

がんと免疫

中山 睿 一

岡山大学大学院医歯学総合研究科病態制御科学専攻
腫瘍制御学講座免疫学分野

はじめに

ヒト細胞傷害性 T 細胞 (CTL) あるいは抗体によって認識される腫瘍抗原が、現在までに数多く同定されている。それらの抗原は、1)がん・精巢抗原 (CT 抗原)、2)分化抗原、3)変異産物、4)過剰発現した正常遺伝子産物の 4つのカテゴリーに分類される。CT 抗原は、i) mRNA の発現が精巢にのみ認められ、他の正常組織では、非常に弱いか認められない、ii) 癌腫、肉腫を問わず様々な悪性腫瘍において、様々な頻度で mRNA が発現している、iii) 遺伝子は X 染色体に存在する事が多い、などの特徴を持つ。現在までに 14 種類の CT 抗原が同定されている (表 1)。本稿では最も詳細に研究されている MAGE 及び NY-ESO-1 について述べる。

A. MAGE 遺伝子ファミリー

MAGE は 13 のサブファミリーからなる遺伝子群である¹。このうち 12 遺伝子からなる MAGE-A, 6 遺伝子からなる MAGE-B, 4 遺伝子からなる MAGE-C の 3つのサブファミリーは上記 CT 抗原の特徴を備えている。そのうち MAGE-A は、表 2 に示すように数多くの T 細胞エピトープが同定されている。

1. 癌組織における MAGE-A の発現及び宿主免疫応答

表 3 は様々な悪性腫瘍における MAGE-A mRNA の発現を RT-PCR で検討した結果を示したものである。癌腫、肉腫を問わず高頻度に発現しているのがわかる。CT 抗原の発現頻度は、臨床病期が進行した症例あるいは組織学的に悪性度の高い症例において高いことが報告されている²。このことは癌の進行度あるいは悪性度と癌細胞遺伝子の脱メチル化とに相関が有るのかもしれない³。このように悪性腫瘍に高頻度に発現されているにもかかわらず、MAGE-A に対する担癌患者の免疫応答は乏しい事が知られている。Stockert⁴らは数種類の CT 抗原の組換え蛋白を作製し、癌患者の血清中の CT 抗原に対する IgG 抗体の有無を ELISA

法で検討した⁴。悪性黒色腫 127 例の血清中 12 例に NY-ESO-1 に対する抗体が認められたが、MAGE-A1 及び A3 に対する抗体はそれぞれ 1 例及び 2 例にしか認められず、抗体価も NY-ESO-1 に対するそれに比して低いものであった。なお正常者 70 人の血清においては、CT 抗原に対する抗体は検出されなかった。

2. MAGE-A3 を標的抗原とした癌ワクチン臨床試験

MAGE-A3 由来のペプチドを使用した臨床試験が報告されている。既存の治療法が無効で、MAGE-A3 の発現が原発巣あるいは転移巣で確認された症例に対して実施されている⁵⁻⁸。アジュバントを使用せずペプチドのみを免疫した臨床試験では、25 例中 3 例に転移巣を含めた全病巣が消失している。またこの 3 例を含め 25 例中 7 例に部分寛解以上の臨床効果が認められている。しかしながら MAGE-A3 ペプチドに対する免疫応答は検出されなかった。MAGE-A3 ペプチドをパルスした自己樹状細胞を免疫した臨床試験では、MAGE-A3 に特異的な CTL 前駆細胞の増加が 11 例中 8 例に認められたが、部分寛解以上の症例はなく臨床効果は乏しかった。

B. NY-ESO-1

NY-ESO-1 は SEREX 法 (serological expression cloning of recombinant cDNA expression libraries of human tumors with autologous serum) によって食道癌から同定された CT 抗原である⁹。また NY-ESO-1 抗体陽性の悪性黒色腫患者の末梢血から誘導された HLA-A2 拘束性 CTL の認識抗原である事も明らかになり¹¹、液性及び細胞性免疫応答を誘導できる数少ない抗原のひとつである。

1. 癌組織での NY-ESO-1 の発現

a) NY-ESO-1 mRNA の発現

表 4 は様々な悪性腫瘍における NY-ESO-1 mRNA

表1 ヒト癌・精巣 (cancer/testis, CT) 抗原

遺伝子	染色体位置	抗原同定に用いられた方法	CTL	Ab
MAGE	Xq28*	CTL/expression cloning	+	+
BEGE	unknown	CTL/expression cloning	+	
GAGE	Xp11.2-3	CTL/expression cloning	+	
SSX	Xp11	SEREX	+	+
NY-ESO-1	Xq28	SEREX	+	+
SCP-1	1q13	SEREX		+
CT-7/MAGE-C1	Xq26	SEREX		+
CT8	unknown	SEREX		+
CT9	1p	RT-PCR		
CT-10	Xq27	RDA**		+
CTp11	Xq26.3-Xq27.1	mRNA differential display		
SAGE	Xq28	RDA		
cTAGE-1	18q11.2	SEREX		+
OY-TES-1	12p12-p13	homology walking		+

*MAGE-Aの遺伝子座

** Representational-difference analysis.

表2 T細胞エピトープ

遺伝子	HLA拘束性	エピトープ	部位
MAGE-A1	A1	EADPTGHSY	161-169
	A24	NYKHCPEI	135-143
	A28	EVYDGREHSA	222-231
	A3	SLFRAVITK	96-104
	B53	DPARYEFLW	258-266
	Cw2	SAFPTINF	62-70
	Cw16/Cw3	SAYGEPKRL	230-238
MAGE-A2	A2	YLQLVFGIEV	157-166
MAGE-A3	A1	EVDPIGHLY	168-176
	A2	FLWGPRALV	271-279
	A2	KVAELVHFL	112-120
	A24	IMPKAGLLI	195-203
	B40	AELVHFLLL	
	B44	MEVDPIGHLY	167-176
	DR11	TSYVKVLHHMVKISG	281-295
	DR13	AELVHFLLLKYRAR	114-127
	DR13	LLKYRAREPVTKAE	121-134
DP4	TQHFVQENYLEY	247-262	
MAGE-A4	A2	GVYDGREHTV	230-239
MAGE-A6	A34	MVKISGGPR	290-298
	Cw16	ISGGPRISY	293-301
MAGE-A10	A2	GLYDGM EHL	254-262
MAGR-A12	A2	FLWGPRALV	271-279

(文献1より引用。一部改変)

表3 RT-PCR

組織型	MAGE-A1	MAGE-A2	MAGE-A3	MAGE-A4	MAGE-A6	MAGE-A10	MAGE-A12
Melanoma							
Primary lesions	25	52	55	18	59	21	34
Metastases	46	70	74	28	72	47	62
Lung carcinoma							
Squamous cell carcinoma	44	42	48	59	53	50	28
Adenocarcinoma	49	47	44	35	49	40	33
Head and neck squamous cell carcinoma	31	38	51	53	58	35	27
Bladder carcinoma							
Superficial (<T2)	14	11	16	23	19	33	10
Infiltrating (>T2)	32	43	57	45	57	33	34
Esophageal carcinoma							
Squamous cell carcinoma	53	53	63	74	68	40	26
Adenocarcinoma	20	40	20	20	20		40
Prostate carcinoma	18	18	18	0	23	10	5
Sarcoma	8	15	8	15	15	7	8
Breast carcinoma	19	9	13	6	15	0	16
Colorectal carcinoma	0	13	17	11	22	0	11
Renal cell carcinoma	5	0	0	2	0	0	0
Leukemia and lymphoma	0	0	0	1	0	0	0
Myeloma							
Stages I-II	0	0	0	0	0	0	0
Stages III	30	19	31	12	33	7	15

(文献1より引用)

表4 RT-PCR

腫瘍	mRNA, positive/total	腫瘍	mRNA, positive/total
Melanoma	23/67	Ovarian cancer	2/8
Breast cancer	10/33	Thyroid cancer	2/5
Prostate cancer	14/34	Bladder cancer	20/62
Colon cancer	0/16	Burkitt lymphoma	1/2
Glioma	0/15	Basal cell carcinoma	0/2
Gastric cancer	0/12	Leiomyosarcoma	0/2
Lung cancer	2/12	Other sarcomas	0/2
Renal cancer	0/10	Pancreatic cancer	0/2
Lymphoma	0/10	Seminoma	0/1
Hepatoma	2/7	Spinal cord tumor	0/1

の発現を RT-PCR で検討した結果を、自検例を加えて示したものである。MAGE-A の発現パターンと同様に、消化器系癌、腎臓癌、血液系の癌においては発現頻度が低いか、発現が全く認められない。我々は膀胱癌の 90% を占める移行上皮癌 62 例の手術標本について *NY-ESO-1* mRNA の発現を検討した²。表 4 に示すように、62 例中 20 例 (32%) に *NY-ESO-1* mRNA の発現が認められた。その発現頻度は、腫瘍組織の構造及び癌細胞の異型度を評

価する tumor grade に相関していた。つまり異型度の高い grade 3 では、43 例中 14 例 (44%) に、異型度が低い grade 1 及び 2 では 30 例中 6 例 (20%) に *NY-ESO-1* mRNA が発現しており、両者間で統計学的有意差を認めた。

我々はさらに進行性前立腺癌 34 例の生検組織での、*NY-ESO-1* mRNA の発現を検討した。34 例中 14 例 (41%) にその発現を認めた。発現頻度は、腫瘍組織の構造異型を評価する Gleason' score 及

び全身転移の有無と相関した。このように *NY-ESO-1* mRNA の発現頻度は、移行上皮癌では病理学的悪性度と、前立腺癌では病理学的悪性度及び臨床的進行度と相関する事が判った。

b) *NY-ESO-1* 蛋白の発現

我々は移行上皮癌 62 例の手術標本について、抗 *NY-ESO-1* 単クローン抗体 (ES121) を使用し *NY-ESO-1* 蛋白の発現を免疫組織染色で検討した。*NY-ESO-1* mRNA 陽性 20 例中 2 例 (10%) に蛋白の発現を認めた。2 例とも grade 3 の移行上皮癌であり、その発現は不均一であった。*NY-ESO-1* mRNA 陰性 40 例には蛋白の発現は認めなかった。

2. *NY-ESO-1* 由来の T 細胞エピトープ

a) CTL 認識エピトープ

Jäger らは、前述のように *NY-ESO-1* 抗体を持つ悪性黒色腫患者より HLA-A2 拘束性で *NY-ESO-1* に特異的な CTL 細胞株を樹立した。その CTL 細胞株を使用して、*NY-ESO-1* 由来の 3 種類の CTL 認識ペプチドを決定した¹⁰。これは、担癌患者で癌抗原に対する特異的な液性及び細胞免疫が同時に起こりうる事を示した最初の報告である。また Gnjatich らは、*NY-ESO-1* 遺伝子を組み込んだ組換えアデノウイルスを感染させた自己リンパ球を抗原提示細胞として使用して、*NY-ESO-1* 抗体陽性患者の CD8 T 細胞から *NY-ESO-1* 特異的 CTL を誘導する事に成功した。この CTL を用いて、HLA-Cw3 及び Cw6 に結合する抗原ペプチドを同定した¹¹。Wang らは、悪性黒色腫から分離した腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) が認識する抗原を同定した。その抗原は *NY-ESO-1* であり、さらに HLA-A31 に結合する抗原ペプチドを決定した¹²。

b) CD4 T 細胞認識エピトープ

NY-ESO-1 抗体陽性患者より HLA クラス II 拘束性の CD4 T 細胞株を樹立し、その認識ペプチドが数種類報告されている。Zeng らが報告した HLA-DP4 拘束性 CD4 T 細胞株は、14 アミノ酸から成るペプチドを認識する¹³。このペプチドは HLA-A2 に結合する抗原ペプチドとオーバーラップするため、臨床試験で使用するペプチドとしては有用と考えられる。

3. *NY-ESO-1* に対する担癌患者の免疫応答

a) 液性免疫応答

前述のように Stockert らは組換え蛋白を作製し、これに対する癌患者血清中の IgG 抗体の有無を ELISA 法で検討し、約 10% の悪性黒色腫あるいは卵巣癌患者で *NY-ESO-1* に対する抗体産生を認めている。さらに彼女らは *NY-ESO-1* mRNA を発

現している悪性黒色腫の約 50% の患者で *NY-ESO-1* に対する抗体を認め、臨床病期が進行した患者で高頻度に *NY-ESO-1* 抗体が産生される傾向を指摘した。また *NY-ESO-1* 抗体の力価は腫瘍が縮小すると低下していく事も Jäger らによって明らかにされている¹⁴。つまり *NY-ESO-1* に対する液性免疫応答は腫瘍依存性である事が示唆された。我々は移行上皮癌 124 例の血清中の *NY-ESO-1* 抗体の有無について検討を加えた³。9 例に高力価の *NY-ESO-1* 抗体を認めた。*NY-ESO-1* 抗体陽性患者はすべて grade 3 の移行上皮癌患者で、特に上皮内癌 (CIS) の患者で 14 例中 5 例と高頻度に認められた。CIS は粘膜内癌であるが、ほとんどが grade 3 であり、悪性度が高い移行上皮癌である。また 5 例中 3 例は BCG 療法を受け、臨床的に癌の再発が認められないにもかかわらず *NY-ESO-1* 抗体をその血清中に長期にわたって認めた。また我々は前立腺癌 218 例についても *NY-ESO-1* 抗体の産出の有無について検討した。218 例中 10 例に *NY-ESO-1* 抗体が認められた。全例リンパ節あるいは骨転移がある患者であった。

b) 細胞性免疫応答

上記のごとく *NY-ESO-1* は担癌患者で同時に液性及び細胞免疫を誘導する事が示された。Jäger らは、複数の HLA-A2 陽性の悪性黒色腫患者でその事を検証した。つまり HLA-A2 に結合する抗原ペプチドをパルスした自己単核球を抗原提示細胞として、患者 CD8 T 細胞を感作した。1 週間の培養後、*NY-ESO-1* に特異的 CD8 T 細胞の反応をエリスロット法、クロム遊離試験で検出した。*NY-ESO-1* 抗体陰性の患者からは全く陽性反応は得られなかったが、*NY-ESO-1* 抗体陽性患者 11 名中 10 名に特異的 CD8 T 細胞反応が検出された¹⁵。また Gnjatich らは上記の組換えアデノウイルスを用いて、悪性黒色腫患者から分離した CD8 T 細胞を感作した¹¹。さらに *NY-ESO-1* 遺伝子を組み込んだ組換えワクシニアウイルスを感染させた自己の B 細胞を標的細胞として、*NY-ESO-1* に特異的な CD8 T 細胞反応をエリスロット法で検出した。やはり *NY-ESO-1* 抗体陽性患者でのみ CD8 T 細胞反応が得られた。この組換えウイルスを用いた方法は、患者の HLA に関係なく CD8 T 細胞反応を誘導・検出できるもので、臨床試験におけるモニタリングに極めて有用と考えられる。我々も、この方法で *NY-ESO-1* 抗体陽性の前立腺癌患者 3 例中 2 例において、*NY-ESO-1* に特異的な CD8 T 細胞の反応を検出できた。

謝辞：筆者らの *NY-ESO-1* に関する研究はラドウィック癌研究所ニューヨーク支部及び岡山大学大学

院泌尿器科との共同研究である。この紙面を借りて協力頂いた方々に謝辞を述べる。

参考文献

1. Chomez P, De Backer O, Bertrand M. An overview of MAGE gene family with identification of all human members of the family. *Cancer Res* 2001; 61: 5544-5551.
2. Kurashige T, Noguchi Y, Saika T. NY-ESO-1 expression and immunogenicity associated with transitional cell carcinoma: correlation with tumor grade. *Cancer Res* 2001; 61: 4671-4674.
3. De Smet C, De Backer O, Faraoni I. The activation of human gene MAGE-1 in tumor cells is correlated with genome-wide demethylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7149-7153.
4. Stockert E, Jäger E, Chen Y-T. A survey of the humoral immune response of cancer patient to a panel of human tumor antigens. *J Exp Med* 1998; 187:1394-1354.
5. Marchand M, Van Baren n, Weynants P. Tumor regressions observed in patients with metastatic melanoma treated with an antigenic peptide encoded by genes *MAGE-3* and presented with HLA-A1. *Int Natl J Cancer* 1999; 80: 219-230.
6. Thurner B, Haendle I, Roder C. Vaccination with Mage-3A1peptide-pulsed mature, monocyte-derived dendritic cells expands specific cytotoxic T cells and induces regression of some metastases in advanced stage IV melanoma. *J Exp Med* 1999; 190: 1669-1678.
7. Nishiyama T, Tachibana M, Horiguchi Y. Immunotherapy of bladder cancer using autologous dendritic cells pulsed with human leukocyte antigen-A24-specific MAGE-3 peptide. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 23-31.
8. Sadanaga T, Nagashima H, Mashino K. Dendritic cell vaccination with MAGE Peptide is a novel therapeutic approach for gasttointestinal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2277-2284.
9. Chen YT, Scanlan MJ, Sahin U. A testicular antigen aberrantly expressed in human cancers detected by autologous antibody screening. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 1914-1918.
10. Jäger E, Chen YT, Drijfhout JW. Simultaneous humoral and cellular immune response against cancer-testis antigen NY-ESO-1: definition of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-A2-binding peptide epitopes. *J Exp Med* 1998; 187: 265-270.
11. Gnjjatic S, Nagata Y, Jäger E. Strategy for monitoring T cell responses to NY-ESO-1 in patients with any HLA class I allele. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 10917-10922.
12. Wang RF, Johnston SL, Zeng G. A breast and melanoma-shared tumor antigen: T cell responses to antigenic peptides translated from different open reading frames. *J Immunol* 1998; 161: 3598-3606.
13. Zeng G, Wang X, Robbins PF. CD4(+) T cell recognition of MHC class II-restricted epitopes from NY-ESO-1 presented by a prevalent HLA DP4 allele: association with NY-ESO-1 antibody production *Proc Natl Acad Sci USA* 2001 27; 98: 3964-3969.
14. Jäger E, Jäger D, Karbach J. Identification of NY-ESO-1 epitopes presented by human histocompatibility antigen (HLA)-DRB4*0101-0103 and recognized by CD4(+) T lymphocytes of patients with NY-ESO-1-expressing melanoma. *J Exp Med* 2000; 191: 625-630.
15. Jäger E, Nagata Y, Gnjjatic S. Monitoring CD8 T cell responses to NY-ESO-1: correlation of humoral and cellular immune responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97: 4760-4765.