

令和 3 年 10 月 22 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K09659

研究課題名(和文) Notch ligand Dll4によるTh1誘導性DCを応用した癌ワクチン療法

研究課題名(英文) Cancer vaccine with Th1 inducing DC through Notch ligand Dll4

研究代表者

望月 一弘 (Mochizuki, Kazuhiro)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：30448633

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究にて我々は、担癌宿主の樹状細胞を用いて宿主抗原に反応性に活性化した同種CD4陽性T細胞を腫瘍内投与することにより、同種免疫反応による強力なTh1炎症を起点として、宿主の細胞傷害性T細胞が誘導され、腫瘍が退縮して宿主が長期生存することを見出した。本療法に伴う有害反応は認めず、誘導された細胞傷害性T細胞は長期的な再発抑制効果や直接治療していない遠隔病変に対する抗腫瘍効果も示した。本療法はがんを制圧しつつ永続的な再発を防ぐことが期待できる革新的ながん免疫療法である。本療法は様々な難治性がんへの応用が可能であり、悪性腫瘍全体の予後の改善に大きく貢献することが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我が国におけるがんの罹患率・致死率は年々増加し、既存治療に抵抗性を示す難治性がんの予後は極めて不良である。がん治療の最終目的であるがんを制圧しつつ長期的にその再発を防ぐには、担癌患者自身のがん特異的免疫を誘導することが理想的だが、従来から実施されてきたがん関連ペプチドや自己樹状細胞を用いたがんワクチン療法の臨床効果は乏しく、自己の免疫システムに依拠したがんワクチン療法には限界があった。それに対して我々は、同種免疫反応という独創的なアプローチにより担癌宿主自身の強力な抗腫瘍免疫を誘導することに成功した。本療法は様々な難治性悪性腫瘍の予後の改善に大きく貢献することが期待される。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we have developed a novel antitumor immunotherapy in which intratumoral injection of alloantigen-activated CD4+ (AAA-CD4+) T cells that were induced in culture with the host derived dendritic cells cause local Th1-type inflammation and license the host endogenous cytotoxic T lymphocytes to potentially eliminate the pre-established melanoma in mice. The locally-induced host antitumor immunity elicits systemic protection to eliminate tumors at distal sites, and protects the animals from tumor re-challenge. Our findings indicate that AAA CD4+ T cells reinvigorate endogenous cytotoxic T cells to eradicate pre-established melanoma and induce long-term protective antitumor immunity. This approach can be immediately applied to patients with advanced melanoma and may have broad implications in the treatment of other types of solid tumors.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：がん免疫療法 がんワクチン療法 CD4陽性T細胞 細胞傷害性T細胞 樹状細胞 難治性がん

1. 研究開始当初の背景

我が国におけるがんの罹患率・致死率は年々増加し、既存治療に抵抗性を示す難治性がんの予後は極めて不良である。近年、難治性がんに対する新規治療法として細胞免疫療法の有効性が認知されてきたが、臨床効果は未だ限定的であり更なる研究開発が望まれている。これまでに我々は、マウス造血幹細胞移植モデルにおいて、Notch ligand Delta4を介してT細胞を強力に活性化する樹状細胞(DI14陽性-DC)を同定した。続いてFlt3-ligandとTLRアゴニストを用いてマウス造血幹細胞からDI14陽性-DCの大量培養に成功した。我々は同DCが強力な抗原特異的Th1および細胞障害性T細胞を誘導する能力を有している点に着目し、同DCを癌免疫療法に応用することを着想した。

2. 研究の目的

担癌マウスモデルを用いて、DI14陽性-DCを応用した新規癌ワクチン療法を開発すること。

3. 研究の方法

野生型C57BL6にメラノーマ細胞株であるB16F1を皮下接種して担癌マウスを作成した。

野生型C57BL6の骨髓細胞から、DI14陽性-DC、または、GM-CSFを用いてconventional-DCを培養し、必要に応じて腫瘍抗原(腫瘍ライセート、gp100)をパルスした。

体外活性化T細胞療法を実施する場合は、担癌マウスとは別の野生型マウス(C57BL6:同系またはBALB/c:同種)からCD4またはCD8陽性T細胞をそれぞれ分離した後に、樹状細胞を用いて活性化し使用した。

腫瘍が目視可能となり、皮下にて増殖した後(接種後day9)に、経静脈投与または腫瘍内投与により細胞免疫療法を実施した。尚、PBSを投与した群をコントロールとして用いた。

:2-3日毎にマウスの全身状態を観察するとともに、腫瘍径を測定し細胞免疫療法の効果を判定した。

4. 研究成果

腫瘍抗原をパルスし、腫瘍特異的な抗原提示を可能としたDI14陽性-DCを、担癌マウスに投与(経静脈または腫瘍内)したが、十分な抗腫瘍縮小効果は得られなかった。担癌宿主と同系マウスから分離したCD4陽性またはCD8陽性T細胞を、担癌宿主と同系の樹状細胞を用いて体外活性化し、腫瘍内投与したが抗腫瘍縮小効果は得られなかった。

担癌宿主とは同種の関係にあるマウスから分離したCD4陽性またはCD8陽性T細胞を、担癌宿主と同系の樹状細胞を用いて体外活性化し腫瘍内投与したところ、同種CD4陽性T細胞を用いた場合にのみ全てのマウスで一様に抗腫瘍効果による腫瘍退縮が得られた。尚、腫瘍退縮が得られたマウスにGVHDなどの有害反応は見られなかった。また、同効果は、DI14陽性-DC、またはconventional-DCのいずれを用いて同種CD4陽性T細胞を活性化しても同様の抗腫瘍効果が得られた。

活性化同種CD4陽性T細胞療法後に生存したマウスに、再度初回と同じ腫瘍(B16F1)を皮下接種しても腫瘍は増殖しなかった(再発抑制効果)。

複数の腫瘍を皮下接種して作成した担癌マウスの一方の腫瘍にのみ活性化同種CD4陽性T細胞療法を実施したところ、直接治療していない腫瘍にも抗腫瘍効果が観察された(遠隔腫瘍に対する効果)。

がん治療の最終目的であるがんを制圧しつつ長期的にその再発を防ぐには、担癌患者の癌特異的免疫を誘導することが理想的だが、従来から実施されてきた自己の免疫システムに基づいたがんワクチン療法の臨床効果は極めて乏しかった。本研究では、

活性化同種CD4陽性T細胞療法を用いた、同種免疫反応という独創的なアプローチにより担癌宿主自身の強力な抗腫瘍免疫を誘導することに成功した。本療法は様々な難治性悪性腫瘍の予後の改善に大きく貢献することが期待される。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 1件)

Mochizuki K, Kobayashi S, Takahashi N, Sugimoto K, Sano H, Ohara Y, Mineishi S, Zhang Y, Kikuta A.

Alloantigen-activated (AAA) CD4⁺ T cells reinvigorate host endogenous T cell immunity to eliminate pre-established tumors in mice.

J Exp Clin Cancer Res. 2021 Oct 8;40(1):314.
doi: 10.1186/s13046-021-02102-6.

[学会発表](計 1件)

K Mochizuki, S Kobayashi, N Takahashi, H Sano, Y Ohara, S Mineishi, Y Zhang, and A Kikuta.

Ex vivo-activated allogeneic CD4⁺ T-cells disrupt immunosuppressive tumor microenvironment, and induce host tumor-specific cytotoxic T-cells in mice.
SITC (Society for immunotherapy for cancer) Annual meeting. 2019. Nov.6-9
Maryland, USA

[図書](計 0件)

[産業財産権]

出願状況(計 1件)

名称:腫瘍の治療及び/又は予防のための組成物

発明者:望月一弘
権利者:福島県立医科大学

種類:
番号:特願 2019-199195
出願年月日:2019年10月31日
国内外の別:

種類:PCT 国際出願
番号:PCT/JP2020/ 40920
出願年月日:2020年10月30日
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

望月一弘(Kazuhiro Mochizuki)
福島県立医科大学 医学部 小児腫瘍内科、講師

研究者番号:30448633

(2)研究分担者

佐野秀樹(Hideki Sano)
福島県立医科大学 医学部 小児腫瘍内科、准教授

研究者番号:20448632

小林正悟(Shogo Kobayashi)

福島県立医科大学 医学部 小児腫瘍内科、助教

研究者番号:30566849

菊田 敦(Atsushi Kikuta)

福島県立医科大学 医学部 小児腫瘍内科、教授

研究者番号:40224894

橋本浩一(Kouichi Hashimoto)

福島県立医科大学 医学部 小児科学講座、准教授

研究者番号:50322342

(3)連携研究者

八木田秀雄(Hideo Yagita)
順天堂大学 医学部 免疫学講座、准教授

研究者番号:30182306

大戸 斉(Hitoshi Ohto)

福島県立医科大学 医学部 輸血移植免疫学講座、教授

研究者番号:20150279

藤森 敬也(Keiya Fujimori)

福島県立医科大学 医学部 産婦人科学講
座、教授

研究者番号：80285030

(4)研究協力者

Yi Zhang

Fels Institute for Cancer Research and
Molecular Biology, Temple University,
Professor