

令和 4 年 4 月 20 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07704

研究課題名（和文）B4免疫チェックポイントシステムを標的とする新規抗がん薬の開発を目指した研究

研究課題名（英文）A research aiming at developing a new antitumor drug targeting B4 immune checkpoint system

研究代表者

遠藤 章太（Endo, Shota）

東北大学・加齢医学研究所・講師

研究者番号：70466580

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では既存の免疫チェックポイント阻害薬では治療効果の得られていない患者のQOL向上を目指し、研究代表者らが発見したB4-B4L1免疫チェックポイントを標的とする新規免疫チェックポイント阻害薬の開発を目標として基礎研究を行った。その結果、B4遺伝子欠損マウス（gp49B^{-/-}マウス）はB4L1陽性のLewis肺癌細胞に対する抗がん活性が高くなることが判明し、さらにB4-B4L1結合阻害剤である抗gp49抗体を担がんマウスに投与するとコントロール群に比べて有意な抗がん活性が得られることを見出した。海外の競合グループが同様の結果を我々と同時期に報告しており、アプローチを変更して研究を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究成果は、B4-B4L1免疫チェックポイントを標的とすることで効果的な抗がん作用が得られることを示すものであり、PD-1やCTLA-4などの既存の免疫チェックポイント分子を標的とする既存の免疫チェックポイント阻害薬とは作用メカニズムの異なる新規免疫チェックポイント阻害薬の開発に繋がり、がん患者のQOL向上に貢献することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study aims to improve the QOL of patients who have not obtained therapeutic effects with existing immune checkpoint inhibitors. To achieve this goal, we conducted basic research with the goal of developing a novel immune checkpoint inhibitor that targets the B4-B4L1 immune checkpoint of which we have discovered recently. As a result, we found that B4-deficient mice (gp49B^{-/-} mice) shows augmented antitumor activity against B4L1-positive Lewis lung cancer cells. Moreover, when anti-gp49 antibody, which is a B4-B4L1 immune checkpoint inhibitor, is administered into a tumor-bearing mice, the mice showed a significant antitumor activity compared to a mice administered with a control antibody. Since several competitive groups abroad have reported similar results, we changed our approach and continuing our research.

研究分野：免疫学

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 がん

1. 研究開始当初の背景

「がん」は長年日本人の死因第1位を占めている疾患であり、厚生労働省の平成29年人口動態統計月報年計(概数)の概況によると、がん(悪性新生物)による死亡率は27.9%と第2位の心疾患(15.3%)を大きく引き離しているとともに年々その割合が増加している。近年、Nivolumab(抗PD-1抗体、商品名:オプジーボ)やIpilimumab(抗CTLA-4抗体、商品名:ヤーボイ)といった免疫の抑制システムを標的とすることで高い抗がん作用を奏する免疫CP阻害薬が登場し、大いに注目を集めている。しかし、例えばNivolumabの場合、従来の抗がん剤治療で効果が得られなかった患者に対して劇的な抗がん作用を示す薬剤であるものの、実際に効果が得られる患者の割合は20%強である。また、PD-L1陰性のがんに対しては、作用メカニズム上効果的な抗がん作用を期待することができない。平成30年10月現在において国内で承認されている免疫CP阻害薬は6種類であるが、作用メカニズムの違いから、T細胞-がん細胞間のPD-1免疫CPシステムとT細胞-抗原提示細胞間のCTLA-4免疫CPシステムの2パターンに限られている(図1)。また、現在臨床試験が進行中の抑制性受容体の免疫CPを標的とする薬剤は、T細胞-抗原提示細胞間のTim-3免疫CP、LAG-3免疫CP、TIGIT免疫CPを標的とするものであり、NivolumabのようにT細胞-がん細胞間のPD-1免疫CPを標的とするものはない。研究代表者は上記の状況を踏まえ、「T細胞-がん細胞間におけるPD-1免疫CPとは異なる免疫CPを標的とする免疫CP阻害薬を開発することで、既存の免疫CP阻害薬では埋められていないアンメットメディカルニーズに応え、より多くのがん患者のQOLを向上させられるのではないかと考え、本研究を行ったものである。

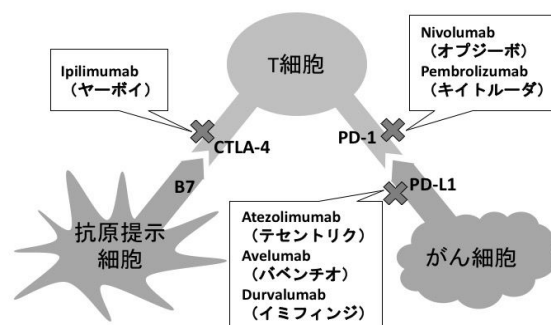


図1 国内承認の免疫CP阻害薬の作用点は2パターンのみである。PD-1免疫CPとCTLA-4免疫CPに限られている。試験中のものではTim-3、LAG-3、TIGIT免疫CPがあるが、いずれもT細胞-抗原提示細胞間であり、T細胞-がん細胞間のものはない。

2. 研究の目的

本研究は、がん治療における新規免疫CP阻害薬を開発することを目的としている。この目的を達成するために、既存の免疫CP阻害薬が標的とするPD-1免疫CPを標的とするのではなく、本研究では免疫抑制性受容体B4とそのリガンドB4L1で構成される『B4免疫CP』を標的とする。B4免疫CPを標的とする免疫CP阻害薬を開発することで、PD-L1陰性のがん患者に対する治療の道が開けることを期待する(図2)。

また、本研究は、がん治療の新規薬剤の開発を目指す研究だが、その基礎データはがん免疫分野への有用性に留まるものではない。B4は活性化T細胞のみならず、樹状細胞、マクロファージ、マスト細胞などのミエロイド系免疫細胞にも発現が認められていることから、本研究で得られる基礎データは、これらの免疫細胞が関わるアレルギーや自己免疫疾患などの様々な免疫関連疾患に新たな知見を与えるものと考えられる。

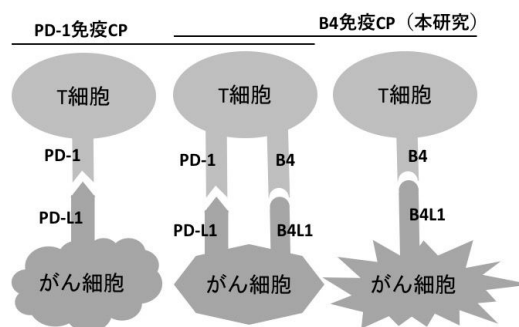


図2 PD-1免疫CPとB4免疫CP
PD-1免疫CPを標的とする既存の薬剤は、PD-L1陰性のがん細胞には効果を期待できない。B4免疫CPを標的とする薬剤を開発することで、PD-L1陰性のがん患者の治療が可能となる。

3. 研究の方法

本研究では、B4免疫CPを標的とする新規免疫CP阻害薬を開発するために、遺伝子ノックアウトマウスなどの実験動物を使用する研究(第一段階)と、がん患者由来検体をはじめとするヒト試料を使用する研究(第二段階)の二段階に分けた研究計画を設定した。第一段階と第二段階の研究は共に既に開始していたことから、両段階は並行して研究を進めることとし、2年目の2020年度内までには主要な特許申請を済ませ、3年目の2021年度中には臨床試験開始の目処を立てることを目標とした。

第一段階では、代表者らが既に取得しているB4免疫CP阻害薬の候補であるB4-B4L1結合阻害剤について、実験動物を用いて体内動態などの毒性や代謝に関する薬理データを収集するとともに、*in vitro*および*in vivo*での抗がん効果について検証をおこない、第二段階では、ヒト由来の試料を使用し、候補阻害薬がヒトの細胞を用いた場合でも実験動物と同様の効果が得られるかどうか検証し、さらには、がん患者由来の検体についてB4L1等の発現を解析すること

により、臨床試験における適応症例等について検討することを目標とした。

4. 研究成果

B4 遺伝子欠損マウス (gp49B^{-/-}マウス) は B4L1 陽性のルイス肺がん細胞に対する抗がん活性が高く (図 3) B4-B4L1 結合阻害剤である抗 gp49 抗体を担がんマウスに投与するとコントロール群に比べて有意な抗がん活性が得られることが判明した (図 4)。

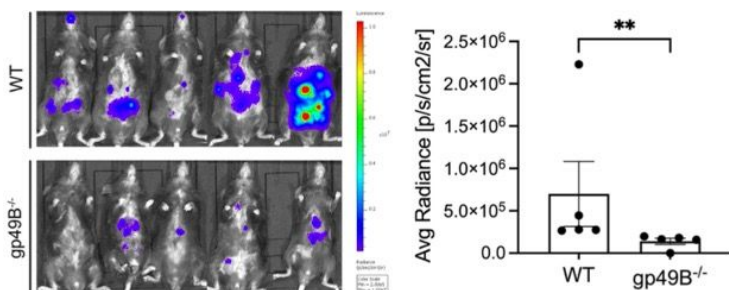


図3 B4遺伝子欠損マウス (gp49B^{-/-}マウス) における抗がん活性の増強
(左)Luciferase遺伝子を導入したルイス肺がん細胞を接種したgp49B^{-/-}マウスは野生型マウスに比べてがんの生着は弱くなっている。(右)左図のLuciferinの発光イメージングを定量化した図。

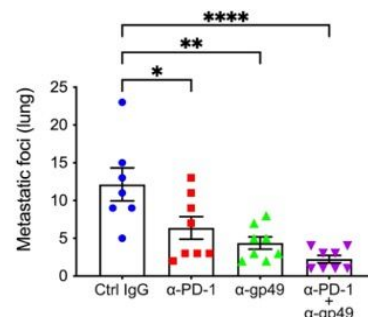


図4 抗gp49抗体による抗がん効果
担がんマウスにB4-B4L1阻害薬 (抗gp49抗体) を投与するとコントロール群 (Ctrl IgG) に比べて有意な抗がん効果を得られている。

2020 年度において、これまでの研究成果に関する特許申請を 2 件出願し (下記にリストを示す) これに引き続き学会発表および論文発表を準備していたが、免疫チェックポイント分子 CTLA-4 の研究でノーベル賞を受賞した James P. Allison らのグループが同年 9 月に研究代表者らの研究結果とほぼ同等の特許出願を公開 (優先権 2019 年 3 月 1 日) するとともに同内容の論文を発表した (Sharma N et al., J Exp Med 2021, 218: e20201811)。Allison らは受容体側 (B4) のみの解析を報告しており、我々は受容体の解析に加えて新規リガンド (B4L1) の発見とその解析をおこなっていたが、Allison らの報告によって大きく方針変更することを余儀なくされた。我々の特許権利化は可能ではあるが権利範囲をかなり限定せざるを得ないと考えられる。研究代表者らの論文については Allison らの発表と差別化するテーマとして新たなデータを取得して発表した (下記発表論文 1)。また、新規リガンド (B4L1) の発見に関する研究代表者らの論文発表 (下記発表論文 2) のわずか 2 ヶ月半あまり後になって、米国 NGM Bio 社らの研究グループが我々の発見した分子と全く同じ B4 の新規リガンド分子を発見したとする報告を発表した (Paavola KJ et al., Cancer Immunol Res 2021, 9: 1283)。同グループは同時に特許出願も行っており、その優先権が 2020 年 12 月 17 日であったが、研究代表者らの特許出願 (優先権 2019 年 8 月 13 日) が先であった。

Allison らおよび NGM Bio 社の動向により大きく方針を転換する必要が生じたが、現在、本研究計画当初の予定を大幅に変更して新規リガンド側からのアプローチと副作用に着目したアプローチに切り替えて研究を仕切り直したところである。

【特許出願】

- 「免疫チェックポイント阻害剤, 免疫チェックポイント関連疾患の治療剤, 免疫抑制剤, 抗フィブロネクチン抗体又はその誘導体, フィブロネクチン・アナログ, フィブロネクチンまたはその部分タンパク質を検出するためのキット, 及びフィブロネクチンまたはその部分タンパク質を検出する方法」. WO2021/0129318, 発明者: 高井俊行, 乾匡範, 蘇美慈, 遠藤章太, 出願人: 東北大学, 2020 年 8 月 19 日 PCT 出願 (優先権 2019 年 8 月 13 日)。
- 「抗ヒト免疫抑制性受容体 LILRB4 モノクローナル抗体又はその抗体断片, 免疫チェックポイント 阻害剤, 免疫チェックポイント関連疾患の治療剤及びヒト免疫抑制性受容体 LILRB4 の測定方法」. 特願 2021- 048355, 発明者: 高井俊行, 蘇美慈, 遠藤章太, 出願人: 東北大学, 2021 年 3 月 23 日出願。

【発表論文】

- Mei-Tzu Su, Sakiko Kumata, Shota Endo, Yoshinori Okada, and Toshiyuki Takai. LILRB4 promotes tumor metastasis by regulating MDSCs and inhibiting miR-1 family miRNAs. Oncoimmunology 11: 2060907 (2022). doi: 10.1080/2162402X.2022.2060907
- Mei-Tzu Su, Masanori Inui, Yi Li Wong, Maika Takahashi, Akiko Sugahara-Tobinai, Karin Ono, Shotaro Miyamoto, Keiichi Murakami, Ari Itoh-Nakadai, Dai Kezuka, So Itoi, Shota Endo, Kouyuki Hirayasu, Hisashi Arase, and Toshiyuki Takai. Blockade of checkpoint ILT3/LILRB4/gp49B binding to fibronectin ameliorates autoimmune disease in BXS^B/Yaa mice. Int. Immunol. 33: 447-458 (2021). doi: 10.1093/intimm/dxab028

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Su Mei-Tzu, Kumata Sakiko, Endo Shota, Okada Yoshinori, Takai Toshiyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 LILRB4 promotes tumor metastasis by regulating MDSCs and inhibiting miR-1 family miRNAs	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 OncoImmunology	6. 最初と最後の頁 2060907
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/2162402X.2022.2060907	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 Su Mei-Tzu, Inui Masanori, Wong Yi Li, Takahashi Maika, Sugahara-Tobinai Akiko, Ono Karin, Miyamoto Shotaro, Murakami Keiichi, Itoh-Nakadai Ari, Kezuka Dai, Itoi So, Endo Shota, Hirayasu Kouyuki, Arase Hisashi, Takai Toshiyuki	4. 巻 33
2. 論文標題 Blockade of checkpoint ILT3/LILRB4/gp49B binding to fibronectin ameliorates autoimmune disease in BXS <i>B</i> mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 447 ~ 458
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxab028	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 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 免疫チェックポイント阻害剤，免疫チェックポイント関連疾患の治療剤，免疫抑制剤，抗フィブロネクチン抗体又はその誘導体，フィブロネクチン・アナログ，フィブロネクチンまたは(省略)する方法	発明者 高井俊行，乾匡範， 蘇美慈，遠藤章太	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、W02021/0129318	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 抗ヒト免疫抑制性受容体 LILRB4 モノクローナル抗体又はその抗体断片，免疫チェックポイント 阻害剤，免疫チェックポイント関連疾患の治療剤及びヒト免疫抑制性受容体 LILRB4 の測定方法	発明者 高井俊行，蘇美慈， 遠藤章太	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願 2021-048355	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------