

令和 4 年 6 月 18 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08667

研究課題名(和文)トリプトファン代謝を標的とした肺癌免疫療法の検討

研究課題名(英文)analysis of lung cancer immunotherapy targeting tryptophan metabolism

研究代表者

近藤 征史 (Kondo, Masashi)

藤田医科大学・医学部・教授

研究者番号：00378077

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)：kynurenine aminotransferase 1 (KAT1)はトリプトファン代謝産物の一つである3-ヒドロキシキヌレニン(3-HKYN)をキサンツレン酸(XA)に代謝する酵素である。XAを投与すると腫瘍細胞の増殖が活性化される傾向があった。KAT1を特異的に阻害すると、腫瘍の増殖が抑制された。また、トリプトファン自体がKAT1阻害することを明らかにした。肺癌患者においては、肺腺癌組織におけるタンパク質及びmRNAにおいてKAT1の発現に差異があり、KAT1高発現群では、低発現群と比較して有意に生存率が低下していた。血清中キサンツレン酸低値群では、高値群と比較して抗癌剤の奏効率が高い傾向であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍免疫に、トリプトファンの代謝物が関与することが示し、その中で、キサンツレン酸とそれに関連した酵素であるkynurenine aminotransferase 1 (KAT1)の重要性を見出した。これら成果により、現在の免疫チェックポイント阻害剤の治療の向上を図るために、この酵素を標的とした新規の腫瘍免疫併用療法の可能性を示唆できた。それを臨床応用するために、臨床研究の立案に着手できた。

研究成果の概要(英文)：Kynurenine aminotransferase 1 (KAT1) is an enzyme that metabolizes 3-hydroxykynurenine, which is one of the tryptophan metabolites, to xanthurenic acid (XA). Administration of XA tended to activate tumor cell proliferation. Specific inhibition of KAT1 by the drug suppressed tumor growth. It was also clarified that tryptophan itself inhibits KAT1. In lung cancer patients, there was a difference in KAT1 expression in proteins and mRNAs in lung adenocarcinoma tissue, and the survival rate was significantly lower in the KAT1 high expression group than in the low expression group. The response rate of anticancer drugs tended to be higher in the low serum XA group than in the high serum group.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫療法の現状と課題

肺癌を含む多くの悪性腫瘍に対して、PD-1/PD-L1 抗体による免疫チェックポイント阻害剤による治療が、一定の治療成果をあげている。このことは、ヒトの腫瘍においても、免疫監視機構が機能しており、癌細胞は、それから逃れることにより増殖しており、腫瘍免疫の回復が癌の治療に応用できることを示している。しかしながら、約 80%の患者には、免疫チェックポイント阻害剤の効果は不十分であり、種々の療法の組み合わせなどにより、効果の高い免疫療法の開発が望まれる。また、長期の生存を予測する、臨床的に満足できる予測マーカーはない。

トリプトファン代謝産物のキヌレニンなどは、癌細胞の生存や増殖、運動性を促進するのに加えて、免疫細胞に抑制的に作用し、その生成に関与するインドールアミン 2,3-ジオキシゲナーゼ 1(IDO1)の阻害剤は、免疫チェックポイント阻害剤と併用が有望視されて、臨床試験が実施されたが、どのトリプトファン代謝産物が最も腫瘍免疫において重要かは依然として不明である。また、癌患者において、詳細な血液中トリプトファン代謝産物の濃度変化は不明であり、それらが免疫チェックポイント阻害剤の効果との関連は検討されていない。最近、慢性炎症モデルの PD-1 欠損のマウスにおけるメタボーム解析により、血中のトリプトファン、チロシン等のアミノ酸が減少し、神経系に作用して、不安や恐怖を生じることが報告された(Nature immunology 2017 coi:10.1038/ni.3867)。この現象は、活性化した T 細胞などの炎症細胞が、トリプトファン代謝物を過剰に消費したためと考えられている。これらのことより、トリプトファン代謝は、癌における PD1 阻害による炎症反応にも密接に関与する可能性が示唆される。

我々のグループは、IDO1 の下流のトリプトファン代謝酵素の阻害剤や、ノックアウトマウスで、抗腫瘍効果を検討している。今回の検討においては、ヒトにおいてもトリプトファン代謝物は、チェックポイント阻害剤との効果との関連性を検討する。腫瘍免疫に抑制的に作用している代謝物の生成を阻害することにより、チェックポイント阻害剤の効果を増強する併用療法の開発が可能となると考えた。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目的は、トリプトファン代謝物を軸にして、腫瘍免疫反応を阻害している分子を同定して(バイオマーカーの同定)、その生成を阻害する薬剤を開発する。この薬理、免疫学的な基盤の上で、免疫チェックポイント阻害剤の効果予測マーカーを検索して、免疫チェックポイント阻害剤のみでは効果が不十分で、トリプトファン代謝阻害剤との併用で効果が期待できる集団を同定して、新規の併用療法の開発につなげる(新規免疫併用療法の開発)を目標とする。

3. 研究の方法

(細胞株を用いた解析)

既に樹立に成功しているヒトの単球由来 iPS 細胞より、樹状細胞、マクロファージ、CD8 陽性 T 細胞に分化させて、培地のトリプトファン代謝物の測定や関連の酵素の発現を検討する。トリプトファンとの分化誘導に関しても検討した。

(臨床検体)

1. Kaplan-Meier Plotter を使用し、ヒト肺腺癌組織から抽出された KAT1 mRNA の発現レベルによる 5 年生存率の違いを解析した。

2. ヒト肺腺癌組織標本 (20 症例) を使用し、免疫組織化学染色 (抗 KAT1 抗体) を使用した腫瘍細胞および免疫細胞の KAT1 タンパクの発現量を解析した。

3. 肺腺癌患者 (ステージ 3 以上の 15 症例) より採取された血清を使用し、トリプトファン代謝産物 (HPLC で定量) と治療効果の関係を解析した。

4. 研究成果

(細胞株の検討)

我々が作成した iPS 細胞は、炎症細胞細胞に分化誘導させて、トリプトファン代謝酵素遺伝子の測定を試みた。また、KAT1 の阻害効果のある薬剤の影響を検討している。しかしながら、分化誘導が均一ではないため、一定の測定結果は得られなかった。iPS 細胞をリンパ球系細胞へ分化誘導するステップにおいて、トリプトファンを添加したところ、トリプトファン代謝関連の酵素遺伝子の発現量は Control と比べて増加していたが、興味深いことに 100 μ M 添加よりも 10 μ M 添加の方が遺伝子の発現量の増加は多いという傾向が観察された。

(臨床検体)

データベースに登録されている肺腺癌患者 719 名について、KAT1 mRNA の発現量と 5 年生存率の関係を調査したところ、KAT1 高発現群では、低発現群と比較して有意に生存率が低下していた (図 1)。次に、肺腺癌組織における KAT1 タンパクの発現量を確認したところ、mRNA 量と同様にタンパク量においても高発現群と低発現群が存在することを確認した (図 2)。

とりわけ、腫瘍細胞の KAT1 タンパク発現量は病期を問わず一定の発現量であったが、腫瘍組織周囲に浸潤した免疫細胞では、異なるタンパク発現量を示した。

KAT1はトリプトファン代謝産物の一つである3-ヒドロキシキヌレニンをキサンツレン酸に代謝する酵素である。そこで、肺腺癌患者の診断時に採取した血清中3-ヒドロキシキヌレニンおよびキサンツレン酸量を解析したところ、症例により代謝産物量が異なっていた(図3)。

次に、血清中キサンツレン酸量を中央値で2群に分け、肺腺癌の標準的治療法後(全例PD-1抗体使用)の治療効果を比較した(図4)。血清中キサンツレン酸低値群では、高値群と比較して治療奏効率が高い傾向であった。さらに、治療前後の血清中キサンツレン酸量に注目すると、PD/SD症例7例中5例で治療後のキサンツレン酸量が治療前より増加していたのに対し、CR/PR症例では4例中1例のみが増加していた。したがって、血清中キサンツレン酸量は肺腺癌症例において、PD-1療法の効果予測マーカーと成り得ることやその制御はPD-1と独立した治療標的に成り得ることが期待された。

(キヌレニン代謝産物の検討)

IDO1下流の酵素でキヌレニンを代謝する酵素群の解析を行った。その一つであり Kynurenine 3-monooxygenase (KMO)に注目して、Kynurenine 3-monooxygenase(KMO)の遺伝子欠損マウス(KMOKO)を使用して、腫瘍肺転移モデルを作成した。このマウスにおいては、高キヌレニン血症を生じ、移植した複数種の腫瘍細胞の増殖を抑制していた。さらに、KMOKOマウスにキヌレニン代謝産物である3-ヒドロキシキヌレニン(3-HK)やキサンツレン酸(XA)を投与すると腫瘍細胞の増殖が活性化される傾向があった。これらの結果は、キヌレニン以外の代謝物の制御が、腫瘍の増殖に影響することを示唆していた。さらに、XAを生成するKAT1を阻害すると腫瘍の増殖が抑制されることを明らかにした。また、トリプトファン自体もKAT1阻害していた。従って、トリプトファンの併用投与により、免疫チェックポイント阻害剤の抗悪性腫瘍薬効果を増強させることが期待された。その検証のために、健常人を対象として、トリプトファン投与する特定臨床試験を立案し、トリプトファン投与によるXAなどのトリプトファン代謝産物の変化を詳細に検討する予定である。

図1

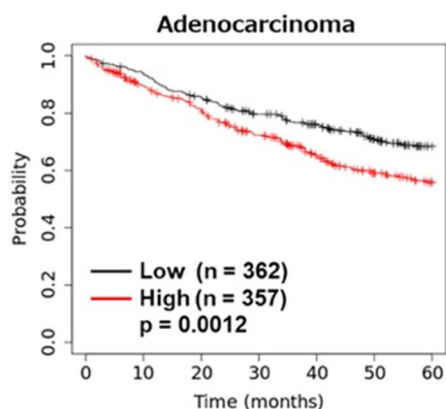
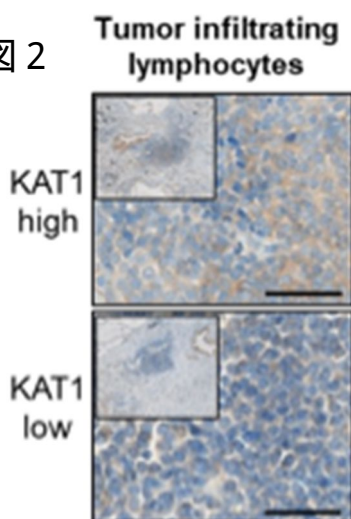
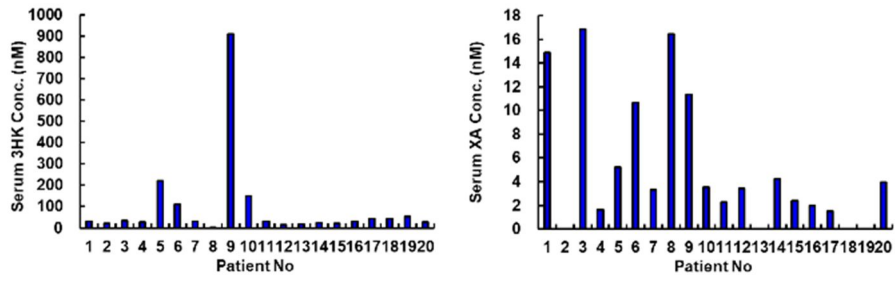


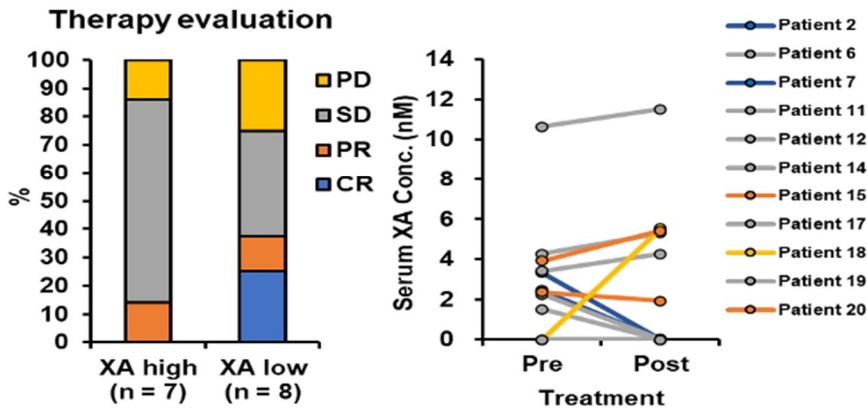
図2



3



4



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名 Hiramatsu Noriko, Yamamoto Naoki, Isogai Sumito, Onouchi Takanori, Hirayama Masaya, Maeda Shingo, Ina Takuma, Kondo Masashi, Imaizumi Kazuyoshi | 4. 巻 53 |
| 2. 論文標題 An analysis of monocytes and dendritic cells differentiated from human peripheral blood monocyte-derived induced pluripotent stem cells | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology | 6. 最初と最後の頁 63～72 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-019-00231-8 | 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 Tashita Chieko, Hoshi Masato, Hirata Akihiro, Nakamoto Kentaro, Ando Tatsuya, Hattori Takayuki, Yamamoto Yasuko, Tezuka Hiroyuki, Tomita Hiroyuki, Hara Akira, Saito Kuniaki | 4. 巻 26 |
| 2. 論文標題 Kynurenine plays an immunosuppressive role in 2,4,6-trinitrobenzene sulfate-induced colitis in mice | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 World Journal of Gastroenterology | 6. 最初と最後の頁 918～932 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3748/wjg.v26.i9.918 | 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 Hiramatsu N, Yamamoto N, Isogai S, Onouchi T, Hirayama M, Maeda S, Ina T, Kondo M, Imaizumi K. | 4. 巻 - |
| 2. 論文標題 An Analysis of Monocytes and Dendritic Cells Differentiated From Human Peripheral Blood Monocyte-Derived Induced Pluripotent Stem Cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Med Mol Morphol. | 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） 10.1007/s00795-019-00231-8. | 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 Hiramatsu Noriko, Yamamoto Naoki, Isogai Sumito, Onouchi Takanori, Hirayama Masaya, Maeda Shingo, Ina Takuma, Kondo Masashi, Imaizumi Kazuyoshi | 4. 巻 53 |
| 2. 論文標題 An analysis of monocytes and dendritic cells differentiated from human peripheral blood monocyte-derived induced pluripotent stem cells | 5. 発行年 2019年 |
| 3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology | 6. 最初と最後の頁 63～72 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00795-019-00231-8 | 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 Morita Nanaka, Hoshi Masato, Hara Takeshi, Ninomiya Soranobu, Enoki Taisuke, Yoneda Misao, Tsurumi Hisashi, Saito Kuniaki | 4. 巻 22 |
| 2. 論文標題 Viability of diffuse large B-cell lymphoma cells is regulated by kynurenine 3-monooxygenase activity | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Oncology Letters | 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) 10.3892/ol.2021.13051 | 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 |
|-------|---|--|----|
| 研究分担者 | 山本 直樹 (Yamamoto Naoki) (00267957) | 藤田医科大学・共同利用研究設備サポートセンター・准教授 (33916) | |
| 研究分担者 | 星 雅人 (Hoshi Masasto) (40633996) | 藤田医科大学・保健学研究科・講師 (33916) | |
| 研究分担者 | 今泉 和良 (Imaizumi Kazuyoshi) (50362257) | 藤田医科大学・医学部・教授 (33916) | |
| 研究分担者 | 佐藤 光夫 (Sato Mistuo) (70467281) | 名古屋大学・医学系研究科(保健)・教授 (13901) | |

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|