

令和 2 年 4 月 21 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19466

研究課題名(和文)腫瘍に対する新規免疫療法の開発

研究課題名(英文)Research aimed at developing a new cancer immunotherapy

研究代表者

木村 元子(Kimura, Motoko)

千葉大学・大学院医学研究院・准教授

研究者番号：00345018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は「CD69」というT細胞の動態システムに重要な働きをする分子に着目し、新しいがん免疫療法の確立を目指したものである。腫瘍組織内に存在する腫瘍抗原特異的なT細胞のほとんどがCD69を発現しており、CD69は、抗腫瘍免疫応答に重要な働きをしていることが考えられた。事実、CD69欠損マウス、並びに、担がんマウスへの抗CD69抗体投与によるCD69の機能阻害は、複数のがん種において、抗腫瘍効果の増強を起こすことが確認された。この研究成果は、新たながん免疫療法の確立に貢献する重要な発見と考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

患者自身の免疫システムを活性化することにより腫瘍を攻撃する「免疫療法」は、近年目覚ましい開発が進められており、今後、さらに大きな発展が期待される。しかしその一方で、現行の免疫チェックポイント阻害剤の適応にならないがん腫や、副作用の問題、禁忌症などがあることから、新たな免疫療法の開発が常に求められている。

本研究は「CD69」というT細胞の動態システムに重要な働きをする分子に着目し、新しいがん免疫療法の確立を目指したものである。従来の免疫チェックポイント阻害薬とは、一線を画した斬新なアイデアを基にしたものであり、学術的意義、社会的意義の高い研究である。

研究成果の概要(英文)：This research is aimed at revealing the role of CD69 molecule on anti-tumor immune responses, and at contributing to establish a new cancer immunotherapy. CD69 has been known to regulate lymphocyte trafficking and migration, and we found that CD69 is expressed on most tumor-specific T cells infiltrated within tumor microenvironment. Importantly, our data showed that tumor growth was significantly reduced in Cd69-deficient mice as well as the mice with anti-CD69 Ab treatment, which was accompanied with enhanced anti-tumor immune responses. Our results show that CD69 is a new target for cancer immunotherapy.

研究分野：腫瘍学およびその関連分野

キーワード：CD69 がん免疫療法 腫瘍浸潤T細胞 疲弊 抗腫瘍効果 CD69リガンド MyI9/12

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

日本人の死亡原因の第1位は「がん」である。実に国民の約2人に1人が「がん」に罹患し、約3人に1人が「がん」で亡くなると言われている。一昔前までは不治の病とされていた「がん」であるが、近年の治療法の進歩は目覚ましく、「がん」は治療可能な病となりつつある。「がん」に対する三大治療法は、「手術（外科治療）」「薬物治療（抗がん剤治療）」「放射線治療」であるが、近年、患者自身の免疫系を活性化することで「がん」を攻撃する「免疫療法」への期待と注目が高まっている。特に免疫チェックポイント阻害剤（PD-1/ PD-L1 抗体、CTLA-4 抗体）を用いたがん免疫療法は、非常に強力な効果があることが示された。しかしその一方で、その効果は万能ではなく、また副作用の危険性、自己免疫疾患罹患患者への禁忌など、まだ課題も多く、新たなメカニズムに基づいた治療法の開発は絶えず求められている。

研究代表者はこれまでに、細胞の動態システムに重要な働きをする「CD69」分子に着目した研究を行ってきた。CD69は、II型の膜型糖タンパク質であり、白血球の早期活性化マーカーとして知られてきた分子である。一方近年では、CD69は単なる活性化マーカーではなく、細胞の動態に重要な働きをする分子であることが明らかとなった（Hayashizaki and Kimura et al, *Sci. Immunol.* 2016; Kimura et al, *Immunol. Rev.* 2017）。さらにCD69分子は、組織常在性T（T_{RM}）細胞に発現が見られ、T_{RM}細胞が組織内に留まるのに必要であることが、複数のグループから報告された（Kimura et al *Immunol. Rev.* 2017）。そこで、腫瘍特異的なT細胞は、CD69を高発現することで腫瘍内にとどまり、継続的に腫瘍抗原からの刺激を受け取ることで、抗腫瘍免疫応答に影響を与えている可能性が考えられた。

2. 研究の目的

腫瘍を特異的に攻撃する T 細胞は、やがてその機能が弱まり疲弊していくことが知られている。この疲弊は、抑制性の補助刺激受容体（*i. e.* PD-1, CTLA-4）の発現により、T 細胞抗原受容体（TCR）のシグナルが減弱させられることが主な原因となっている。免疫チェックポイント阻害剤による T 細胞の疲弊解除は、この抑制性の補助刺激受容体からのシグナルを遮断することで、TCR シグナル活性化能を改善させるようにしたものである。一方で、TCR シグナルを直接制御することなく、腫瘍特異的な T 細胞の疲弊解除、もしくは疲弊プロセスそのものを抑制することができれば、免疫チェックポイント阻害剤の禁忌症例にも適応可能な、新たながん免疫療法確立への第一歩が進めると期待される。そこで本研究では、腫瘍免疫に重要な働きをする分子標的として「CD69」に着目して、免疫チェックポイント阻害剤の適応禁忌症例にも使用可能な、新たながん免疫療法の臨床開発を最終目標に据えた、探索的な基礎研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

腫瘍免疫に重要な働きをする分子標的として「CD69」に着目し、CD69 の機能を阻害することによる抗腫瘍免疫応答制御の可能性について検討するために、具体的には以下の解析を行なった。

- (1) CD69 欠損マウスを用いて、様々ながん細胞株（*i. e.* 4T1, CT26, B16 など）の移植実験を行ない、CD69 欠損による T 細胞の抗腫瘍効果について、腫瘍浸潤細胞の疲弊度に着目しながら解析した。また、CD69 抗体投与による治療効果について解析した。
- (2) 既存の免疫チェックポイント阻害剤と CD69 抗体の併用効果について検討した。
- (3) 腫瘍内における CD69 リガンドの探索を行なった。

4. 研究成果

(1) CD69 欠損マウスを用いて、乳がん細胞 (4T1) を CD69 欠損マウスに移植したところ、4T1 細胞の顕著な増殖抑制が見られ、CD69 欠損マウスにおける抗腫瘍効果の亢進が見られた (図 1)。また腫瘍浸潤 T 細胞は、CD69 を高く発現していることがわかった (Mita, Kimura et al *Int. Immunol.* 2018, Kimura et al, *Semin. Immunopathol.* 2019)。さらに、複数のがん細胞株の移植実験を行ない、抗腫瘍効果について解析した。CD69 欠損マウスにおける抗腫瘍効果を 5 種類のがん細胞株を用いて解析したところ、3 種類のがん細胞においては亢進がみられたが、2 種類のがん細胞においては、抗腫瘍効果の亢進がほとんど見られなかった。これらの結果は、CD69 を標的とする抗腫瘍効果には、がん種による特異性があることを示している。また各種担がんマウスへの抗 CD69 抗体投与は、CD69 欠損マウスを使用した時と同様に抗腫瘍効果を亢進させることが確認された (図 2)。さらに、抗 CD69 抗体投与による抗腫瘍効果にも、CD69 欠損マウスを使用した時と同様に、がん種による違いがみられることがわかった。

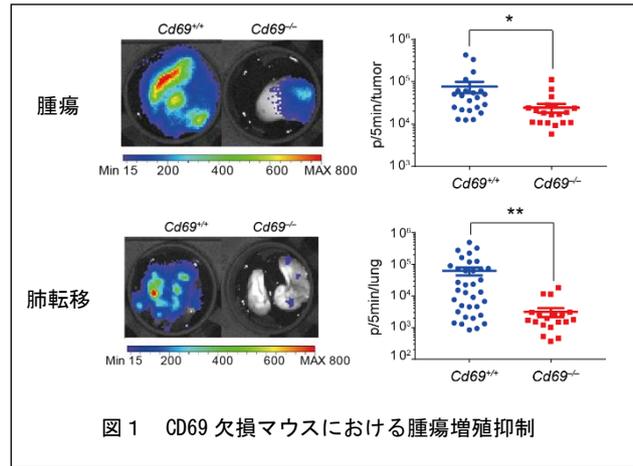


図 1 CD69 欠損マウスにおける腫瘍増殖抑制

抗腫瘍効果を 5 種類のがん細胞株を用いて解析したところ、3 種類のがん細胞においては亢進がみられたが、2 種類のがん細胞においては、抗腫瘍効果の亢進がほとんど見られなかった。これらの結果は、CD69 を標的とする抗腫瘍効果には、がん種による特異性があることを示している。また各種担がんマウスへの抗 CD69 抗体投与は、CD69 欠損マウスを使用した時と同様に抗腫瘍効果を亢進させることが確認された (図 2)。

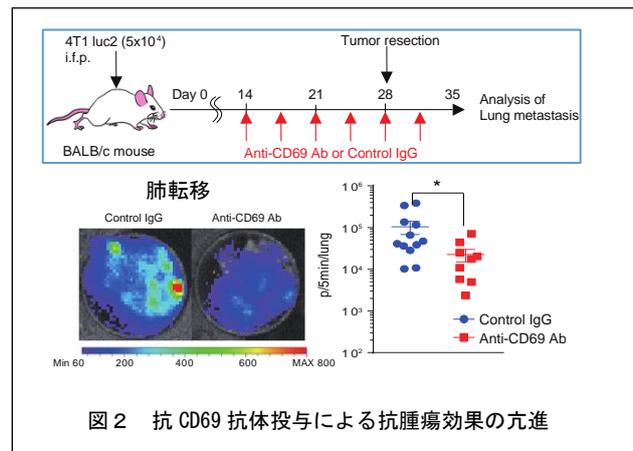


図 2 抗 CD69 抗体投与による抗腫瘍効果の亢進

さらに、抗 CD69 抗体投与による抗腫瘍効果にも、CD69 欠損マウスを使用した時と同様に、がん種による違いがみられることがわかった。

(2) 抗 CD69 抗体と各種免疫チェックポイント阻害剤の併用効果について解析を行なった。抗 PD1 抗体と抗 CD69 抗体との併用により、抗腫瘍効果の増強効果が見られることがわかった。現在、この点について、さらに詳しい解析を行なっている。

(3) 抗 CD69 抗体投与により抗腫瘍効果が見られるという事実は、腫瘍内に CD69 のリガンドが存在する可能性を示唆するものである。そこで、腫瘍免疫の標的としての CD69 の機能メカニズムを解析する目的で、CD69 の腫瘍内リガンドの探索を行なった。

研究代表者らはこれまでに、炎症組織における CD69 リガンドとして、Myosin light chain 9/12 (My19/12) を同定し報告してきた。そして炎症組織における CD69 リガンドは、血小板由来の My19 が主要であることを報告した (Hayashizaki and Kimura et al, *Sci. Immunol.* 2016; Kimura et al, *Immunol. Rev.* 2017)。一方、腫瘍組織中の My19/12 の発現について共焦点顕微鏡を用いて解析したところ、腫瘍組織内に My19/12 の発現が多く認められ、とりわけ腫瘍の実質内に発現分布していることがわかった。この発現分布は、炎症組織で見られたものとは明らかに異なるものであった。またヒトの大腸がん患者から得

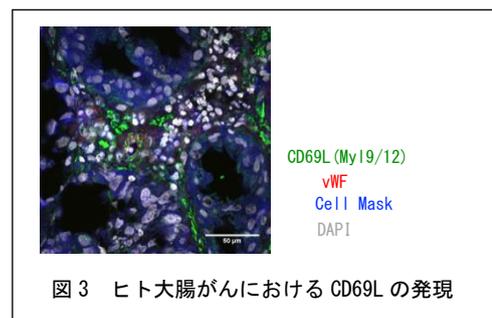


図 3 ヒト大腸がんにおける CD69L の発現

られた大腸がんサンプルを用いても同様の解析を行なった結果、腫瘍組織内に My19/12 の発現

が見られることを確認した(図3)。データベースを用いた解析から、多くの腫瘍細胞には、My112の mRNA 発現が見られることから、CD69のリガンドは、腫瘍組織そのものが発現する My112 である可能性が示唆された。現在、CD69の腫瘍内リガンドとしての My112の機能について、さらなる解析を進めている。

以上の研究を通じて、抗腫瘍免疫応答における標的としての CD69の重要性と、その作用メカニズムについて新たなメカニズムを明らかにした。研究代表者らのこれまでの研究から、抗 CD69抗体投与は、アレルギー性気道炎症、関節炎、大腸炎などの炎症性疾患を抑制する働きをすることが判明していることから (Kimura et al *Immunol. Rev.* 2017)、抗 CD69抗体投与は既存の免疫チェックポイント阻害剤の禁忌症例にも適応可能になると考えられる。これらの研究成果は、新たながん免疫療法の確立に貢献する重要な結果と考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Angelou Constance C., Wells Alexandria C., Vijayaraghavan Jyothi, Dougan Carey E., Lawlor Rebecca, Iverson Elizabeth, Lazarevic Vanja, Kimura Motoko Y., Peyton Shelly R., Minter Lisa M., Osborne Barbara A., Pobezińska Elena L., Pobeziński Leonid A.	4. 巻 10
2. 論文標題 Differentiation of Pathogenic Th17 Cells Is Negatively Regulated by Let-7 MicroRNAs in a Mouse Model of Multiple Sclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 3125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.03125	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 該当する
1. 著者名 Pobezińska Elena L., Wells Alexandria C., Angelou Constance C., Fagerberg Eric, Aral Esengul, Iverson Elizabeth, Kimura Motoko Y., Pobeziński Leonid A.	4. 巻 10
2. 論文標題 Survival of Naive T Cells Requires the Expression of Let-7 miRNAs	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 955
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.00955	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 該当する
1. 著者名 Tumes Damon, Hirahara Kiyoshi, Papadopoulos Magdalene, Shinoda Kenta, Onodera Atsushi, Kumagai Jin, Yip Kwok Ho, Pant Harshita, Kokubo Kota, Kiuchi Masahiro, Aoki Ami, Obata-Ninomiya Kazushige, Tokoyoda Koji, Endo Yusuke, Kimura Motoko Y., Nakayama Toshinori	4. 巻 144
2. 論文標題 Ezh2 controls development of natural killer T cells, which cause spontaneous asthma-like pathology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Allergy and Clinical Immunology	6. 最初と最後の頁 549 ~ 560.e10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.02.024	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 該当する
1. 著者名 Kimura Motoko Y., Koyama-Nasu Ryo, Yagi Ryoji, Nakayama Toshinori	4. 巻 41 (3)
2. 論文標題 A new therapeutic target: the CD69-My19 system in immune responses	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Semin. Immunopathol	6. 最初と最後の頁 349-358
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00281-019-00734-7	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 Kimura Motoko Y., Igi Akemi, Hayashizaki Koji, Mita Yukiyoshi, Shinzawa Miho, Kadakia Tejas, Endo Yukihiko, Ogawa Satomi, Yagi Ryoji, Motohashi Shinichiro, Singer Alfred, Nakayama Toshinori	4. 巻 9
2. 論文標題 CD69 prevents PLZFhi innate precursors from prematurely exiting the thymus and aborting NKT2 cell differentiation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 3749
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-06283-1	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 該当する

1. 著者名 Mita Yukiyoshi, Kimura Motoko Y, Hayashizaki Koji, Koyama-Nasu Ryo, Ito Toshihiro, Motohashi Shinichiro, Okamoto Yoshitaka, Nakayama Toshinori	4. 巻 30
2. 論文標題 Crucial role of CD69 in anti-tumor immunity through regulating the exhaustion of tumor-infiltrating T cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 559 ~ 567
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxy050	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 Kimura Motoko Y.	4. 巻 94(3)2018
2. 論文標題 The basis of T cell development and lineage choice in the thymus	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Chiba Medical Journal	6. 最初と最後の頁 19-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.20776/s03035476-94E-3-P19	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 木村元子, 林崎浩史, 中山俊憲	4. 巻 265 (9)
2. 論文標題 CD69-MyI9システムによるアレルギー性気道炎症制御とその展望	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 医学のあゆみ	6. 最初と最後の頁 719-723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 木村元子, 中山俊憲	4. 巻 -
2. 論文標題 ミオシン軽鎖9/12	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 アレルギー用語解説シリーズ	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) なし	査読の有無 無
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 木村元子, 林崎浩史, 中山俊憲	4. 巻 -
2. 論文標題 気道炎症を制御するCD69-MyI9システムとその展望	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 臨床免疫・アレルギー科	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) なし	査読の有無 無
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14件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Kimura M.Y., Koyama-Nasu, R., Mita Y., Hayashizaki, K. and Nakayama T.
2. 発表標題 CD69 Biology and Pathology
3. 学会等名 11th International Symposium of IFRcC, Immunology at the Forefront (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kimura M.Y.
2. 発表標題 CD69 regulates T cell exhaustion at the tumor microenvironment
3. 学会等名 First Chiba University - University of Toronto workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koyama-Nasu R, Endo Y, Ito T, Kanno T, Nakajima T, Kimura M.Y, Nakayama T
2. 発表標題 Inhibition of acetyl-CoA carboxylase enhances memory Th2 cell generation and Th2 mediated anti-tumor immunity
3. 学会等名 第23回日本癌免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 木村元子, 那須亮, 三田恭義, 中山俊憲
2. 発表標題 がん免疫療法の新たなターゲットとしてのCD69の可能性
3. 学会等名 第23回日本癌免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura M.Y., Hayashizaki, K., Yagi, R., Endo, Y., Motohashi, S. and Nakayama, T.
2. 発表標題 CD69 regulates residency time of developing thymocytes that is important for NKT2 cell differentiation in the thymus
3. 学会等名 EMBO Workshop ThymE: T cell and Thymus biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura M.Y.
2. 発表標題 CD69 regulates T cell exhaustion at the tumor microenvironment
3. 学会等名 3rd Annual CU-UCSD cMAV Symposium, UC San Diego, San Diego (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kimura M.Y., Igi, A., Hayashizaki K., Mita Y., Endo, Y., Ogawa, S., Singer, A. and Nakayama, T.
2. 発表標題 The role of CD69 on iNKT cell development in the thymus
3. 学会等名 KAI International Meeting 2018, Sejong University Convention Center, Seoul, Korea (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kimura M.Y.
2. 発表標題 The role of CD69 on iNKT cell development in the thymus
3. 学会等名 2018 NIH Thymus symposium, Bethesda, USA (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kimura M.Y., Hayashizaki K. and Nakayama T.
2. 発表標題 CD69-MyI9 system regulates pathogenesis of inflammatory disorders
3. 学会等名 The 2nd Chiba University-UC San Diego Symposium "Mucosal Immunology, Allergy and Vaccine" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kimura M.Y., Hayashizaki, K., Yagi, R., Endo, Y., Motohashi, S. and Nakayama, T.
2. 発表標題 Role of CD69 on iNKT cell development in the thymus
3. 学会等名 The 47th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三田恭義、木村元子、那須亮、本橋新一郎、岡本美孝、中山俊憲
2. 発表標題 CD69による抗腫瘍免疫制御
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三田恭義、木村元子、那須亮、本橋新一郎、岡本美孝、中山俊憲
2. 発表標題 CD69による抗腫瘍免疫制御
3. 学会等名 第22回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村元子、伊木明美、林崎浩史、遠藤将大、中山俊憲
2. 発表標題 胸腺内細胞分化におけるCD69の重要性
3. 学会等名 第83回日本インターフェロン・サイトカイン学術集会 (大会長特別梓講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村元子
2. 発表標題 胸腺内細胞分化におけるCD69の重要性
3. 学会等名 Kyoto T Cell Conference 第28回学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

千葉大学大学院医学研究院免疫発生学
<https://www.m.chiba-u.ac.jp/class/meneki/>

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
--	---------------------------	-----------------------	----