

令和 2 年 7 月 14 日現在

機関番号：72602

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07208

研究課題名(和文) 複合免疫療法に向けた各種抗がん剤の免疫抑制解除効果の検証とバイオマーカー探索研究

研究課題名(英文) Translational research for releasing of immune suppression by combination immunotherapy

研究代表者

北野 滋久 (Kitano, Shigehisa)

公益財団法人がん研究会・有明病院 がん免疫治療開発部・部長

研究者番号：60402682

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)：本研究において各癌腫における免疫応答解析を進め、各種解析結果と奏効割合、無増悪生存期間、全生存期間等との関連を検証し免疫系因子におけるバイオマーカーの探索を進める中で、CD8陽性傷害性T細胞をはじめとするT細胞だけでなく、CD204陽性腫瘍関連マクロファージ(M2)が免疫抑制環境の形成に重要であること、B細胞浸潤が抗腫瘍免疫応答に重要であることを発見した。また、これらが各種腫瘍で予後を予測するバイオマーカー候補であることを見出した。今後、がん免疫療法の治療開発戦略において、ミエロイド系の抑制細胞への介入や、CD4陽性T細胞を介したB細胞系免疫応答の増強についても考慮していく必要性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今後のがん免疫療法の治療開発戦略において、免疫抑制解除、及び、B細胞系免疫応答の増強が重要であることを示唆することを見出したことは、今後、複合がん免疫療法の臨床開発を進める上で重要であると考えられる。

また、同種移植を受けた悪性リンパ腫症例において、移植前における腫瘍局所に浸潤するCD204陽性腫瘍関連マクロファージ(M2)が、移植後の再発率や予後に影響していること、移植後再発時の腫瘍組織に浸潤しているM2-マクロファージがドナー由来ものであることを世界で初めて証明し報告した学術的意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, immunomonitoring in some malignant tumors was performed to explore the relationship between various immune factors and clinical responses (response rate, progression-free survival, overall survival, etc.) CD204-positive tumor-associated macrophages (M2) were found to have important role for the formation of immunosuppressive environment in tumor, and B cells were involved in anti-tumor immune responses. These cells were also selected as biomarker candidates that predict prognosis in various tumors. In the future, it is necessary to consider intervention in immune suppressor cells and enhancement of B cell response in the clinical development strategy of combination cancer immunotherapy.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：腫瘍免疫学 免疫応答解析 バイオマーカー 免疫抑制細胞

1. 研究開始当初の背景

近年、各種進行癌で免疫チェックポイント阻害剤の開発が成功をおさめてきているが、恩恵を受ける患者は現時点では限られているため、複合免疫療法(併用療法)の開発を進めることが重要である。申請者は先行研究において、進行期悪性黒色腫や大腸癌患者において免疫抑制細胞である骨髄由来抑制細胞(MDSC)や腫瘍関連マクロファージ(M2)を予後予測マーカーとして同定してきた。いくつかの臨床試験において免疫抑制細胞が抗腫瘍免疫応答を抑制して治療抵抗性の原因となっている可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究において、各種悪性腫瘍において様々な治療介入された患者における免疫学的解析応答を行い、免疫学的バイオマーカー候補の探索を行うとともに、今後の複合がん免疫療法の開発につながる基盤的知見を得る。

3. 研究の方法

これまでに我々独自に開発してきた患者免疫応答解析系を用いて、各種進行期悪性腫瘍患者に対して、各種薬剤治療前及び治療中の末梢血及び腫瘍検体をマルチカラーフローサイトメトリー、免疫染色などを用いて解析し、末梢血及び腫瘍局所における各種免疫細胞と免疫学的因子の治療前の状態および治療前後での変化(免疫学的作用)を明らかにする。また、解析された各種免疫学因子の因子と治療効果・予後との関連についても検証する。

細胞性免疫応答解析

Multicolor flow cytometer

- 免疫Lineage解析、各細胞のphenotyping
- エフェクター細胞(T細胞系、NK、NKT等)
- 抗原提示細胞
- 免疫抑制細胞 (Treg, MDSC, TAM(M2), DC系等)
- 各細胞についての機能解析
- 高感度ADCCアッセイ

Multicolor Flow-cytometer



液性免疫応答解析

MSD, ELISA

- 血中サイトカイン、任意タンパクのスクリーニング
- セロミクス
- 血清中抗体・タンパクの網羅的解析


Mass cytometer



Multiplex



免疫モニタリング



*** 遺伝子解析**

Ex.) Immuno-PGx panel

*** PK/PD 解析**

by mass spectrometry

* 当センター研究所と連携して実施

Multicolor flow cytometer での基本解析パネル

Label	Subset	Definition	
T	CD4+	CD5+	
	CD8+	CD3+/CD4+	
	B	CD3+/CD8+	
	Monoc	CD3-/CD19+	
	classical mono (inflammatory)	CD3-/CD19-/CD14+	
	non-classical mono (resident)	CD14lo/CD16+	
	NK	CD3-/CD19-/CD14-/CD8+	
	major (cell-to-cell)	CD3-/CD19-/CD14-/CD8hi/CD16+	
	minor (soluble factors)	CD3-/CD19-/CD14-/CD8hi/CD16-	
	DCs	CD3-/CD19-/CD14-/HLA-DP+	
	myeloid DC	lineage-/HLA-DP+/CD11c+	
	plasmacytoid DC	lineage-/HLA-DP+/CD123+	
	M-MD-C	Lineage-/CD11b+/CD33+/HLA-DPlo/CD14+/CD15lo	
	G-MD-C	Lineage-/CD11b+/CD33+/HLA-DPlo/CD14-/CD15+	
	Macrophage	CD3-/CD19-/CD14-/CD18+/CD86+/CD88+	
T/Reg	naive T:	CD3+/CD4+orCD8+/CCR7+/CD45RA+	
	central memory T:	CD3+/CD4+orCD8+/CCR7+/CD45RA+	
	effector T:	CD3+/CD4+orCD8+/CCR7-/CD45RA+	
	effector memory T:	CD3+/CD4+orCD8+/CCR7-/CD45RA+	
	TH1:	CXC3+/CXCR6- (or effector memory CD4+/CXCR3+)	
	TH2:	CXC3-/CXCR6+ (or effector memory CD4+/CXCR3+)	
	TH17:	CXC3-/CXCR6+ (or effector memory CD4+/CXCR3+)	
	naive Treg:	CD3+/CD4+/CD45RA-/FOXP3+	
	effector Treg:	CD3+/CD4+/CD45RA-/FOXP3hi	
	Ttr:	CD3+/CD4+/CXCR6+/CXCR3+/FOXP3+	
	Ttr:	CD3+/CD4+/CXCR6+/CXCR3+/FOXP3+	
	exhausted T cells:	T-bet high/PD1mid EOMEShigh/TFHhigh	
	recent thymic emigrants:	CD4+/CD31	
	B/Reg	immature transitional B (1):	CD19+/CD19+/CD20+/CD24hi/CD27-/CD38hi/IgD+
		immature transitional B (2):	CD19+/CD19+/CD20+/CD24hi/CD27-/CD38hi/IgD+
immature transitional B (3):		CD19+/CD19+/CD20+/CD24lo/CD27-/CD38lo/IgD+	
mature naive B:		CD19+/CD20+/CD24lo/CD27-/CD38lo/IgD+	
non-switched memory B:		CD19+/CD20+/CD24hi/CD27+/CD38-/IgD-/IgG+ or IgG-	
class-switched memory B:		CD19+/CD20+/CD24hi/CD27+/CD38-/IgD-/IgG+ or IgG-	
tissue-like memory B:		CD19+/CD20hi/CD27-/CD21lo	
plasmablast:		CD19+/CD20-/CD27hi/CD38hi/CD138+	
plasma:		CD19+/CD20+/CD38hi/CD138+	
Strag:		IL-10+	
activation marker:		HLA-DR, CD40	
exhaustion marker (inhibitory receptor):		FCRL4, PD-1	
NK		major (cell-to-cell, regulatory)	CD3-/CD19-/CD14-/CD16+/CD56dim
		minor (soluble factors, cytolytic)	CD3-/CD19-/CD14-/CD16-/CD56dim
		regulatory NK	CD3-/CD16-/CD56hi
	cytolytic NK:	CD3-/CD16+/CD56int	
	terminal differentiated:	CD57	
	activating receptor:	NKG2D, 2B4, NKG4B, DNAM-1	
	inhibitory receptor:	NKG2A, TRIG1, TACTILE	
	proliferation marker:	IG-87	
	exhaustion marker:	TIm-3	

4 . 研究成果

各癌腫における免疫応答解析を進め、各種解析結果と奏効割合、無増悪生存期間、全生存期間等との関連を検証し免疫系因子におけるバイオマーカーの探索を進める中で、CD8 陽性傷害性 T 細胞をはじめとする T 細胞だけでなく、CD204 陽性腫瘍関連マクロファージ (M2) が免疫抑制環境の形成に重要であること、さらには新たに B 細胞浸潤が抗腫瘍免疫応答において重要な役割を果たすことが示唆された。また、これらが複数の腫瘍において予後予測因子である可能性を見出した。今後、がん免疫療法の治療開発戦略において、ミエロイド系の抑制細胞への介入や、CD4 陽性 T 細胞を介した B 細胞系免疫応答の増強についても考慮していく必要があると考えられる。本研究により、今後の複合がん免疫療法の開発における重要な知見が得ることができた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sato Jun, Kitano Shigehisa, Motoi Noriko, Ino Yoshinori, Yamamoto Noboru, Watanabe Shunichi, Ohe Yuichiro, Hiraoka Nobuyoshi	4. 巻 111
2. 論文標題 CD20 + tumor infiltrating immune cells and CD204 + M2 macrophages are associated with prognosis in thymic carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1921 ~ 1932
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14409	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kagamu Hiroshi, Kitano Shigehisa, Yamaguchi Ou, Yoshimura Kenichi, Horimoto Katsuhisa, Kitazawa Masashi, Fukui Kazuhiko, Shiono Ayako, Mouri Atsuhito, Nishihara Fuyumi, Miura Yu, Hashimoto Kosuke, Murayama Yoshitake, Kaira Kyoichi, Kobayashi Kunihiro	4. 巻 8
2. 論文標題 CD4+ T-cell Immunity in the Peripheral Blood Correlates with Response to Anti-PD-1 Therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 334 ~ 344
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1158/2326-6066.cir-19-0574	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hatogai Ken, Fujii Satoshi, Kitano Shigehisa, Kojima Takashi, Daiko Hiroyuki, Yoshino Takayuki, Ohtsu Atsushi, Takiguchi Yuichi, Doi Toshihiko, Ochiai Atsushi	4. 巻 122
2. 論文標題 Relationship between the immune microenvironment of different locations in a primary tumour and clinical outcomes of oesophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 413 ~ 420
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1038/s41416-019-0622-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kawajiri Akihisa, Kitano Shigehisa, Maeshima Akiko Miyagi, Inamoto Yoshihiro, Tajima Kinuko, Takemura Tomonari, Tanaka Takashi, Ito Ayumu, Okinaka Keiji, Kurosawa Saiko, Kim Sung Won, Taniguchi Hirokazu, Ogawa Chitose, Izutsu Koji, Yamamoto Noboru, Fukuda Takahiro	4. 巻 103
2. 論文標題 Association of CD204 + macrophages with poor outcomes of malignant lymphomas not in remission treated by allogeneic HCT	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 European Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 578 ~ 587
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/ejh.13324	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kitano Shigehisa, Nakayama Takayuki, Yamashita Makiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Biomarkers for Immune Checkpoint Inhibitors in Melanoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2018.00270	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kawachi Asuka, Yoshida Hiroshi, Kitano Shigehisa, Ino Yoshinori, Kato Tomoyasu, Hiraoka Nobuyoshi	4. 巻 109
2. 論文標題 Tumor-associated CD204+ M2 macrophages are unfavorable prognostic indicators in uterine cervical adenocarcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 863 ~ 870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13476	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shoji Hirokazu, Tada Kohei, Kitano Shigehisa, Nishimura Takashi, Shimada Yasuhiro, Nagashima Kengo, Aoki Kazunori, Hiraoka Nobuyoshi, Honma Yoshitaka, Iwasa Satoru, Takashima Atsuo, Kato Ken, Boku Narikazu, Honda Kazufumi, Yamada Tesshi, Heike Yuji, Hamaguchi Tetsuya	4. 巻 8
2. 論文標題 The peripheral immune status of granulocytic myeloid-derived suppressor cells correlates the survival in advanced gastric cancer patients receiving cisplatin-based chemotherapy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.18297	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Igari Fumie, Sato Eiichi, Horimoto Yoshiya, Takahashi Yuka, Isomura Tatsuya, Arakawa Atsushi, Kitano Shigehisa, Saito Mitsue	4. 巻 70
2. 論文標題 Diagnostic significance of intratumoral CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes in medullary carcinoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Human Pathology	6. 最初と最後の頁 129 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.humpath.2017.10.020	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----