

カレントレビュー

4. 腫瘍

a. 腫瘍免疫

最近の知見と治療への展望

青 木 陽 一 田 中 憲 一

はじめに

腫瘍に対する免疫監視機構は、有効でないことがしばしばである。というのは免疫学的に健全な個体にも腫瘍が発生し、その個体を死に至らしめる。腫瘍に対する免疫応答は本来弱いものかもしれないが、腫瘍に対する生体の免疫反応の解明は、非常に興味の持たれる分野であるし、それを応用した免疫療法は実に魅力的なものと考えられる。

現在、分子生物学的手法を初め、さまざまな方法により、生体の腫瘍に対する免疫監視機構の解明が精力的に進められている。さらに宿主の抗腫瘍免疫能、抗腫瘍細胞の活性増強に関して、遺伝子導入も含めさまざまな方向からのアプローチがなされており、今後ますます期待が持たれる分野である。

腫瘍抗原

腫瘍は本来自己の細胞に由来するのであるが、その悪性化の過程において非自己として認識される分子を発現する可能性がある。このような分子が腫瘍抗原と呼ばれ、宿主において腫瘍免疫反応を引き起こしていると考えられる。

事実、腫瘍細胞が宿主の免疫応答を惹起しているということが、実験的にもまた臨床的にも認められている。

1. T細胞により認識される腫瘍抗原

腫瘍免疫における細胞性免疫の解析が、この数年分子レベルで行われるようになり、癌細胞を障害する細胞障害性 T 細胞 (以下 CTL) が認識する抗原ペプチドが明らかにされた。MAGE-1 遺伝子¹⁾は、CTL によって認識される抗原ペプチドをコードする遺伝子として初めて同定された。メラノーマ細胞から同定された遺伝子であるがヒト固形癌にも広く発現されており、精巣以外の正常細胞では発現されていない (表 1)。この蛋白のうち codon 161~169 の 9mer が、HLA-A1 により抗原提示され CTL によって認識されることが報告された²⁾。その他 MAGE ファミリーの遺伝子がいくつかクローニングされている。ついで、タイロシネース遺伝子がメラノーマ細胞上の拒絶抗原をコードし、それが HLA-A2 と結合して T 細胞に認識されることが明らかになった³⁾。最近これが MHC class II 拘束性に CD4 陽性細胞により提示され、抗腫瘍応答を誘導することが示された⁴⁾。さらに HLA-A2 拘束性のメラノーマ拒絶抗原として、MART-1/Melan-A⁵⁾、TIL が認識するものとして Pmel17 が同定された⁶⁾。CTL が認識する腫瘍特異的あるいは組織特異的抗原

表1 各種ヒト癌における MAGE 遺伝子の発現

癌腫	発現率 (mRNA レベル)		
	MAGE-1	MAGE-2	MAGE-3
黒色腫	46%		73%
肺癌	34%	47%	48%
乳癌	20%	9%	13%
頭頸部癌			56%
喉頭癌	23%	46%	
神経膠芽腫	60%		
神経芽細胞腫	33%		
肉腫	33%	33%	29%
前立腺癌			15%
膀胱癌			33%
直腸癌			21%
大腸癌	0%	9%	
腎癌			0%
白血病	0%	0%	8%
リンパ腫			0%
正常組織	0%	0%	0%
精巣	100%	100%	100%

の解析がこの数年精力的に行われているが、同定されたもののほとんどは、抗原性の高いとされるメラノーマにおける成果である。今後、他の固形癌に特異的な抗原エピトープの解析が進められると思われる。これらの抗原ペプチドが同定されれば、効率よく CTL を生体内で誘導することも可能であろう。

その他、癌の発生には癌遺伝子、癌抑制遺伝子の変異が重要と考えられているが、これら変異型の癌遺伝子、癌抑制遺伝子産物、ウイルス蛋白なども T 細胞に認識される腫瘍抗原となり得ると考えられている。

2. 腫瘍関連抗原

alpha-fetoprotein (AFP), carcinoembryonic antigen (CEA) などの oncofetal antigens, 異常ガングリオシド GD3, 血液型物質の異所性高発現などの糖蛋白抗原, 糖脂質抗原, さらに CD10, CD45R などの組織特異的な分化抗原などがあるが、詳細は割愛する。

腫瘍免疫におけるエフェクター メカニズム

担癌生体が抗原に反応し、それを拒絶するように働く時のエフェクターメカニズムに関して、T 細胞および NK (natural killer) 細胞における最近の知見を中心に紹介する。

1. T 細胞

CTL が標的細胞を障害するには、標的細胞への接着と識別、細胞障害作用の2段階のステップが必要と考えられる(図1)。まず T 細胞抗原受容体 (TCR) とその関連分子によって、標的細胞の class I 分子によって提示された抗原エピトープが認識される。関連分子としては TCR 複合体の CD3, CD8が、細胞接着分子としては LFA-1, CD2が主なものである。

ついで細胞障害に関しては、細胞障害顆粒に依存したものと依存しない細胞障害活性の2種類の機序⁷⁾が考えられている。CTL は細胞質に細胞障害顆粒を持っている。この顆粒に含まれる細胞障害性物質として、perforin(細胞膜に孔をあける蛋白), granzymes (serine protease)⁸⁾, TIA-1-R⁹⁾などが知られている。CTL の脱顆粒により放出された顆粒は、perforin の作用によって標的細胞に孔をあけ、そこから granzyme などの細胞障害性蛋白が細胞内に侵入し、細胞障害を引き起こす。

一方、CTL は細胞表面に tumor necrosis factor (TNF), Fas ligand などを発現しており、これらは標的細胞表面上の特異的な受容体(それぞれ TNF-R, Fas)と結合し、標的細胞の自殺機構を活性化し apoptosis を誘導する¹⁰⁾。これが細胞障害顆粒に依存しない細胞障害機序である。

さらに最近、抗原特異的な T 細胞の活性化には、TCR を介した抗原認識シグナルだけでは不十分であり、抗原提示細胞 (APC) との接触により与えられる costimulatory signal が必

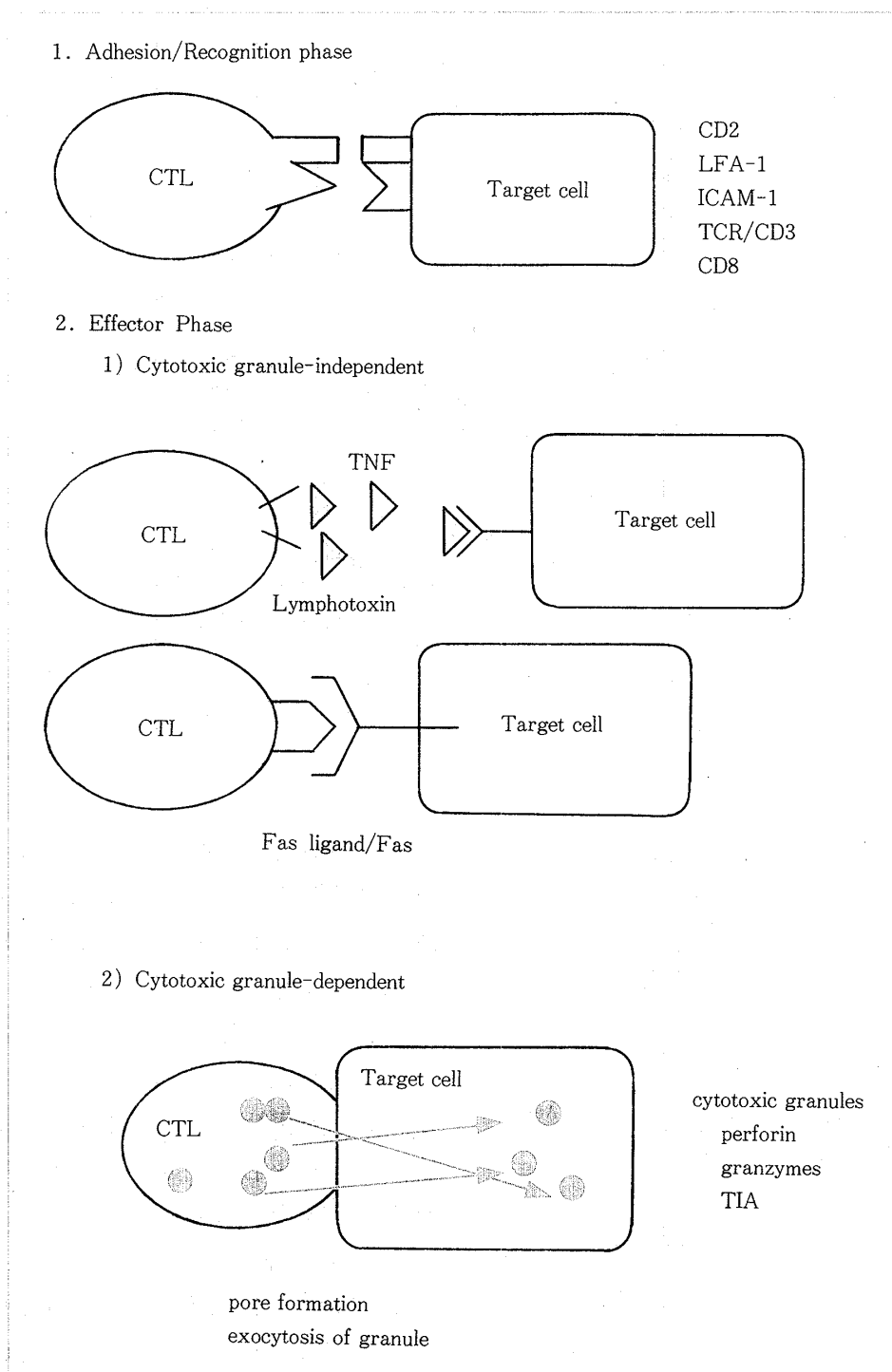


図1 T細胞の標的細胞障害機構

要であることが明らかになってきた。この costimulatory signal の非供与下では、T 細胞の増殖が起こらないだけでなく、その後の刺激にも反応できなくなる不応答状態が起こるとされている。この担い手の一つとして、T 細胞上の

CD28とAPC上のB7¹¹⁾が報告されており、T細胞の活性化、エフェクター細胞の誘導に必要なことが示されている(図2)。最近、CD28に対するB7とは異なる第2のリガンドB70(B7-2)も同定された¹²⁾¹³⁾。その他 costimulation に関

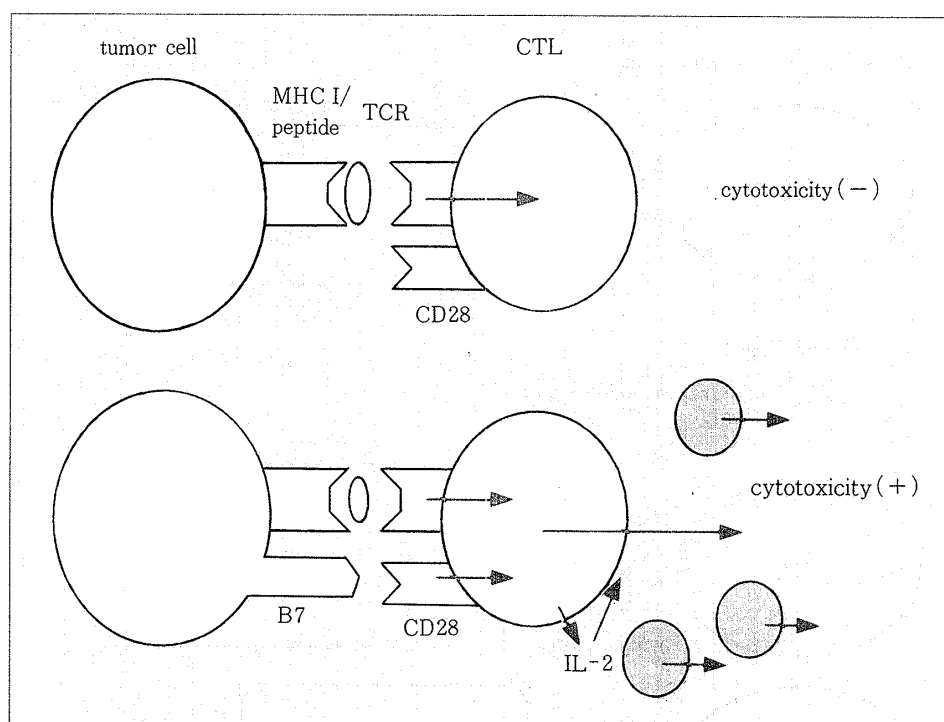


図2 B7分子を介した costimulatory signal と細胞障害活性

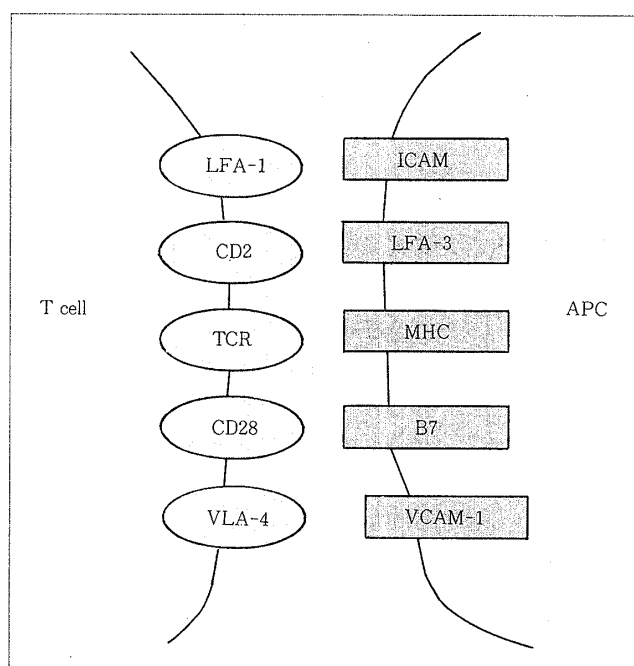


図3 T細胞上の接着分子とそのリガンド

わる T 細胞上の接着分子とそのリガンドを図3に示した。

CD4陽性 T 細胞は、主に CTL 誘導や標的細胞の class I 発現増強のためのサイトカイン

(IL-2, TNF, IFN- γ など) の供給により抗腫瘍効果を発揮する。この場合腫瘍抗原が腫瘍細胞表面から shedding され, APC によって pick up され, APC 内のプロセッシングを経て class II 分子によって抗原エピトープが T 細胞に提示され活性化が起こる(図4)。また少数ではあるが細胞障害活性を持つものも認められ, Th1 細胞には Fas 依存性の¹⁴⁾, Th2細胞には脱顆粒依存性の細胞障害活性が示されている¹⁵⁾。

2. NK 細胞

NK 細胞による細胞障害機構に関しては、いまだ明確な解明はなされていない。ここ数年 NK による細胞障害活性は標的細胞の MHC class I の発現と逆相関するという事実の分子機構に関してさまざまな研究が試みられている。NK 細胞レセプターは標的細胞の class I を認識することで、その NK 活性が抑制されるのであるが、Karre and Ljunggren は、二つのモデルを提唱している¹⁶⁾。一つは、NK 細胞は自己の class I に対するレセプターを持っており、こ

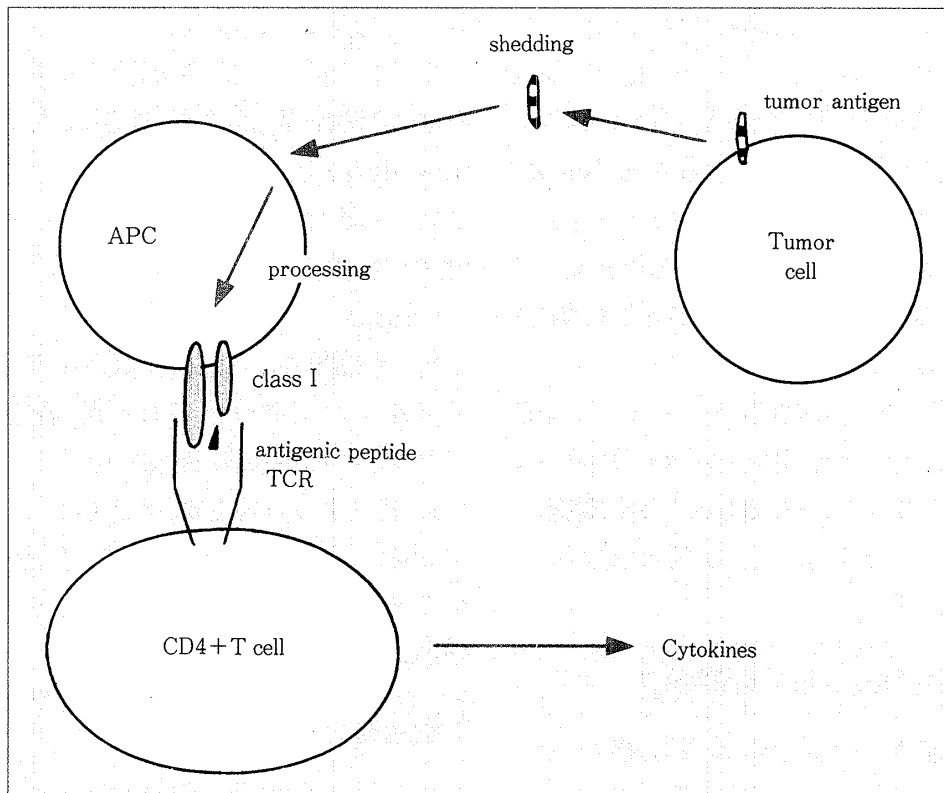


図4 CD4陽性細胞の抗腫瘍活性機構

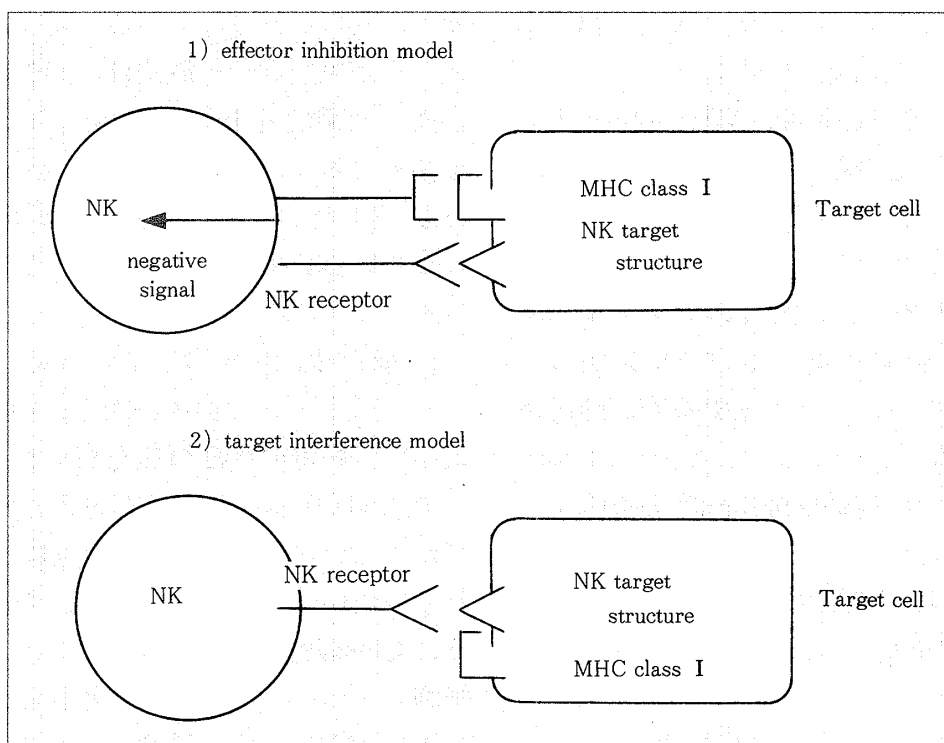


図5 NK抵抗性のメカニズムモデル

の両者の結合により NK 細胞に負のシグナルが入るというものである。もう一つは、標的細胞上には NK の標的分子が存在しているが、これを class I 分子が覆い隠しているため NK 細胞と標的分子とが結合できない。しかし class I が消失したり、構造変化を起こすと標的分子が露出して NK 細胞レセプターに認識され障害されることになる (図 5)。

class I を発現している細胞は NK による細胞障害から免れているが、逆に class I 分子に異常を来したり、これを失った細胞が NK 細胞からの監視を受けることになる。今後早急な研究の進展が期待される。

腫瘍細胞の宿主免疫からの回避機構

いかに腫瘍細胞が宿主の免疫監視機構から免れているのかという疑問は、腫瘍免疫研究の一つのゴールと考えられる。現在、腫瘍細胞の免疫逸脱機構に関しては、以下のように考察されている。

1. 腫瘍細胞において、MHC class I の発現が down-regulation されており、宿主の CTL (class I 拘束性) に認識されにくい。
2. 多くのヒト腫瘍細胞は、MHC class II を発現しておらず、腫瘍特異的 CD4 陽性 T 細胞を活性化できない。つまり CTL に対する有効なヘルプが欠如している。
3. 腫瘍細胞の多くは、第 2 のシグナル cos-timulatory signal を伝達する分子を欠如している。この状態では、たとえ腫瘍細胞が腫瘍特異的 T 細胞に認識されたとしても、clonal-anergy が誘導され、有効な腫瘍細胞の排除が不可能と考えられる。
4. 腫瘍細胞が免疫抑制物質、たとえば TGF- β 、IL-6 など¹⁷⁾¹⁸⁾を産生し、抗腫瘍免疫反応を抑制している。
5. 宿主がすでにある種の腫瘍抗原、たとえば oncofetal antigen などの腫瘍関連抗原などに

対して寛容の状態にある。

6. ある種の抗体が結合することにより、腫瘍抗原が細胞表面に発現されない (antigenic modulation)。

7. 有効な免疫応答が確立する前に、免疫抵抗性の腫瘍が増殖してしまう (sneaking through)。

8. 腫瘍細胞には正常細胞より糖鎖分子が多く発現されており、これが腫瘍抗原を覆い隠してしまう (antigen masking)。

以上のような機序が考えられているが、単一の要因によって腫瘍細胞が、宿主の免疫学的監視から免れているとは思われず、今後さらなる検討が必要であろう。

免疫療法

近年の癌に対する免疫療法は各種サイトカインの発見、大量産生技術の確立とともに発展してきた。しかし当初期待されていたほどの効果は得られていない。一方ここ数年の腫瘍免疫学の進歩により、これまでの免疫療法の問題点が徐々に明らかにされている。現在、これらに支えられた免疫遺伝子療法は、過去の免疫療法が直面した障害を break through できる可能性を秘めており、大いに興味の持たれるところである。以下に現在基礎的、臨床的に研究が進められている免疫遺伝子療法 (表 2) について述べる。

1. 細胞表面抗原遺伝子の導入

一つは MHC class I 遺伝子を腫瘍細胞に導入して、腫瘍の免疫原性を高める方法である。すでに HLA-B27 遺伝子を導入した臨床試験が行われている¹⁹⁾が、まだ十分な臨床効果は得られていない。その理由として、先にも述べたように CD8 陽性の CTL の誘導には、CD4 陽性 T 細胞からのヘルプが必要とされる。CD4 陽性 T 細胞は MHC class II 拘束性であるが、一般には癌細胞には class II が発現されていないた

表2 癌に対する免疫遺伝子治療

1. 腫瘍ワクチン療法
1) 細胞表面抗原遺伝子の導入
HLA-B7, B7
2) サイトカイン遺伝子の導入
IL-2, IL-4, TNF, IFN- γ , GM-CSF
2. 養子免疫強化療法
TNF, IL-2

め、CD4陽性 T 細胞を活性化できず効率よく CTL を誘導できないためではないかと考えられている。

さらに最近、前述した costimulatory molecule の一つである B7 の遺伝子を導入した免疫遺伝子療法が試みられている²⁰⁾。B7 を発現していない腫瘍を宿主から得、これに B7 を発現させ再移植するとその腫瘍は拒絶され、さらにその親株の腫瘍も拒絶されるという腫瘍特異的な反応が惹起されることが報告されている²¹⁾。また B7 導入細胞を用いて in vitro で腫瘍特異的な CTL を誘導し、それを担癌宿主に移入するという方法も検討されている。

2. サイトカイン遺伝子の導入

サイトカイン遺伝子を腫瘍細胞に導入し、癌ワクチン効果を高めるとともに immunomodulatory effect を期待する能動免疫遺伝子療法と考えられる²²⁾。本来サイトカイン遺伝子を腫瘍細胞に導入する最も大きな意義は、腫瘍局所でサイトカインを持続産生させることである。現在欧米諸国で IL-2²³⁾、GM-CSF²⁴⁾、TNF²⁵⁾、IFN- γ ²⁶⁾、IL-4²⁷⁾ の遺伝子を導入した腫瘍ワクチン療法が臨床応用されている。手術や生検検体として採取した患者自身の癌細胞や、患者と class I 抗原が一致している細胞株にサイトカイン遺伝子を導入し患者体内へ戻す ex vivo 遺伝子導入法がとられている(図6)。遺伝子が導入された癌細胞は、患者体内に戻される前に放射線照射し、体内で増殖しないように処

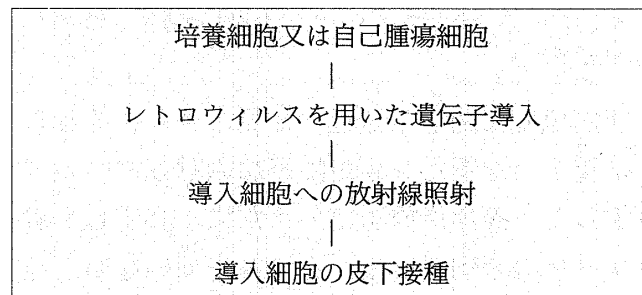


図6 サイトカイン遺伝子導入細胞を用いた免疫療法の一般的な方法

理されている。腫瘍局所で産生されたサイトカインはリンパ球を初めとする免疫担当細胞を活性化し、腫瘍特異的および非特異的反応を誘導することが期待される。さらに腫瘍自身にも作用し表面抗原の発現を誘導し抗原性を高め、宿主の免疫監視機構に認識されやすくすることも期待される。研究レベルではほかに IL-6、IL-7 遺伝子の導入も試みられている。

また養子免疫療法と関連して、TNF 又は IL-2 遺伝子を患者メラノーマ細胞に導入して、患者皮下にワクチンとして投与し、3週間後に患部を広汎に切除し、所属リンパ節も同時に廓清する。摘出組織からリンパ球を分離して IL-2 で活性化後、患者に再投与するという方法が試みられている²²⁾。

3. 養子免疫強化療法

サイトカイン遺伝子をエフェクター細胞(LAK, TIL など)に導入し、導入細胞から分泌されるサイトカインにより、受動免疫能を高めたり、抗腫瘍効果を高めようという試みである。すでに1991年、悪性黒色腫5人の患者に、レトロウイルスベクターにより TNF 遺伝子が導入された TIL の投与が行われた²⁸⁾。しかし治療効果を判定するまでには至っていない。安全な遺伝子導入法の開発、効果的な腫瘍組織への到達性など解決せねばならない問題が多いと思われる。

まとめ

腫瘍免疫に関する最近の知見，さらにそれらを基盤とした新たな癌免疫療法の試みについて概説した。癌免疫療法はいまだに，必ずしも満足すべき臨床効果をあげるに至っていない。遺伝子治療の応用，腫瘍抗原や costimulatory signal による免疫応答の強化などを含め，今後ますますの発展が期待される。

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* 1991; 254: 1643—1647
2. *Traversari C, van der Bruggen P, Luescher IF, et al.* A nonapeptide encoded by human gene MAGE-1 is recognized on HLA-A1 by cytolytic T lymphocytes directed against tumor antigen MZ2-E. *J Exp Med* 1992; 176: 1453—1457
3. *Brichard V, van Pel A, Wolfel T, et al.* The tyrosinase gene codes for an antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *J Exp Med* 1993; 178: 489—495
4. *Pardoll DM.* A new look for the 1990s. *Nature* 1994; 369: 357—358
5. *Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al.* Cloning of the gene coding for a shared human melanoma antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 3515—3519
6. *Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH, et al.* Identification of a human melanoma antigen recognized by tumor-infiltrating lymphocytes associated with in vivo tumor injection. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 6458—6462
7. *Doherty PC.* Cell-mediated cytotoxicity. *Cell* 1993; 75: 607—612
8. *Tian Q, Streuli M, Saito H, et al.* A polyadenylate binding protein localized to the granules of cytolytic lymphocytes induces DNA fragmentation in target cells. *Cell* 1991; 67: 629—639
9. *Kawakami A, Tian Q, Duan X, et al.* Identification and functional characterization of a TIA-related nucleolysin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 8681—8685
10. *Rouvier E, Luciani MF, Golstein P.* Fas involvement in Ca^{2+} -independent T cell-mediated cytotoxicity. *J Exp Med* 1993; 177: 195—200
11. *Chen L, Ashe S, Bardy WA, et al.* Costimulation of antitumor immunity by the B7 counter receptor for the T lymphocyte molecule CD28 and CTLA-4. *Cell* 1992; 71: 1093—1102
12. *Azuma M, Ito D, Yagita H, et al.* B70 antigen is a second ligand for CTLA-4 and CD28. *Nature* 1993; 366: 76—79
13. *Freeman GL, Gribben JG, Boussioitis VA, et al.* Cloning of B7-2: CTLA-4 counter receptor that costimulates human T cell proliferation. *Science* 1993; 262: 909—911
14. *Stalder T, Hahn S, Erb P, et al.* Fas antigen is the major target molecule for CD^{4+} T cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol* 1994; 152: 1127—1133
15. *Lancki DW, Hsieh CS, Fitch FW.* Mechanisms of lysis by cytotoxic T lymphocyte clones: Lytic activity and gene expression in cloned antigen-specific CD^{4+} and CD^{8+} T lymphocytes. *J Immunol* 1991; 146: 3242—3249
16. *Ljunggren HG, Karre K.* In search of the missing self: MHC molecules and NK cell recognition. *Immunology Today* 1990; 11: 237—244
17. *Tada T, Ohzeki S, Utsumi H, et al.* Transforming growth factor- β -induced inhibition of T cell function: Susceptibility difference

- in T cells of various phenotypes and functions and its relevance to immunosuppression in tumor-bearing state. *J Immunol* 1991 ; 146 : 1077—1082
18. Mizuhara H, O'Neill E, Seki N, et al. T cell activation associated hepatic injury: Mediation by tumor necrosis factors and protection by interleukin-6. *J Exp Med* 1994 ; 179 : 1529—1537
19. Gorelik E, Jay G, Kwiatkowski B, et al. Increased sensitivity to MHC-nonrestricted lysis of BL6 melanoma cells by transformation with class I H-2K^b gene. *J Immunol* 1990 ; 145 : 1621—1632
20. Travi J. A stimulating new approach to cancer treatment. *Science* 1993 ; 259 : 310—311
21. Shiloni E, et al. *Cancer Immunol. Immunother* 1993 ; 37 : 286—292
22. Fearon ER, Pardoll DM, Itaya T, et al. Interleukin-2 production by tumor cells bypass T helper function in the generation of an antitumor response. *Cell* 1990 ; 60 : 397—403
23. Dranoff G, Jaffee E, Lazenby A, et al. Vaccination with irradiated tumor cells engineered to secrete murine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates potent, specific, and long-lasting anti-tumor immunity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993 ; 90 : 3539—3543
24. Asher AL, Mule JJ, Kasid A, et al. Murine tumor cells transduced with the gene for tumor necrosis factor-alpha. Evidence for paracrine immune effects of tumor necrosis factor against tumors. *J Immunol* 1991 ; 146 : 3227—3234
25. Porgador A, Bannerji R, Watanabe Y, et al. Antimetastatic vaccination of tumor-bearing mice with two types of IFN-gamma gene-inserted tumor cells. *J Immunol* 1993 ; 150 : 1458—1470
26. Golubek PT, Lazenby AJ, Levitsky HI, et al. Treatment of established renal cancer by tumor cells engineered to secrete interleukin-4. *Science* 1991 ; 254 : 713—716
27. Rosenberg SA. Immunotherapy and gene therapy of cancer. *Cancer Res* 1991 ; 51 : 5074—5079