

## Innate immunityと癌制御

旭川医大第三内科 高後 裕

癌治療のなかで免疫療法ほど、その出現が待望され、その臨床の現場での実現が先送りになっているものはないと思う。基本的には、癌の免疫療法の特異性が重要視され、individual specificityを高める努力がなされるようになった。現在では特異抗原を対象としたpeptide免疫、樹枝状細胞による抗原提示能の増強、各種サイトカイン遺伝子を用いた遺伝子治療の試みなどが行われ、夢の実現がもう一度期待されている。

\*

小生も、医学部を卒業して間もない免疫療法の揺籃期に、札幌医大癌研内科でその分野に入り、比較的単純なスキームの上で、免疫療法の臨床応用にのめりこんだ時期があった。すなわち、免疫増強物質の時代であり、つぎにLAK細胞を用いた養子免疫療法の時代である。すなわち、非特異的免疫の活性化が癌の制御をもたらすとの方である。結果的には、他の治療を凌駕する成績は得られず、多くの臨床家はその分野から撤退し、免疫療法への熱い思いがしぼんでいく過程でもあり、ヒト腫瘍に対する免疫応答の存在の発動が思ったより難しく、特異性を求めて、今一度実験台へ戻ることの重要性が知らされた時期と一致している。同時に、その時期に経験させていただいた免疫療法の臨床試験で著効例を実感したことは、将来の復活を予期させるものではあったが、時期的には置かれた環境下では方法論、資金などの面で困難な状況と判断、一時撤退し、研究グループは、より臨床的に即効性のある造血幹細胞移植を併用し



San Diegoで教室員との休日  
真ん中が筆者、左が大竹先生（現カリフォルニア大学研究員）、  
右が藤本先生（PR-39研究チーフ）

た超大量化学療法や遺伝子治療の実験的研究へと目標をシフトさせた。癌の免疫療法に従事した初めの10年は、小生にとっては、基礎実験と臨床研究の関連を考える上で、いくつかの経験とノウハウを与えてくれた貴重な時期でもあった。

\*

平成6年に旭川医大第三内科に赴任し、再度、宿主由来の物質を用いた癌の免疫による治療の展開にかかわる気持ちを固めた。そのきっかけとなったのは、「内因性抗菌ペプチドファミリー」との出会いである。内因性抗菌ペプチドは、その名が示す通り、動植物自体が、外界の細菌、真菌、ウイルスなどの攻撃に対してもつ最初のバリアーを

つかさどる物質である。

たとえばわれわれ動物をとってみても皮膚、口腔から肛門までの消化管、気管から肺など多くの直接外界と接するバリアーがあり、そこでは、絶えず、創傷の形成と治癒、治癒過程における細胞分裂の亢進にともなう発癌リスクの高まりなどの現象が存在する。考えてみると、抗体や特異的T細胞反応は、抗原を認識、処理された後初めて機能を始める機構であり、2次反応でも clonal expansionの時間が必要で、即時性という意味では、間に合わない。そこで、瞬時に外来因子に対する防御機構が必要で、従来から好中球、マクロファージ、NK細胞などの細胞成分や、TNFなどの炎症性サイトカイン、脂肪酸、NO、ラクトフェリンなど種々の細胞、物質があげられている。これらの物質、細胞は Innate immunityを構成し直接生体防御にかかわるとともに、その後発動される acquired immunityへの橋渡し役も行っていることは、知られている。癌免疫治療で非特異的免疫療法として位置づけられたものは、まさしくこの範疇に入る研究や試みだったといえる。

内因性抗菌ペプチドといわれる一群のファミリーは、この Innate immunityの一員であり、昆虫、魚類、両生類、哺乳類などの動物や植物など広く生物界全体に認められ、その数は数千を超すとされている。昆虫での cecropin、両生類ではアフリカツメガエルの magainin、魚類ではヒラメの表皮粘液中の物質など多くのペプチドが精製されている。哺乳類では、defensin, bacterecin 5, bacterecin 7, FALL-39, PR-39などがある。古来から「ガマの油」としていられていたものの本態は magaininであったし、「サメ肝臓の油（子どものころ小学校で食べさせられた肝油）」は squaraminであり、先人の指摘は嘘ではなく、実際に作用物質が抽出精製されたわけである。ほとんどの物質は、抗菌作用を指標として精製され、細菌の細胞膜に孔をあけて殺菌作用を示す。例外がPR-39で、細菌のDNA複製を阻害するとされ

ている。

\*

教室の小野は、ハーバード大学のBernfield教授のもとで研究をする機会があり、創傷治癒を促進する物質を、ブタの創傷部浸出液から、ヘパラン硫酸プロテオグリカンであるシンデカンを誘導する物質の抽出を試み、共同研究者のGallo博士（現在カリフォルニア大学）と一緒に、新規ペプチドを見出した（Gallo R, Ono M, et al. Proc Natl Acad Sci, 91, 11035-11039, 1994）。ところが、その物質は、すでにスウェーデンのカロリンスカ研究所のグループが、抗菌活性を指標として小腸粘膜から見出していたPR-39と呼ばれるものと同一であった。

PR-39はその名の由来が示す通り、プロリンに富む39個のアミノ酸からなる塩基性ペプチドであり、ブタ好中球の $\alpha$ 顆粒中に存在する。われわれは、このPR-39がシンデカンを誘導する事実に注目し、肝癌細胞にPR-39遺伝子を導入し、シンデカンの発現低下による肝癌細胞（Matsumoto A et al. Int J Cancer, 74, 482-491, 1997）の浸潤転移能亢進の制御を試みる実験を行った。その際、PR-39が単にシンデカンを誘導するのみならず、肝癌細胞の形態、アクチンフィラメント構造、細胞運動能を変化させる現象を見出した（Ohtake T et al. Brit J Cancer, 81, 393-403, 1999）。この結果は、PR-39がヒト癌細胞において、単にシンデカンを誘導するのみならず、細胞内で何らかのシグナル伝達系に関与していることを示唆している。

PR-39分子の構造をみると、いわゆるSH-3ドメインに結合する能力を有すると考えられる配列を5個も有していることがわかる。このことは、PR-39がSH-3ドメインを有する細胞内たんぱく質と結合して何らかのシグナル伝達に介入する能力をもっていることを示唆している。実際、好中球においては、NADPHoxidaseのp47<sup>phox</sup>サブユニットのSH-3ドメインと結合、oxidase活性を抑制し、NIH3T3線維芽細胞ではp130<sup>Cas</sup>と結合す

ることが報告されている。

われわれは、K-rasでtransformしたNIH3T3線維芽細胞に、さらにPR-39遺伝子を導入することにより、活性化されたrasの下流でどのようなシグナル伝達の修飾が起こるか検討している。その結果、PR-39遺伝子が導入されることにより、K-ras transformantは形態およびアクチンフィラメントの配列構造ともに親株のそれに類似した形に戻ることが明らかになった。また、ヌードマウスの皮下に同腫瘍を移植したところ、腫瘍の増殖速度は著明に抑制された。このように、PR-39は、腫瘍細胞の増殖を抑制するとともに、その形態を正常に復帰させる機能をもつユニークなペプチドである。

\*

最近のわれわれの研究では、このPR-39はMAPKの活性抑制、cyclin D1の発現抑制をきたし、細胞増殖を抑えると同時に、PI3 kinase p85 $\alpha$ と結合して、その下流で形態変化を修飾させることも明らかになってきている (submitted)。すなわち、従来内因性抗菌物質として考えられていたPR-39が、シグナル伝達を標的とした抗腫瘍、抗転移浸潤物質としての作用を有することが示された。この研究のうち、創傷治癒におけるシグナル伝達 (p130<sup>Cas</sup>) はカリフォルニア大学San Diego校のGallo教授が、腫瘍制御におけるそれ (PI3 kinase p85 $\alpha$ ) はわれわれがと、二者で分担し、現在文部省国際学術交流の研究費で、旭川とSan Diego間で人的交流をしながら行っているところである。San Diegoでの教室員との休日の写真が手元にあったので、恥をしのいで、近況としてお見せすることにする (写真)。

\*

話をもとに戻すと、内因性抗菌物質は、本来の抗菌作用の他に、創傷治癒促進作用、抗腫瘍作用があることになる。内因性抗菌ペプチドで、ヒトの疾患、生体防御と密接に関連し、注目される物質としては、defensinとNRMAPがある。Defensin

には $\alpha$ と $\beta$ の2種類があり、前者は好中球にあり、後者は口腔、皮膚、気管、消化管粘膜上皮細胞に存在、分泌される。

遺伝性疾患で有名なCystic fibrosisにおける呼吸器感染症の反復罹患はdefensin活性の低下によるもので、実際にInnate immunityの破綻がヒトに重篤な疾患を引き起こす例として注目される。消化管では、小腸Paneth細胞顆粒中にdefensinが多量に存在し、小腸での感染防御に役立っていると考えられる。さらに、マクロファージにあるNRAMP (natural resistance associated macrophage protein) の遺伝子多型とCrohn病の発症に関連があるとする報告もみられ、Innate immunityが注目されている。

\*

Innate immunityや内因性抗菌ペプチドについての研究は欧米で盛んになってきており、最近でもScienceに特集が出たりしているので、読まれた方もおられると思う。癌の病態治療の面から興味があることは、defensin, magainin, PR-39などいずれの物質も何らかの抗腫瘍活性をもつことである。その作用機序として、adaptiveな抗腫瘍免疫を活性化するための橋渡しをするとともに、直接腫瘍細胞のシグナル伝達に働いて、さまざまな作用を起こす可能性がある。これらの物質を直接利用する方法を考える他に、その作用機序を現在のproteomics, genomicsの立場でアプローチしていくと、新たな抗癌効果のターゲットが標的として得られるのではないかなどと考えて研究を行っている次第である。