

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11147

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント阻害剤併用による新規膀胱内BCG注入療法の開発

研究課題名(英文) The development of new BCG Immunotherapy against bladder cancer with immune checkpoint inhibitor

研究代表者

武内 在雄 (Takeuchi, Ario)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：30586756

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：マウス局所膀胱癌モデルに対してBCG (bacillus Calmette-Guerin)、免疫チェックポイント阻害薬の併用療法の抗腫瘍効果の確認を行った。結果、併用療法がBCG単独療法よりも抗腫瘍効果が強いことが判明した。様々な治療効果発現メカニズムの解析を行ったが、結果的には併用療法において細胞障害性CD8+T細胞(CTL)に代表されるような獲得免疫細胞が癌細胞を直接(または間接的)に働きかけている証拠を見出せなかった。このことの原因を突き止めること、また発展させることが今後の研究課題である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

筋層非浸潤性膀胱癌は、初期治療として経尿道的膀胱腫瘍切除術(TURBT)が行われている。TURBTにより、筋層非浸潤性膀胱癌の治療は著しく改善されてきたが、TURBTだけでは膀胱内再発・進展を完全に防止することはできず、TURBT施行後の再発防止目的で、BCGの膀胱内注入療法(BCG療法)が行われている。今回の知見によりPD-1経路阻害薬をBCG上乗せすることで抗腫瘍効果の相乗効果が見られたことは、現状において選択肢の少ない今後の膀胱癌治療の福音となることが予想される。

研究成果の概要(英文)：We have examined the antitumor effect of the combined therapy of BCG and immune checkpoint inhibitor in a mouse local bladder cancer model. We could get the result that the combination therapy had a stronger antitumor effect than BCG monotherapy. Although, we analyzed various method to confirm the mechanism of the combination therapy. As a result, I could not find the evidence that the acquired immunocytes such as cytotoxic CD8 + T cells (CTL) was responsibility. The further research is needed to find out the reason for this.

研究分野：泌尿器科癌

キーワード：膀胱癌 BCG PD-1経路阻害薬

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

筋層非浸潤性膀胱癌は、初期治療として経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TURBT) が行われている。TURBT により、筋層非浸潤性膀胱癌の治療は著しく改善されてきたが、TURBT だけでは膀胱内再発・進展を完全に防止することはできず、TURBT 施行後の再発防止目的で、BCG (bacillus Calmette-Guérin) の膀胱内注入療法 (BCG 療法) が行われている。しかし、BCG 療法はその有用性に関するエビデンスが蓄積されている一方で、その抗腫瘍効果発現のメカニズムについては不明な点が多い。そこで本研究では、BCG 療法の抗腫瘍効果発現のメカニズムをより明確にし、更に免疫チェックポイント阻害剤を併用し、より抗腫瘍効果の高い BCG 治療の確立を目指し、本研究においては BCG 療法の筋層浸潤性転移性膀胱癌への治療応用についても検討したいと考えていた。

2. 研究の目的

現在 TURBT 施行後の再発を防止するために、BCG あるいは抗癌剤の膀胱内注入療法が幅広く行われている。BCG 療法は、筋層非浸潤性膀胱癌の治療において抗がん剤膀胱内注入療法よりも高い再発・進展抑制効果を持つことが確認されている (Persad R, et al. European Association of Urology 2008; Supple7: 637-650)。

しかし BCG 療法はその有用性の報告の一方で、その抗腫瘍効果発現のメカニズムについては不明な点が多い。BCG 療法の作用機序については、膀胱粘膜の脱落などの非特異的な炎症、ナチュラルキラー (NK) 細胞などのような自然免疫、あるいは細胞障害性 CD8+T 細胞 (CTL) が最終的に effector 細胞として関与する獲得免疫の関与等が推測されてきた。それらの推測に一石を投じたのが Kemp らの報告であった (Kemp TJ, Blood, 106(10):3474-82, 2005)。彼らは BCG 療法によって膀胱壁内に誘導される好中球等の自然免疫系の細胞が直接腫瘍を攻撃することを報告。更にその自然免疫細胞が CTL を間接的に活性化していることを報告している。

我々は、それらの報告に関連して、BCG 膀胱内注入療法によって好中球が膀胱壁内に効率的に誘導される為には膀胱壁内に存在する gd + T リンパ球が産生するインターロイキン 17 (IL-17) が重要であることを見出した (Takeuchi A et al, Eur J Immunol. 2011 Jan;41(1):246-510)。しかし結果的に CTL に代表されるような獲得免疫細胞が癌細胞を直接 (または間接的) に働きかけている証拠を見出せなかった (Takeuchi A et al, Int Immunopharmacol. 2016 Jun;35:327-31)。獲得免疫系の細胞が膀胱局所において活性化されない理由として癌抗原や MHC クラス I 分子などの発現低下による腫瘍の免疫原性の低下、がん細胞が産生 / 誘導する多様な免疫抑制分子や免疫抑制性の細胞が誘導されることなどが挙げられる。そこで我々は免疫抑制リガンドである programmed cell death-1 ligand-1 (PD-L1) に注目した。PD-L1 は通常、休止期の B 細胞、T 細胞などの免疫細胞で発現しており、活性化した T 細胞、B 細胞で発現する Programmed cell death 1 (PD-1; PD-L1 の主な受容体) を介して、免疫抑制性シグナル (PD-L1/PD-1 シグナル) を伝える。実際、膀胱癌患者由来の腫瘍細胞において、免疫抑制リガンドである programmed cell death-1 ligand-1 (PD-L1) の発現が高いことが報告されており (Oing C et al, J Urol. 2015. Sep 24 S0022-5347(15)04878-8)、PD-L1 の発現が高い膀胱癌患者は BCG 療法の享受が得られにくいことも報告されている (Inman BA et al, Cancer. 2007 Apr 15;109(8):1499-505)。更に我々の予備実験により膀胱癌細胞は BCG の直接刺激により PD-L1 の発現が上昇することが分かった。

これらの知見は、膀胱癌細胞は BCG に暴露されると、PD-L1/PD-1 シグナルを利用し免疫監視から逃避していることを示唆している。したがって、免疫治療の障害となる抑制性の因子を制御することは、結果 BCG 療法における獲得免疫細胞の惹起に繋がることが予想され、膀胱癌克服の新しい治療的アプローチとして非常に興味深いものだと考えられる。最近、有転移症例において癌原発巣に放射線療法を施行すると転移巣にも有効であるという、“abscopal effect” が注目を浴びている (Deng L et al, Immunity. 2014 Nov 20;41(5):843-52)。“abscopal effect” において最終的には PD-1 陽性 CD8T 細胞等の免疫細胞の存在が重要であることが分かっており、BCG 療法はその抗腫瘍効果メカニズムからして転移性膀胱癌に“abscopal effect”をもたらず治療として非常に有望だと言える。つまり、BCG 療法において、PD-L1/PD-1 シグナルを遮断し、CTL 等の獲得免疫細胞の活性化が起これば、そのことは膀胱癌局所の制御だけでなく、結果的には膀胱癌の転移の予防、筋層浸潤性膀胱癌、転移を有する膀胱癌 (転移性膀胱癌) の加療・克服に繋がることが予想される。また当院において膀胱全摘を受けた筋層浸潤性膀胱癌患者を BCG 治療歴のある群と治療歴のない群の 2 群に分けて解析を行った結果、BCG 治療歴のある群において前立腺癌を併発している割合が有意に少なく、この結果は BCG 膀胱内注入療法が前立腺癌にも有効である可能性を示している。

本研究では BCG 療法と抗 PD-1 抗体の併用療法に焦点をあて、新たな膀胱内 BCG 注入療法の確立を進めていく。また最終的には BCG 療法の前立腺癌治療への応用も視野に入れて研究を進めたいと考えていた。

我々はすでに、臨床に出来るだけ則した形で実験が行えるようマウスの膀胱癌の局所正着モデル (Takeuchi A et al, Eur J Immunol. 2011 Jan;41(1):246-510) 及び抗 PD-1 抗体を使用したマウス実験系を確立している (Motoshima T et al, Oncol Rep. 2015 Jun;33(6):2947-53)。この実験系を複合的に使用し、BCG 療法と抗 PD-1 抗体の併用療法の有用性、そのメカニズムにつ

いての検討を行いたい。また筋層非浸潤性膀胱癌のみならず筋層浸潤性膀胱癌、転移性膀胱癌に対してもその有用性の検討を行いたい。

3. 研究の方法

我々は既にマウスの膀胱癌の局所正着モデル、抗 PD-1 抗体を使用したマウス実験系およびマウス筋層浸潤膀胱癌モデルを確立している。それらのモデルを複合的に利用し、筋層非浸潤性膀胱癌、及び筋層浸潤性膀胱癌に対する BCG、抗 PD-1 抗体の併用療法の有用性の検討、その抗腫瘍効果のメカニズム等についての解析を行った。また併用療法が膀胱局所での CTL の活性化に繋がり、結果的に転移巣にも効果を発揮する可能性も視野に入れており、その検討・解析も行った。

4. 研究成果

筋層非浸潤性膀胱癌に対する BCG 膀胱内注人療法 (BCG 療法) は広く行われているが、その抗腫瘍効果発現を増強する目的で免疫チェックポイント阻害薬の併用の可能性を探った。まず、マウス膀胱内注人モデルを用いて (HeN マウスの膀胱内に MBT-2 (mouse 膀胱腫瘍) を注人。翌日より BCG、免疫チェックポイント阻害薬を一週間毎投与した) BCG 療法 + 免疫チェックポイント阻害薬の腹腔内投与の抗腫瘍効果の確認を行った。結果、併用療法が BCG 単独療法よりも抗腫瘍効果が強いことが判明した。様々な治療効果発現メカニズムの解析を行ったが、結果的には併用療法において細胞障害性 CD8 + T 細胞 (CTL) に代表されるような獲得免疫細胞が癌細胞を直接 (または間接的) に働きかけている証拠を見出せなかった。このことの原因を突き止めること、また発展させることが今後の研究課題である。

BCG 療法の抗腫瘍効果発現の機序の一つとして BCG 療法により膀胱に誘導される好中球の重要性が報告されており、IL-21 が好中球誘導に大事なファクターであることも報告されている。第二の実験として、IL-21 を恒常的に産生する BCG 株 (BCG-IL-21) を作成し、この BCG-IL-21 を使用し、その抗腫瘍効果について解析、検討を行った。B6 マウスの膀胱内に MB-49 (マウス膀胱腫瘍) を注人した。翌日より BCG-IL-21、BCG、PBS の一週間毎膀胱内注人を行った。BCG-IL-21 群は BCG 群の生存より有意に延長した。治療開始後 23 日目の膀胱内浸潤細胞を解析したところ gdT 細胞、好中球が BCG-IL-21 治療群で増加していた。さらに抗 Gr-1 抗体投与により好中球を除去することで BCG-IL-21 治療群の抗腫瘍効果は消失したことから、好中球の重要性が確認された。今後さらなる抗腫瘍効果発現メカニズム解析を進める予定である。

今回の知見により PD-1 経路阻害薬を BCG 上乗せすることで抗腫瘍効果の相乗効果が見られたことは、現状において選択肢の少ない今後の膀胱癌治療の福音となることが予想される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Ario Takeuchi
2. 発表標題 Rationale and possibility of intravesical Bacillus Calmette-Guerin therapy with cytokine against bladder cancer
3. 学会等名 EAU2018（国際学会）
4. 発表年 2018年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----