

令和元年6月14日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15037

研究課題名(和文) がん微小環境下の制御性T細胞の代謝機構を標的とした治療法開発

研究課題名(英文) Development of new treatments targeted to the metabolism of Tregs in the tumor microenvironment

研究代表者

坂井 千香 (Sakai, Chika)

国立研究開発法人国立がん研究センター・先端医療開発センター・研究員

研究者番号：90622845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍局所では免疫抑制に寄与する制御性T細胞(Treg)が正常組織よりも高い割合で浸潤、活性化し免疫抑制状態にある。局所はがん細胞の異常な解糖系亢進により糖が不足している一方、解糖系産物の乳酸が高濃度に蓄積している。そこで本研究は活性化しているTregがエネルギー基質として何を使用しているのかを解析し、Tregの機能抑制の新しい標的を見出すことにした。局所でのTregの機能阻害はがん免疫療法の有効な手段となる。

解析の結果、局所のTregは抗腫瘍免疫に寄与するTeffより周囲に豊富な乳酸を効率的に使用していることがわかった。現在、局所のTregにおける乳酸代謝を標的とした薬剤を検討中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん免疫療法は患者の免疫応答を強化し、がん細胞を攻撃・排除する。しかし全身の免疫応答を過度に強化してしまうと自己免疫疾患等の副作用がある他、臨床試験で十分効果が認められない治療法も多い。奏効率が比較的高い免疫チェックポイント阻害剤の併用療法でも50%程度との報告がある。そこで現在、より効果的で副作用の少ない新規の免疫療法の開発が求められている。

本研究は、従来とは異なる作用機序で、かつ腫瘍局所に限局して作用する免疫療法の標的を見出すことに成功した。本研究を元に腫瘍局所において抗腫瘍免疫の妨げとなるTregの機能抑制が実現可能であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Tumor cells primarily use glucose for glycolytic energy production and release lactate, creating a low-glucose and high-lactate environments. Despite this severe environment, it was reported that a large number of CD25+CD4+Tregs are present in tumors and additionally they are activated (effector Tregs; eTregs). Because of their roles in promoting tumor immune escape and progression, increased numbers of eTregs in tumors have been associated with poor survival in many solid tumors.

In this study, we revealed eTregs have a survival advantage among other lymphocytes in tumor site by using lactate for energy metabolism. The lactate metabolism by eTregs should be a promising target for the novel cancer immunotherapy.

研究分野：生化学

キーワード：ミトコンドリア がん微小環境 制御性T細胞 がん免疫療法

1. 研究開始当初の背景

がん免疫療法は患者の免疫応答を強化し、がん細胞を攻撃・排除する。しかし全身の免疫応答を過度に強化してしまうと自己免疫疾患等の副作用がある他、臨床試験で十分効果が認められない治療法も多い。奏率が比較的高い免疫チェックポイント阻害剤の併用療法でも 50%程度との報告がある。そこで現在、より効果的で副作用の少ない新規の免疫療法の開発が求められている。

腫瘍局所はがん細胞の過剰な解糖系の結果、グルコースが不足しており、解糖系の産物である乳酸が蓄積していることが知られている。この多くの細胞にとって過酷な状況下で、制御性 T 細胞 (Treg) は正常組織よりも高い割合で浸潤し、さらに機能的に活性化している (effector Treg: eTreg)。eTreg は腫瘍局所において抗腫瘍作用をもつ Teff 細胞を抑制することで、腫瘍の増悪に関与している。実際に腫瘍局所の eTreg の機能抑制は抗腫瘍効果を高め、がん免疫療法の標的として期待されている。そこで本研究では腫瘍局所の eTreg に注目し、新たながん免疫療法を開発することにした。

2. 研究の目的

本研究はこれまでより効果的で副作用の少ない免疫療法として、従来とは異なる作用機序で、かつ腫瘍局所に限局して作用する薬剤候補を見出すことを目的とした。新しい作用機序を持つ薬剤は従来の治療薬に不応答な患者にも有効である可能性があり、さらに腫瘍局所で作用する薬剤は、全身の免疫応答への影響が少なく、副作用の危険性も低い。そこで免疫担当細胞の細胞内エネルギー代謝に介入して働きを調節することを目標とし、限局した作用を実現するため腫瘍微小環境における細胞内エネルギー産生基質に注目して解析した。

具体的には腫瘍局所に浸潤する eTreg が栄養基質の観点からも過酷な環境にて高い割合で存在し、さらに活性化している点に注目し、どのようなエネルギー基質を使用しているかを調べることにした。そしてそのエネルギー代謝を抑制することで特異的に腫瘍局所の eTreg を機能抑制する方法を模索した。

3. 研究の方法

研究開始当初はがん患者の腫瘍検体から腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を単離して、eTreg の酸化的リン酸化を解析することによりそれに用いられるエネルギー基質を特定する解析を予定していた。しかし、酸化的リン酸化を解析するために現在広く用いられている細胞外フラックスアナライザーを使って検討を行ったところ、一人の患者検体から腫瘍局所の eTreg を解析に十分な数集めることは不可能であった。また解析に必要な数時間以上の間、TIL を培地等に入れる必要があったが、患者腫瘍組織から単離した TIL の代謝に与える影響等の理由により困難と判断した。

そこで実際の解析は TIL を単離してフローサイトメトリーによりミトコンドリアの膜電位 (MMP) を調べることにした。酸化的リン酸化は MMP により駆動されるので MMP の維持は重要なエネルギー代謝の指標の一つである。さらにその後、MMP の維持のために使用されている基質を特定し、その基質代謝に関与するトランスポーター等のタンパク質の発現も調べた。

4. 研究成果

患者検体を用いて TIL の MMP を解析したところ、MMP が維持されている検体と、低下してしまっている検体があった。これは飢餓状態などの過酷な腫瘍環境を反映していると考えられる。MMP が失われると細胞はアポトーシスのカスケードにはいるために、TIL の MMP が維持されている検体について重点的に解析を行った。

TIL の MMP を維持するために使われている基質を調べたところ、eTreg は抗腫瘍免疫に寄与する Teff より周囲に豊富にある乳酸を効率的にエネルギー代謝に使用していることがわかった。実際に TIL の eTreg では乳酸を細胞に取り込む乳酸トランスポーターである MCT1 とそのシャペロンタンパク質である CD147 の発現が有意に高いことも明らかになった。以上から TIL において eTreg は周囲に豊富にある乳酸を効率的に使用することによって MMP を維持し、Teff に対してエネルギー産生における優位性を持つと考えられる。

患者血液を用いた同様の解析においては Treg をはじめとする他のリンパ球サブセットは乳酸をエネルギー代謝にはほとんど使用していないことを確認している。これは通常の血中の乳酸濃度においてはリンパ球による乳酸の取り込み、代謝がほとんど行われないためであると考えられる。よってがん患者における乳酸代謝の阻害は、局所の eTreg の機能抑制に特異的に効果を示すことが期待される。

今後局所の eTreg における乳酸代謝を標的としたがん免疫療法のための候補薬剤の検討が必要となる。現在注目しているのはミエローム細胞において MCT1 と CD147 の細胞膜局

在を阻害することが報告されたサリドマイド誘導体である。レナリドミドなどのサリドマイド誘導体はセレプロンを介した MCT1 と CD147 の相互作用を抑制することでそれらの細胞膜における安定性を阻害する。上述のように腫瘍局所の eTreg は MCT1 と CD147 を高発現していることを確認しており、レナリドミドのような薬剤により、細胞膜において乳酸の取り込みが抑制された場合、局所の eTreg を特異的に機能抑制することが可能であると考えられる。レナリドミドは現在、多発性骨髄腫の治療薬として用いられている薬剤であり、ドラッグリポジショニングによりさらに固形癌の治療薬として使用されることも比較的可能性であると考えられる。

現在、invitro の実験系において、高乳酸濃度の培地で培養した eTreg の乳酸代謝がレナリドミド添加により抑制され、さらに MCT1、CD147 の発現抑制も伴っていることを確認している。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔図書〕(計 3 件)

1. 坂井千香、西川博嘉 「腫瘍局所の免疫抑制環境」 癌と化学療法 2018 年 2 月発行 Vol.45
2. 坂井千香、西川博嘉 「FOXP3 陽性細胞とがん免疫」感染・炎症・免疫 2017 年 4 月発行 Vol.47
3. 坂井千香、西川博嘉 「免疫療法」 実地医家に必要ながん学 2017 年 4 月発行 Vol.34

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号 (8 桁)：

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。