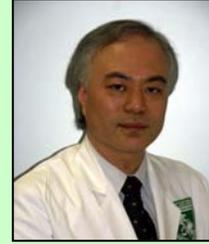


## 消化器癌に対する新しい免疫療法と診断法の開発

Development of new diagnostic and immunotherapeutic methods for patients with cancer



河上 裕 (Kawakami Yutaka)

慶應義塾大学・医学部・教授

### 研究の概要

各種分子生物学的・免疫学的手法を用いてヒト消化器癌抗原を単離して免疫応答を解析し、消化器癌の診断や治療に有用な分子を同定した。多様な癌細胞集団に対する免疫応答を明らかにし、癌細胞遺伝子異常に起因する免疫回避機構の解明により克服法を考案し、新規開発した免疫制御法とともに、今後の免疫療法改良のための基盤を築いた。

### 研究分野／科研費の分科・細目／キーワード

医学／外科・消化器外科／大腸癌、膵癌、腫瘍抗原、免疫療法・網羅的遺伝子解析、DNA クローニング、免疫回避、癌幹細胞、樹状細胞

#### 1. 研究開始当初の背景・動機

我々は、悪性黒色腫において、ヒト腫瘍抗原同定により科学的な免疫療法の開発を行い、最新の治療では進行癌患者の約半数で腫瘍縮小が得られるまでになった。そこで、悪性黒色腫での研究手法を活用して、消化器癌に対しても、腫瘍抗原の同定を中心に抗腫瘍免疫応答を解明することにより、新たな免疫療法や診断法の開発につながる基盤研究を行うことが必要と考えた。

#### 2. 研究の目的

ヒト消化器癌抗原を各種分子生物学的・免疫学的手法を駆使して単離同定し、多数症例での免疫応答解析や様々な癌細胞集団での抗原発現解析や免疫回避を含む癌細胞悪性形質にかかわる機能解析を行い、さらに新規免疫制御法の開発を行うことにより、消化器癌の診断法や治療法（免疫療法・分子標的）の開発につながる基盤を築く。

#### 3. 研究の方法

各種網羅的遺伝子解析技術や DNA クローニング法と、免疫応答解析により、臨床応用の可能性のある消化器癌抗原を同定する。癌幹細胞などの多様な癌細胞集団に対する免疫反応を解明し、癌細胞遺伝子異常に起因する免疫回避機構を新規開発ウイルス RNA 干渉法等を用いて解明する。臨床病理データと連結した臨床検体データベースを構築し、それを用いて同定腫瘍分子を用いた診断法の開発を検討する。さらに腫瘍抗原と新規開発免疫制御法を用いた新しい免疫療法や分子標的治療を検討する。

#### 4. 研究の主な成果

##### 1) 消化器癌抗原と T 細胞エピトープの同定と個別化免疫療法の可能性

各種網羅的遺伝子解析技術を用いて大腸癌や膵癌で選択的発現する分子を同定し、抗体や T 細胞を用いた免疫原性の確認、また、患者血清抗体を用いた DNA クローニング法 (SEREX) と、新規開発したヒト大腸癌組織移植免疫不全マウスの血清中ヒト抗体を用いた改良型 SEREX 法により、消化器癌抗原を多数同定し、ヒト消化器癌抗原カタログを作成した。新規 HLA-A24 結合ペプチド予測プログラムと HLA-A24 遺伝子導入マウスおよびヒト末梢血からの *in vitro* T 細胞誘導法を用いて T 細胞エピトープを同定した。免疫応答解析により、消化器癌でも変異固有抗原が存在し免疫療法の標的になり得ること、また、共通抗原でも発現量や免疫応答能に規定されて免疫原性は症例毎に異なることを明らかにし、個別化免疫療法の重要性を提示した。その一法として腫瘍抗原ペプチド感作樹状細胞の腫瘍内投与により、抗原スプレディングを介した強い免疫誘導・抗腫瘍効果が得られた。

##### 2) MSI 陽性癌に対する免疫応答解明と診断や免疫療法への応用の可能性

大腸癌、膵癌、胃癌などでみられる MSI (microsatellite instability) 陽性癌は DNA ミスマッチ修復酵素異常による発癌過程を経て、悪性像にもかかわらず腫瘍内 T

#### 〔4. 研究の主な成果（続き）〕

細胞浸潤を認め、治療後の予後が良好という臨床病理的特徴をもつ。本研究では大腸癌では MSI により生じたフレームシフト変異ペプチドに対する腫瘍特異的免疫反応が起こることを証明し、良好な予後の理由である可能性を示し、MSI 陽性癌に対する免疫療法の有用性を示した。MSI 陽性癌では癌精巢抗原 CAGE に対する免疫応答が起こりやすく診断や免疫療法の標的になり得る。

#### 3) 免疫回避機構の解明と克服法の開発

癌遺伝子異常に対して突然変異特異的 RNA 干渉を可能にするウイルス shRNA を開発し、癌細胞の分子標的探索や悪性形質の機序解明を行った。MSI 陽性大腸癌で高頻度に認められる BRAF 変異や大腸癌や膵癌で高頻度に見られる RAS 変異による MAPK シグナル亢進が癌細胞の増殖浸潤だけでなく、複数の免疫抑制性可溶性分子の産生に関与することを明らかにし、多様な免疫回避機構を同時遮断可能なシグナル阻害薬を併用した免疫療法の可能性を示した。

#### 4) 多様な癌細胞集団の免疫学的意義

異なる癌細胞集団、特に癌幹細胞と上皮間葉転換 (EMT) に対する免疫学的意義を検討した。膵癌細胞株から side population 法により幹細胞様性質をもつクローンの分離に成功し、癌精巢抗原の発現が異なることを明らかにした。膵癌や大腸癌では EMT により癌細胞の組織離脱や運動能亢進による浸潤に加えて、免疫制御を介した転移促進がおこる可能性を示した。

#### 5) 同定抗原の診断や治療への臨床応用

臨床検体と臨床病理データと連結したデータベースを構築し、腫瘍抗原や抗体の診断への応用の可能性を検討した。血清特異抗体は、治療後予後が良い症例では消失する場合が見られ予後診断に、また抗 p53 抗体は潰瘍性大腸炎長期観察例での大腸癌発生の早期診断に利用できる可能性を示した。また、遠隔転移やリンパ節転移と相関し、癌細胞の悪性度診断に利用できる可能性のある分子や、比較的初期の大腸癌で発現が認められ、血清腫瘍マーカーとなり得る分子を同定した。治療への応用に関しては、上記の腫瘍抗原や免疫制御法を用いて、今後、免疫療法の臨床試験で効果を検討することが期待される。膜型 KU-CR4 は抗体療法の標的として有望であり、治療用抗体の作製による臨床試験が期待できる。

#### 4. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

消化器癌の腫瘍免疫学は世界的にも十分に展開されておらず、むしろ日本から癌抗原を中心に研究が発信されていた。本研究では、消化器癌抗原の同定だけでなく、多様な癌細胞集団の免疫学的意味の解明、癌遺伝子異常に起因する免疫回避機構の解明など、癌生物学への貢献だけでなく、新規免疫制御法の開発による新しい免疫療法や分子標的治療あるいは診断法の開発につながる基盤を提示することができ、世界的にインパクトのある成果が得られた。

#### 6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Yoshizawa S, Matsuoka K, Inoue N, Takaishi H, Ogata H, Iwao Y, Mukai M, Fujita T, **Kawakami Y**, Hibi T. Clinical significance of serum p53 antibodies in patients with ulcerative colitis and its carcinogenesis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007
2. Okada T, Akada M, Fujita T, Iwata T, Goto Y, Kido K, Okada T, Matsuzaki Y, Kobayashi K, Matsuno S, Sunamura M, **Kawakami Y**. A novel cancer testis antigen frequently expressed in pancreatic, lung and endometrial cancers. *Clin Cancer Res*. 12:191-197. 2006.
3. Sumimoto H, Imabayashi F, Iwata T, **Kawakami Y**. The BRAF-MAPK signaling pathway is essential for cancer immune evasion in human melanoma cells. *J Exp Med*. 203:1651-1656. 2006.
4. Iwata T, Fujita T, Hirao N, Matsuzaki Y, Okada T, Mochimaru H, Susumu N, Matsumoto E, Sugano K, Yamashita N, Nozawa S, and **Kawakami Y**. Frequent immune responses to a cancer/testis antigen, CAGE, in patients with microsatellite instability positive endometrial cancer. *Clin Cancer Res*. 11:3949-3957. 2005.
5. Okada T, Noji S, Goto Y, Iwata T, Fujita T, Okada T, Matsuzaki Y, Kuwana M, Hirakata M, Horii A, Matsuno S, Sunamura M and **Kawakami Y**. Immune responses to DNA mismatch repair enzymes hMSH2 and hPMS1 in patients with pancreatic cancer, dermatomyositis and polymyositis. *Int J Cancer*, 116:925-933. 2005
6. Ishikawa T, Fujita T, Suzuki Y, Okabe S, Yuasa Y, Iwai T and **Kawakami Y**. Tumor-specific Immunological Recognition of Frameshift-mutated Peptides in Colon Cancer with Microsatellite Instability. *Cancer Res*. 63:5564-5572. 2003.

ホームページ等

<http://web.sc.itc.keio.ac.jp/admedres/index-jp.htm>