効果、予後について検討し、ER/PgRの発現量は内分泌療法有効例で有意に高く、ER/PgRの陽性細胞率1%以上の症例が有意に再発後の予後が良好であることを報告した⁹⁾。また手術を行っていない進行乳癌において乳癌組織のERの発現量とアロマターゼ阻害剤による内分泌療法の奏効期間を検討し、ERの陽性細胞率2/3以上の症例は一次内分泌療法の奏効期間、化学療法に至るまでの期間ともに有意に長いことを報告した⁷⁾。このように乳癌組織のERの発現量は内分泌療法の奏効性や予後などの生物学的特性に関与することが明らかとなっている。

2 乳癌組織におけるエストロゲンレセプターの発現調節

乳癌組織におけるERの発現調節に関しては、ER遺伝子のメチル化やER遺伝子の変異などの報告があるが臨床的に重要な知見は見いだされてない。2007年マイクロRNA(microRNA)によるERの発現調節に関する基礎研究が報告された⁸⁾。microRNAは20-25塩基からなる内因性の一本鎖RNAで、標的メッセンジャーRNA(mRNA)の3'末端非翻訳領域(3' UTR)に結合してmRNAを分解あるいはタンパクへの翻訳を抑制することにより、標的遺伝子の発現を抑制する。Adams らは乳癌細胞を用いてmicroRNAの一つmiR-206がERのmRNA 3' UTRに結合して、ERのmRNAとタンパク発現を抑制することを報告した⁸⁾。著者らは乳癌組織におけるmiR-206の発現を定量的RT-PCR法により検討し、ERのmRNA、タンパク発現量が高いほどmiR-206の発現が低いことを見いだした⁹⁾。更に著者らはERのmRNAに結合すると報告されている7つのmicroRNAの乳癌組織における発現を検討し、ERのタンパク発現量や予後と相関するmicroRNAを見いだした¹⁰⁾。

3 乳癌のエストロゲン依存性と内分泌療法

内分泌療法はホルモンレセプター陽性症例に対して、①卵巣や末梢組織でのエストロゲンの産生を抑制する、または②ホルモンレセプターの機能を修飾することにより乳癌細胞へのエストロゲンの作用を阻害することを基本概念とする、ERを標的とした分子標的治療である。そのため重篤な副作用の頻度が低く、ホルモンレセプター陽性症例では非常に有効率が高い。ホルモンレセプター陽性症例においては、再発予防目的の術後薬物療法および進行再発乳癌に対する治療ともに第1選択として行われる。

1) 内分泌療法の変遷

乳癌の内分泌療法は1896年に Beatson により行われた卵巣摘出術に始まる。ついで1951

表1 エストロゲンレセプターの局在と SERM, SERD の組織特異性

	SERM		SERD	理想的な SERM
	タモキシフェン (ノルバデックス [®])	ラロキシフェン (エビスタ [®])	フルベストラント (フェソロデックス [®])	
骨	E	E	AE	E
心血管系	E	E	AE	E
肝(脂質代謝)	E	E	AE	E
乳腺	AE	AE	AE	AE
子宮内膜	E	AE	AE	AE
臍	AE	AE	AE	E
中枢神経系 (視床下部-下垂体)	AE	AE	不明	E
中枢神経系(海馬)	E	E	不明	E

E: エストロゲン作用, AE: 抗エストロゲン作用.

年に副腎摘出術, 1952年に下垂体摘出術と続き, 外科的処置による女性ホルモン量の抑制が行われた. 1960年代に開発の始まったタモキシフェンが内分泌療法の位置づけを確立した. その後ERの存在と内分泌療法の奏効性との関係が明らかとなり, ER(ER α , ER β)のクローニングから内分泌療法の作用機序が分子生物学的に解明された. 更に末梢組織でのエストロゲン産生に関する intracrinology の概念がアロマターゼ阻害剤の開発に繋がった.

2) エストロゲンの作用機序

内分泌療法の作用・副作用を理解するうえでエストロゲンの作用機序の理解が必要である. エストロゲンは乳腺以外にも子宮, 骨, 肝(脂質代謝), 心血管系, 中枢神経系などで重要な役割を果たし幅広い生理作用をもつ(表1). エストロゲンの作用はエストロゲンの標的臓器(細胞)に存在するER(ER α , ER β)を介して発揮される. ERは主に核内に存在し, エストラジオールがERに結合すると, ERは二量体となり標的遺伝子のプロモーター領域のエストロゲン応答配列(estrogen response element: ERE)に結合して標的遺伝子の転写を活性化する. ERは転写因子であり, この作用は genomic action と呼ばれる. ERの転写調節には転写共役因子(転写活性化因子, 転写抑制因子)の関与も重要である.

3) SERM(選択的エストロゲンレセプター機能調節物質: selective estrogen receptor modulator)

SERMはエストロゲンがERに結合する部位(ERのligand binding domain)と同じ部位に結合してエストロゲンがERに結合するのを競合阻害する薬剤であり, ERが存在するエストロゲンの標的臓器によりエストロゲン作用と抗エストロゲン作用を種々の割合・程度で発現する(表1). これまでタモキシフェン, トレミフェン, ラロキシフェンが乳癌の治療や予防薬, 骨粗鬆症の治療薬として開発されている. なおSERMとはエストロゲンの作用機序, 特にERの解析の進歩に伴い導入された言葉で, 以前は抗エストロゲン剤と総称されていた.

最近, タモキシフェンを活性体のエンドキシフェンに変換する酵素CYP2D6の遺伝子多型がタモキシフェンの効果に関与することが指摘されている. CYP2D6は幾つかの遺伝子多型が存在するが, *4ホモタイプは血漿中のエンドキシフェン濃度が低くタモキシフェンの効果が期待できない可能性が報告されている. *4ホモタイプは欧米人の5-10%にみられるがアジア人では1%未満である. 一方, *10ホモタイプはアジア人に多くみられCYP2D6の活性がやや低下する. 著者らは術後タモキシフェンを単独投与したリンパ節転移陰性乳癌の予後を検討し, CYP2D6*10遺伝子多型はdisease-free survival

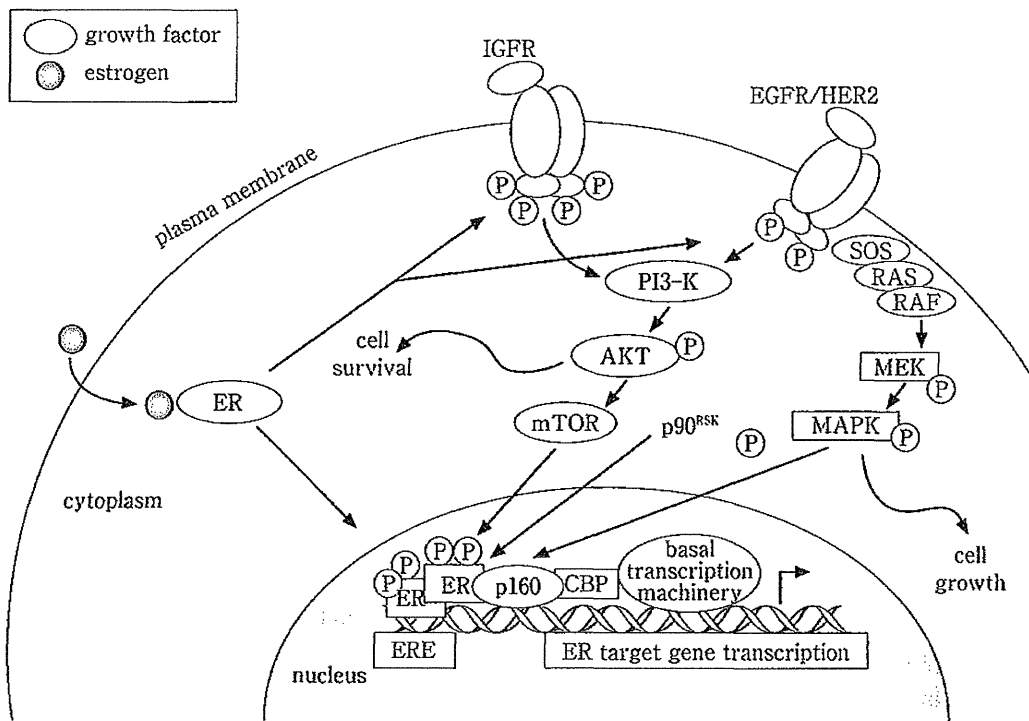


図1 エストロゲンレセプター(ER)と膜型増殖因子受容体のシグナルとのクロストーク
(文献¹⁴⁾より引用)

に影響しないことを報告した¹⁴⁾。

4) SERD (選択的エストロゲンレセプター機能抑制物質: selective estrogen receptor downregulator)

SERDはERに結合するがSERMと異なりエストロゲン作用をもたないpure antiestrogenである。SERDはERを分解させ、エストロゲンがERに結合するのを競合阻害し、ERの二量体化を阻害する。これらERに対する作用によりERが標的遺伝子のEREに結合できず、ERタンパクの発現低下もきたす¹⁵⁾。これまで唯一フルベストラントが開発され使用されている。日本でもフルベストラント500mg/4週投与がER陽性閉経後進行再発乳癌の二次以降の内分泌療法剤として2011年9月に承認された。

5) エストロゲン産生の抑制

閉経前ER陽性乳癌に対する卵巣機能抑制(LHRHアナログ)と、閉経後女性に適應のアロマトラーゼ阻害剤が開発されている。血中エストロゲン濃度の低下をきたすため標的臓器に対し

てエストロゲン作用が発揮できず、これが正常組織においては副作用として発現する。特に、長期のエストロゲン低下による骨粗鬆症および虚血性心疾患に対する影響が指摘されている。

アロマトラーゼ阻害剤の主な副作用として関節痛や筋肉痛が発現し、重篤な場合は投与が継続できない症例も存在する。血中エストロゲン低下による筋骨格系の副作用のメカニズムについて、アロマトラーゼ阻害剤の臨床試験(MA.27)の症例を用いたgenome-wide association studyにより関連する遺伝子多型(single nucleotide polymorphism: SNP)が同定された¹⁶⁾。同定されたSNPはT-cell leukemia 1A(TCL1A)遺伝子のプロモーター領域に存在し、このSNPによりERE(ERの結合部位)が生じる。筋骨格系症状が強く出た人はエストロゲンがERに結合することによりTCL1A遺伝子が発現し、炎症性サイトカインであるIL17の発現に関与することが報告された。このようなメカニズムの解明により今後、筋骨格系の副作用に対する対策がと

れるようになると予想される。

4 内分泌療法抵抗性

内分泌療法抵抗性のメカニズムとしては、乳癌細胞でERの発現がメチル化などにより陰性化する場合も存在するが、ERが発現しているにもかかわらず抵抗性を示す場合が多いと考えられている。その原因として特にERのシグナルと膜型増殖因子受容体(IGFR, EGFR, HER2など)の細胞内シグナル伝達のクロストークが指摘されている(図1)¹⁴⁾。膜型増殖因子受容体からのシグナルがERのリン酸化、そして転写を亢進させる場合が主な機序で、エストロゲンの存在下(細胞質のERを介した膜型増殖因子受容体とのクロストーク)、非存在下いずれにおいても生じうる。タモキシフェンやアロマターゼ阻害剤抵抗性のメカニズムの一つとして説明され、抵抗性克服のために膜型増殖因子受容体の下流の細胞内シグナル分子である phosphatidylinositol 3-kinase(PI3-K)の経路を中心としたシグナル伝達阻害剤の開発が進められている。最近mTOR阻害剤である everolimus をス

テロイド系アロマターゼ阻害剤と併用することにより、非ステロイド系アロマターゼ阻害剤耐性進行再発乳癌において有意に progression-free survival が延長することが報告された¹⁵⁾。

おわりに

ER陽性乳癌と内分泌療法について最近の知見を概説した。術後薬物療法でのタモキシフェン5年投与は約5割の再発抑制効果を示し、世界で50万人以上の乳癌患者の生命を救ったと見積もられている。ER陽性乳癌の予後はこの30年間で明らかに改善した²⁾。これは再発予防目的として行う術後内分泌療法を中心とした薬物療法の進歩によるものである。しかしながら、特に腋窩リンパ節転移陽性症例は術後5年以降の再発リスクも高く、いかに予後を改善するかが課題の一つである。そのために、より長期の内分泌療法や適切な内分泌療法剤の選択のほか、現在行っている内分泌療法や化学療法とは作用機序の異なる新たな薬物療法の開発が必要であると考えられている。その候補として、mTOR阻害剤のほか、ビスホスホネートやRANKL阻害剤が注目されている。

文献

- 1) Prat A, Perou CM: Mammary development meets cancer genomics. *Nat Med* 15: 842-844, 2009.
- 2) Yamashita H, et al: Estrogen receptor-positive breast cancer in Japanese women: trends in incidence, characteristics, and prognosis. *Ann Oncol* 22: 1318-1325, 2011.
- 3) Allred DC, et al: The origins of estrogen receptor alpha-positive and estrogen receptor alpha-negative human breast cancer. *Breast Cancer Res* 6: 240-245, 2004.
- 4) Hammond ME, et al: American society of clinical oncology/college of american pathologists guideline recommendations for immunohistochemical testing of estrogen and progesterone receptors in breast cancer. *J Clin Oncol* 28: 2784-2795, 2010.
- 5) Harvey JM, et al: Estrogen receptor status by immunohistochemistry is superior to the ligand-binding assay for predicting response to adjuvant endocrine therapy in breast cancer. *J Clin Oncol* 17: 1474-1481, 1999.
- 6) Yamashita H, et al: Immunohistochemical evaluation of hormone receptor status for predicting response to endocrine therapy in metastatic breast cancer. *Breast Cancer* 13: 74-83, 2006.
- 7) Endo Y, et al: High estrogen receptor expression and low Ki67 expression are associated with improved time to progression during first-line endocrine therapy with aromatase inhibitors in breast cancer. *Int J Clin Oncol* 16: 512-518, 2011.
- 8) Adams BD, et al: The micro-ribonucleic acid(miRNA) miR-206 targets the human estrogen receptor-alpha(ERalpha) and represses ERalpha messenger RNA and protein expression in breast cancer cell lines. *Mol Endocrinol* 21: 1132-1147, 2007.
- 9) Kondo N, et al: miR-206 Expression is down-regulated in estrogen receptor alpha-positive human