

## ラクトフェリンによる肺がんの治療（その2）

…………ラクトフェリンは樹状細胞の活性化因子…………

腸溶性ラクトフェリン研究会

常任理事 安藤邦雄

### 前号のあらまし

ラクトフェリン研究は日米加英独仏の諸国に加え、スウェーデン、イタリア、ロシア、中国、インド等の“ラクトフェリン研究後進国”が参加し、研究開発が著しく活況を呈するようになってきている。その特徴は癌を始めとする難病治療を目的とする実用的な研究である。もう一つの特徴はラクトフェリンと言えば食品を連想させるためだろうか、年間研究費が数千億円の多国籍製薬企業が1社も研究開発レースに参加していないことである。メガファーマとは無縁のロシアでは母乳から抽出したヒト・ラクトフェリンを末期癌患者あるいは敗血症患者に注射、重症の気管支喘息患者に粉末を吸入させ治療効果を調べている<sup>(1)</sup>。大量の母乳を集めラクトフェリンを抽出して難病患者に投与することは、我が国では思いも及ばぬ難事業である。幸いなことに彼らの臨床試験は順調と報告されている。ロシアの研究者達は臨床試験の成績が良好だった場合、トランスジェニック動物の乳にヒト型ラクトフェリンを分泌させて実用化しようとしているのである。ラクトフェリン研究のなかでもっとも注目されるのが米国テキサス州ヒューストンのアジェニクス社が医薬品として開発している遺伝子組換えヒトがタラクトフェリンについて前号に引き続き紹介する<sup>(2a-c)</sup>。

### 遺伝子組換えヒト型ラクトフェリン (Talactoferrin: TLF) の製造

2008年1月米国テキサス州ヒューストンのバイオベンチャー企業アジェニクスは、FDA

承認のもと遺伝子組換えヒトラクトフェリン (Talactoferrin: TLF)の第三相臨床試験を開始すると発表した。対象疾患は切除不能の非小細胞肺癌である。図1に示すようにTLFはヒト・ラクトフェリン遺伝子を組み換えた黒かび(アワモリ菌)を培養して生産される。この方法は動物の蛋白質を迅速かつ低コストで生産する方法の一つで、数日培養すると1リットルあたり牛乳の25倍量のラク

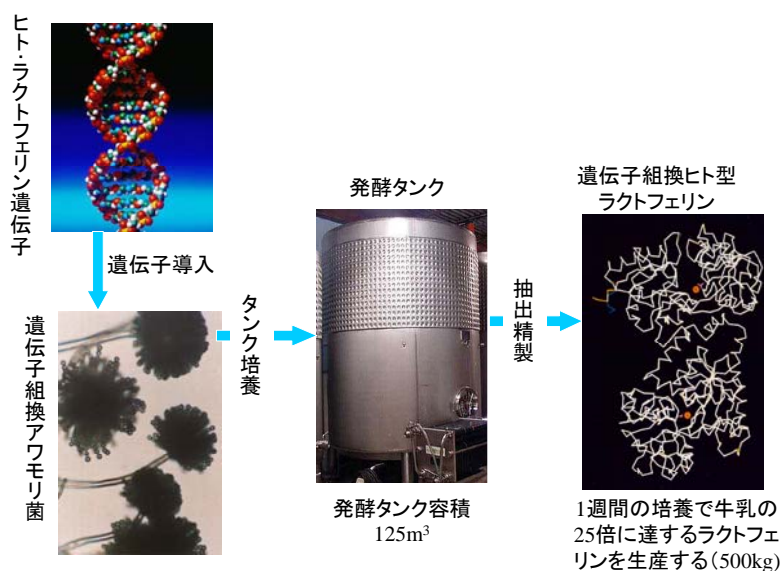


図1. 遺伝子組換えヒトラクトフェリン(Talactoferrin: TLF)の製法

トフェリンを生産することができる。同社のホームページは、既存の抗がん剤との薬価比較をこころみているので表1に紹介する。4週間分のTLF製造のコストは\$200、利益と流通コストを加えても、リツキシマブの末端薬価\$9,400(約100万円)、トラスツズマブ\$3,700(約40万円)、タキソール\$2,200(約24万円)と比較して廉価になるだろうと主張している。製造コストが廉価であっても末端では4週間分の薬価が10万円~20万円と予想され、TLFの性質からみて生涯服用しなければならないので年間120万円~240万円の負担は決して安いとはいえない。

表1. 米国における抗癌剤の価格比較

抗癌剤一般名	商品名	末端薬価 <sup>1)</sup>	備考
リツキシマブ	リツキサン	9,400	抗体医薬、末端価格
トラスツズマブ	ハーセプチン	3,700	抗体医薬、同上
タキソール	パクリタキセル	2,200	植物成分、同上
タラクトフェリン	----	(200)	遺伝子組換、製造原価

<sup>1)</sup> 単位:米ドル、1週間分の薬価。

アジェニクス社は既に非小細胞肺癌末期の IIIb/IV 相患者を対象に二つの第二相二重盲検試験を行い、①白金錯体/タキサン系抗癌剤 (C/P) 治療と TLF を併用すると患者 (III b/IV 期)における有効率を高め抗癌剤の副作用を軽減させること、②抗癌剤を使わず TLF だけでも末期の非小細胞肺癌患者 (III b/IV 期) を有意に延命させることを証明した。III期の非小細胞肺癌は「がんが肺のそばの胸壁や横隔膜に広がっている」「がんが左右の肺を隔てている領域のリンパ節に広がっている」「反対側の肺あるいは首のリンパ節に広がっている」、IV期は「がんが体のほかの部分に転移している」等の基準に合致する手術が不能な患者である。FDA が TLF の臨床第三相試験を承認したことは、アジェニクス社が実施した二つの二重盲検試験の成果が画期的であったことを物語っている。

## ラクトフェリンのターゲットは樹状細胞

当研究会は腸溶性のウシ・ラクトフェリン(bLF) 製剤が末期の肺癌、肝臓癌、子宮頸癌、舌癌等に対し奇跡としか言いようがない改善効果を示すことを数年前から気付いていた。bLF は細胞毒性を示さないで、その抗癌作用は明らかに免疫賦活効果に由来する。一方、bLF は本誌にも度々紹介したように、花粉症、気管支喘息などのアレルギー及びシェーグレン症候群、関節リウマチなどの免疫異常に改善効果を示す。樹状細胞<sup>(3)</sup>は免疫に対し「抗原認識の強化」と「免疫的寛容の導入」の相反する二元的な影響を及ぼすと云われているので、bLF は樹状細胞の活性化因子である可能性が強いと考えていた。残念なことに当研究会の観察は少数例で体験談の域を出なかった。

アジェニクス社は、組織的かつ大規模な二重盲検でヒト・ラクトフェリン TLF の非小細胞肺癌に対する有用性を証明した初めての企業である。筆者が予想したとおり、作用機作は小腸パイエル板をへて体内に取り込まれたラクトフェリンが腸管関連リンパ組織 (GALT) において未熟な樹状細胞を成熟/活性化させ、成熟/活性化した樹状細胞は癌近傍のリンパ節においてリンパ球に抗原提示するためと説明されている。すなわち、癌の免疫的な治療は、血中及びリンパ系を絶えず移動している未熟な樹状細胞の成熟/活性化が鍵を握っていることがわかってきた。

樹状細胞は樹状突起を有する系統マーカー陰性 MHC class II 陽性の免疫細胞であり、分化系列や成熟段階の異なる多様なサブセットとして、末梢非リンパ組織やリンパ組織に広く存在する。生体において、病原性微生物や癌などの'非自己'を認識した未熟樹状細胞は、炎症環境にて成熟樹状細胞となることがわかっていた。しかし、in vivo で炎症環境にしなくても成熟/活性化させる方法は不明であった。本章で紹介するパイエル板経由で腸管リン

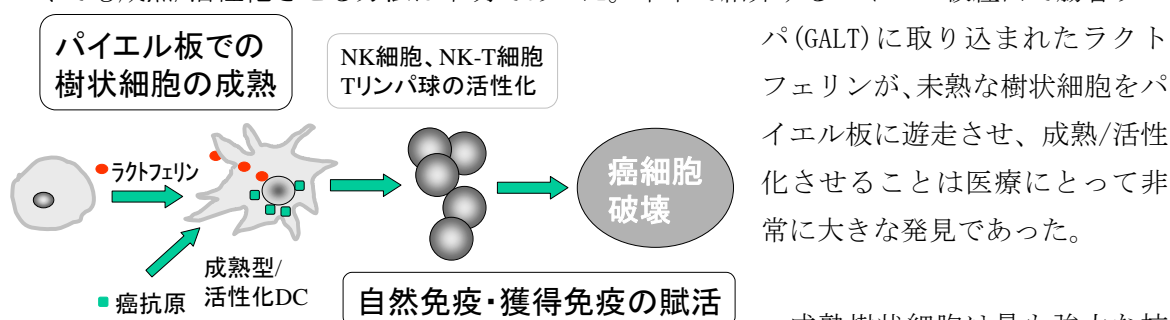


図2. ラクトフェリンによる樹状細胞の成熟化と癌細胞の破壊

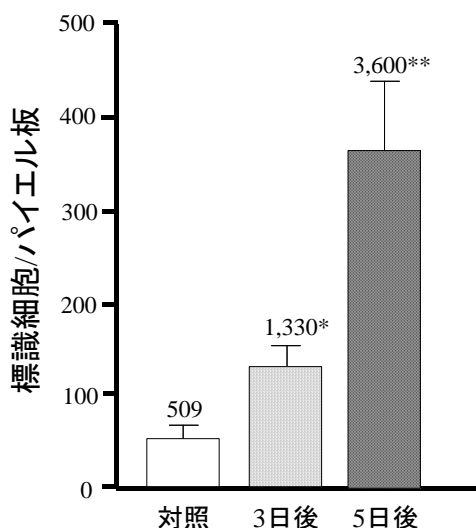
パ(GALT)に取り込まれたラクトフェリンが、未熟な樹状細胞をパイエル板に遊走させ、成熟/活性化させることは医療にとって非常に大きな発見であった。

成熟樹状細胞は最も強力な抗原提示細胞として獲得免疫応答を誘導するとともに様々なサイトカイン産生を通じて自然免疫

応答を活性化し、免疫的な異物の排除を適切に行う<sup>(4)</sup>。一方、定常状態では、未熟樹状細胞は'自己'に対する免疫寛容を誘導する免疫寛容誘導性抗原提示細胞として、免疫学的恒常性の維持にも関与している。つまり、アレルギー、抗原病等の免疫異常を正常化する二面性を持っているのである。従って、このような細胞系統多様性や機能可塑性を示す樹状細胞は、本質的な免疫応答の司令塔と呼んでも差し支えない。

## 未熟な樹状細胞はラクトフェリンをとり込んだパイエル板に集まる

前章において未熟な樹状細胞を活性化/成熟させるのは炎症環境が必要であると述べた。ラクトフェリンをマウスに経口投与すると腸管壁に多量の IL-18 が産生されることがわかっている<sup>(5)</sup>。IL-18 は構造的に IL-1 $\beta$  に類似した炎症性サイトカインなので、ラクトフェリンをとり込んだパイエル板と近傍の腸管関連リンパ組織 (GALT) には炎症環境が誘導され



マウス骨髄細胞を IL-4 と GM-CSF 存在下に 6 日間培養して未成熟樹状細胞を誘導した。次に蛍光色素 PKH2 (Green; SIGMA) で染色し、PKH2 染色した  $10^6$  個の CD11c<sup>+</sup> 細胞をマウス (n=6) に注入した。TLF (3 g/m<sup>2</sup>) を強制樹状細胞注入の日から 3 日間、あるいは 2 日前から 5 日間経口投与し、2 日後にパイエル板をマウスあたり 5 個集め、その樹状細胞数を FACS で調べた。Mean + SEM. \* P < 0.05 and \*\* P < 0.01 vs. Untreated group (2-tailed t test)

図 3. ラクトフェリンは樹状細胞をパイエル板に遊走させる

ている可能性がある。生体内で好中球顆粒からラクトフェリンが放出する場面を考えてみよう。病原菌あるいは病原性ウイルスが感染した病巣では、急速に好中球が遊走し脱顆粒してラクトフェリンを周囲の微小環境に放出する。それにより IL-18 産生が誘導されて未熟な樹状細胞の成熟/活性化が起こる可能性が大きい。それにも増して興味深いのは、ラクトフェリンを経口投与すると図 3 に示すようにパイエル板に未熟な樹状細胞が集まってくることである。パイエル板に集まる樹状細胞の数は日増しに増加し、2 日間 TLF を事前+3 日間事後と 5 回投与すると、パイエル板に集まる樹状細胞は 7 倍に達し未熟な樹状細胞の成熟/活性化が急速におこるのだろう。ラクトフェリンは樹状細胞を引き寄せる走化性と考えられる。

## ラクトフェリンは癌ワクチンの効果をたかめる

アジェニクス社は TLF が癌ワクチンの効力を高める資料を公開している(図 4)。乳腺で発癌するラット癌遺伝子(Her-2neu)を染色体に組みこんだ BALB/c 系トランスジェニック・マウスは、生後 21 週でほぼ 100%が乳癌を発症する(黒実線)。TLF を生後 6 週から毎週 5 回 3 g/m<sup>2</sup>を強制経口投与しても 28 週で 100%発癌する(赤線)。ところが生後 14 週と 16 週に癌抗原(ラット DNA を含む)をリポソームに封入して注射すると、青線で示すように生後 35 週を過ぎても半数以上のマウスが発癌しない(青線)。黒い点線で示すように空のリポソーム

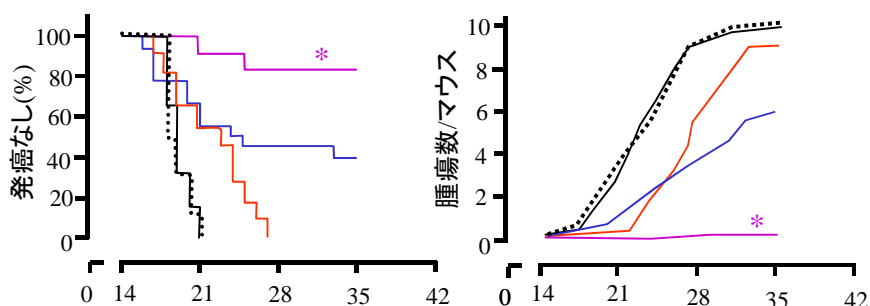


図 4. ラクトフェリンは癌ワクチンの効果をたかめるアジュバント  
乳腺で発癌するラットの Her-2neu 発癌遺伝子(p185)を持つ BALB/c 系トランス  
ジェニック・マウスに p185 の遺伝子ワクチンを 14 週と 16 週に注射した。TLF  
は生後 6 週から始めて毎週 5 日、7 週にわたって強制経口投与した。  
\*ワクチン単独と比べ P<0.00001 黒線：対照。黒点線：空ベクター。赤線：TLF。青線：  
リポソーム化ワクチン  
紫線：TLM+ワクチン

には発癌を予防する作用はまったく認められない。さらに癌ワクチン投与マウス(紫線)は TLF を生後 6 週から 12 週まで毎週 5 回経口投与すると、生後 35 週を過ぎても 80%以上の個体が発癌しない。対照群、空リポソーム群に属するマウス 1 頭あたりの癌

の数は 10 個、TLF 群でも 30 週を過ぎると 9 個に達する。癌ワクチン群のそれは有意に少なく 35 週で約 6 個である。さらに、TLF 投与癌ワクチン群は対照の癌ワクチン群より有意に少なく個体あたり平均で 1 個以下であった(紫線)。つまり、経口投与したラクトフェリンは免疫系の抗原認識を高めるアジュバントなのである。

## ラクトフェリンとベバシズマブ

代表的な抗体医薬で分子標的治療薬と言われるベバシズマブ<sup>⑥</sup>は商品名をアバスタチンと云い、血管新生因子 VEGF(vascular endothelial growth factor)のはたらきを阻害する血管新生阻害剤である。癌を養う血管新生を阻害し兵糧攻めにしようという発想に基づく薬である。米国では最初に末期の大腸癌・結腸癌に抗癌剤と併用する条件で承認され、引き続き扁平上皮癌を除く切除不能な非小細胞肺癌の末期 IIIb~IV期を治療する白金錯体/タキソールの併用療法に付加する条件で承認された。再発または進行非小細胞肺癌 878 例を対象とした第 III 相臨床試験において、化学療法（白金錯体/タキソールの併用療法）にベバシズマブを追加した群（434 例）は生存期間中央値 12.3 ヶ月、無増悪生存期間中央値 6.2 ヶ月、奏効率 35%であり、化学療法単独群（444 例）の生存期間中央値 10.3 ヶ月、無増悪生存期間中央値 4.5 ヶ月、奏効率 15%を有意に上回った。ただし、ベバシズマブ併用群では 5 例の咯血死を含む 15 例の治療関連死がみられ、使用に当たっては副作用発現に十分な注意が必要である。添付文書では、重大な副作用として、(1) ショック、アナフィラキシー様症状、(2) 消化管穿孔、(3) 創傷治癒遅延、(4) 出血、(5) 血栓塞栓症、(6) 高血圧性脳症、

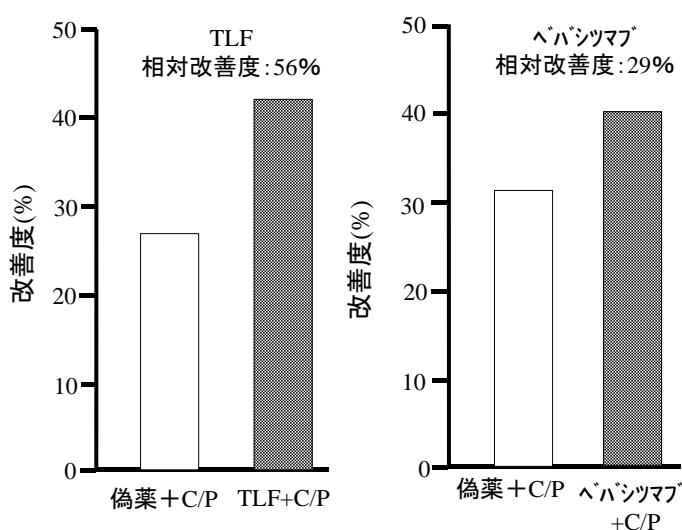


図 5. TLF とベバシズマブの薬効比較

C/P: 白金錯体とタキソールの併用に付加するかたちで二重盲検臨床試験が実施された。症例数は TLF が対照群 (n=55)、TLF 群が(n=56)。ベバシズマブが対照群 (n=32)、ベバシズマブ群が(n=36)。

56%であったのに対し、ベバシズマブ群の相対改善度は 29%であった。相対改善度の比較では TLF がベバシズマブより優れているようだが有意差はなく両者はほぼ同等である。鳴り物入りで宣伝された「癌の血管新生阻害剤」ベバシズマブの実力が意外に低いので落胆させられる。

両者の決定的な差は副作用である。bLF は使用に当たり如何なる制約もない食品であり、

高血圧性クリーゼ、(7) 可逆性後白質脳症症候群、(8) ネフローゼ症候群、(9) 好中球減少症、(10) うっ血性心不全——が記載されている。

TLF もベバシズマブと同じ適応症なので二重盲検試験における改善度を比較したのが表 5 である。いずれも対照疾患は切除不能な末期の非小細胞肺癌(IIIb~IV期)で抗癌剤(白金錯体/タキソール)との併用である。TLF は対照群の改善度が 29%、ベバシズマブ対照群が 31%であるから両群の患者のあいだで抗癌剤の効果に質的な差異はなかった。一方、TLF 群の改善度は 42%で対照群と比べた相対改善度は

育児用調製粉乳の添加物、健康食品として販売されているが多量に摂取しても無害である。点滴静注が用法のベバシツマブはモノクローナル抗体であるためだろうか用量依存性に副作用が起こることがわかっている(図 6)。

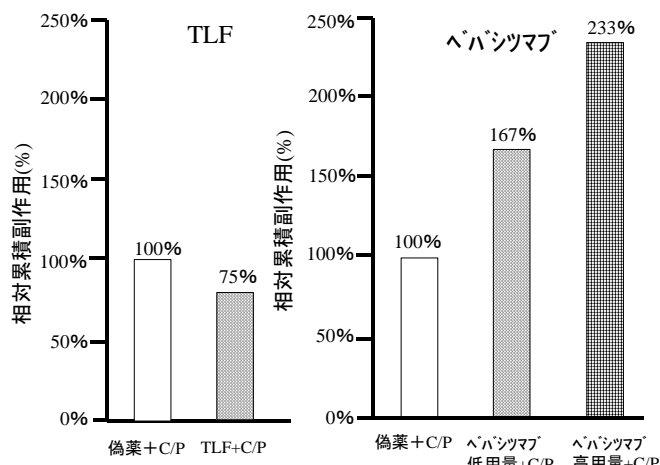


図 6. C/P に併用した TLF 群とベバシツマブ群の副作用発現

それぞれの偽薬と C/P を投与した対照群の副作用発現を 100%として C/P に実薬を併用した群の副作用発現をパーセントで図示した。

TLF は C/P に併用すると図 6 右に示すように副作用の頻度を有意に減少させた。さらに、末期の非小細胞肺癌患者で TLF を単独投与する二重盲検試験を行ったところ、この試験で食思不振を訴えた 4 症例はすべて偽薬群の患者で TLF 群には副作用がなかった。言い換えると、TLF は副作用が皆無であることに加え、毒性が強い抗癌剤と併用すると毒性を有意に軽減する作用がある。抗癌剤の副作用は多彩であるが、大部分は抗癌剤が発生させる活性酸素による酸化ストレスが原因である。前々号で述べたようにラクト

フェリンはミトコンドリアにおけるヒドロキシルラジカル発生を抑制し酸化ストレスを軽減する作用がある。TLF もラクトフェリンの一種であるから、図 6 で見られる副作用の軽減はヒドロキシルラジカル発生を抑制したためであろう。

ベバシツマブは TLF と対照的に C/P と併用すると用量依存性に副作用が増加する。本剤はモノクローナル抗体であるから酸化ストレスの軽減は期待できない。逆に癌以外の部分における血管新生の阻害が副作用として発現している可能性が大きく、消化管出血、喀血などの出血が起こること、創傷治癒が遅延することから血管新生阻害により全身的に血管が脆弱化している可能性がある。

TLF とベバシツマブの有用性を比較すると、抗癌剤と併用したときにおける改善度の向上はほぼ同等、副作用は明らかに TLF が優っている。しかも、TLF は経口剤であるから用法が点滴であるベバシツマブより利便性がある。総合的には TLF がベバシツマブより優れているとするのが妥当な結論であろう。

## 治療薬としてのラクトフェリン

アジェニクス社は TLF の適用拡大をはかっており、目下の焦点は腎細胞癌、乳癌、卵巣癌及び悪性黒色腫治療薬への拡大と TLF ゲル軟膏を糖尿病性の足壊疽治療に拡大することである。いずれも難病だが、これまでの成績は良好と報告されている。なかでもステージが進んだ腎細胞癌に対する TLF の効果が他の分子標的抗癌剤と対比して公表されているので紹介する(図 7)。スローン・ケタリング癌研究所が種々の抗癌剤で治療した末期腎細胞癌患者において病勢の進行が停止した中央値 (2.5~2.8 ヶ月) を対照とすると、ベバシツマブ低用量で 3.0 ヶ月、高用量で 4.8 ヶ月、特効薬と言われるソラフェニブで 5.5 ヶ月であったのに対し、TLF は 7.3 ヶ月であった。腎細胞癌は抗原性が高い癌腫と言われているので特に免疫的な機作で癌を抑制する TLF が有効なのかもしれない。難病中の難病である糖尿病性の足壊疽を治療する TLF の有用性は注目に値する(7)。

TLF 最大の意義は“ラクトフェリンを経口的に与えると、パイエル板経由でとり込まれ未熟な樹状細胞を成熟/活性化し、癌に対抗する自然免疫と獲得免疫を動員すること。その

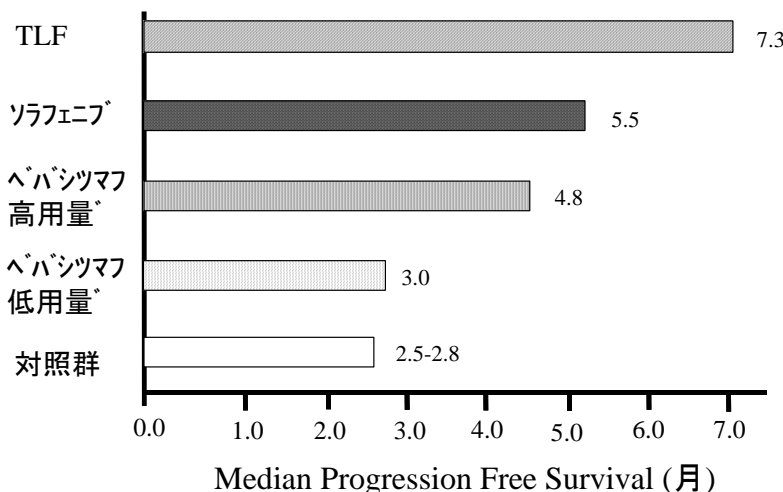


図 7. III-IV 期の腎細胞癌患者における治療後の癌進行停止期間

対照群はスローン・ケタリング癌研究所における症例から割り出した中央値、ソラニフェブは切除不能または転移性腎細胞癌の治療薬、我が国では 2008 年 1 月 25 日に承認された。

薬効は分子標的薬に匹敵/凌駕する”ことを証明したことだ。1937 年に発見された古い蛋白質ラクトフェリンが、このような作用を持っていたことを知って驚かれる方もあるだろう。しかし、乳汁に含まれるラクトフェリンは哺乳類の新生仔を種々な異常から護ってきた。ラクトフェリンは単に免疫を賦活するだけでなく、脳神経系と内分泌系にも改善作用を及ぼしていることは確かである。ラクトフェリンのような万能の防御因子が乳汁に含

まれていたからこそ、哺乳類は環境の激変による絶滅を免れたのだろう。ラクトフェリンは乳蛋白質でありヒト新生児は一日当たり 5-7 g も摂取する。つまり超大量に摂取しても安全性に問題はない。これからは癌治療ばかりでなく「感染症」「アレルギー」「膠原病」「脳・神経障害」「放射線障害」「メタボリック症候群を始めとする生活習慣病」「骨粗鬆症」等の治療に広く用いられ、老化を予防する「アンチエイジング」にも活用されてゆくだろう。



## 引用文献

- (1) 第8回国際ラクトフェリンシンポジウム要旨集より
- (2a) <http://www.agennix.com/contentpages/presentations.htm>
- (2b) McBride D. Talactoferrin alpha receives fast-track designation for the treatment of non-small cell lung cancer. ONS Connect. 2007 Jan;22(1):14.
- (2c) Varadhachary A, Wolf JS, Petrak K, O'Malley BW Jr, Spadaro M, Curcio C, Forni G, Pericle F. Int J Cancer. 2004; 111: 398-403.
- (3) Steinman RM, Cohn Z. J Exp Medicine, 1973; 137: 1142–1162.
- (4) Smyth MJ, Wallace ME, Nutt SL, Yagita H, Godfrey DI, Hayakawa Y. J Exp Med. 2005; 201:1973–85.
- (5) Wang WP, Iigo M, Sato J, Sekine K, Adachi I, Tsuda H. Jpn J Cancer Res. 2000 ; 91:1022-7.
- (6) Sandler A, Gray R, Perry MC, et al. New Eng J Medicine, 2006; **355**: 2542-2550.
- (7) Lyons TE, Miller MS, Serena T, Sheehan P, Lavery L, Kirsner RS, Armstrong DG, Reese A, Yankee EW, Veves A. Am J Surg. 2007; 193: 49-54.