

令和 3 年 5 月 11 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16713

研究課題名(和文) 間葉系幹細胞の腫瘍局所残存性を利用した新規抗がん免疫療法の確立

研究課題名(英文) A novel immunotherapy by injection of CCL19-expressing mesenchymal stem cells

研究代表者

飯田 雄一 (IIDA, YUICHI)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：50734985

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)：免疫チェックポイント阻害療法は、細胞傷害性T細胞のブレーキ機能を解除し、本来の機能を発揮させようとする画期的な治療法である一方で、高くても2-3割程度の患者さんでしか効果を示さないのが課題である。我々は本研究で、ケモカインCCL19を発現する間葉系細胞(MSC/CCL19)をマウスから作製し、腫瘍局所へ投与することで、免疫チェックポイント阻害療法の奏効率を改善することを示しました。MSC/CCL19の局所投与は、腫瘍内のCD45陽性F4/80陰性CCR7陽性CD11c陽性細胞を増加させ、さらに、活性化した細胞傷害性T細胞を増加させて抗腫瘍効果に働いていることが明らかになりました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で我々は、担がんマウスモデルを用いてMSC/CCL19局所投与の抗腫瘍効果を検討した。マウス大腸がん細胞CT26担がんマウスモデルにおいて、MSC/CCL19の局所投与は顕著な腫瘍退縮効果を認め、免疫チェックポイント阻害療法の奏効率を相乗的に改善することを示した。間葉系幹細胞は、ヒト臍帯血や骨髄、脂肪組織などからも容易に単離できることが報告されており、ヒトへの応用が期待される。また、腫瘍内におけるケモカインCCL19の持続的な産生は、抗腫瘍効果に重要であることも示された。このメカニズム解明は、予後予測をはじめ臨床研究へフィードバックできると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we investigated the anti-tumor effects induced by iMSC/CCL19 local therapy. This therapy can effectively recruit T cells and DC into tumor sites via continuous production of CCL19 at the tumor microenvironment. iMSC/CCL19 local therapy augmented the anti-tumor effects of anti-PD-L1 antibody therapy. Given that anti-tumor effects by anti-PD or anti-PD-L1 antibody therapy essentially require the presence of anti-tumor T cells in the tumor sites, local therapy with iMSC/CCL19 is therapeutically meaningful. Our findings indicate that local manipulation is an efficient strategy to elicit anti-tumor immunity in tumor-bearing hosts.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：がん免疫療法 間葉系幹細胞 ケモカインCCL19 免疫チェックポイント阻害療法

1. 研究開始当初の背景

腫瘍を取り巻く微小環境では、様々な抗がん免疫応答の機能低下が生じている。特に、樹状細胞の抗原提示能の低下と腫瘍特異的な細胞傷害性 T リンパ球 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) の局所への集積性の低下が大きな問題である。この問題を解決するべく我々は、成熟した樹状細胞、T 細胞のリクルートに関わるケモカイン CCL19 遺伝子を導入したマウス間葉系幹細胞 (mesenchymal stem cell: MSC) を樹立した (MSC/CCL19)。さらに、マウス大腸がん細胞である CT26 と、樹立した MSC/CCL19 をマウス皮下組織に同時移植した実験において、顕著な腫瘍増殖抑制効果が確認された。MSC/CCL19 には EGFP 遺伝子を導入しており、PCR 法によって内在細胞と区別可能である。MSC/CCL19 は CCL19 発現マウス線維芽細胞 (Fib/CCL19) と比較して腫瘍内での残存性が高く、このことが持続的な抗がん効果の背景となる機序であることが示唆された。本研究では、MSC/CCL19 の抗がん効果を担がんモデルマウスで検討し、さらに免疫チェックポイント阻害療法との複合免疫療法の可能性を探索したい。

2. 研究の目的

これまでの MSC を用いたがん治療研究のほとんどが、ヒト MSC を用いたマウスへの異種移植治療モデルであり、レシピエントは T 細胞および B 細胞が欠損しているヌードまたは SCID マウスである。抗がん免疫応答は、樹状細胞からヘルパー T 細胞や CTL への抗原提示、腫瘍特異的 CTL の活性化といった担がん宿主の免疫応答が重要であるにも関わらず、既報論文ではヌードや SCID といった免疫不全マウスを使用しているため、抗がん T 細胞応答が無視された治療モデルとなっている。本研究では、マウス骨髄から単離し、遺伝子導入を行った MSC を担がんマウスへ移植するため、抗がん T 細胞応答を検討できる系となっており、ヒトがん患者を模倣した新規がん治療モデルと言える。抗がん治療を目的とした MSC/CCL19 移入療法は、移入した MSC の腫瘍局所への集積、MSC の CCL19 産生、樹状細胞、抗がん特異的 T リンパ球の局所への遊走により抗がん免疫が活性化されることが期待される。

3. 研究の方法

BALB/c マウス骨髄より PDGFR α 陽性 Sca-1 陽性 MSC を単離し、レトロウイルスベクターにより CCL19 遺伝子を導入した。ELISA により、CCL19 の産生をそれぞれ確認した。次に、MSC の腫瘍残存性を調べるために、マウス大腸がん細胞 CT26 および MSC/CCL19 を BALB/c マウスに皮下接種し、経時的に PCR にて MSC の腫瘍残存性を確認した。治療モデルでは、CT26 を皮下接種して 14, 16 日後に MSC/CCL19 の局所投与を行い、腫瘍サイズを計測した。また、腫瘍退縮が見られたタイミングでフローサイトメトリーを用いて腫瘍浸潤リンパ球の解析を行った。さらに、MSC/CCL19 局所投与と抗 PD-L1 抗体の抗腫瘍効果を CT26 担がんマウスを用いて検討した。

4 . 研究成果

PCR 解析で MSC の腫瘍残存性を経時的に確認したところ、MSC/CCL19 は少なくとも 20 日間腫瘍内に残存していることが明らかになった。一方で、比較対象として用いた線維芽細胞は、12~16 日程度の残存であった。CT26 担がんマウスの治療モデルでは、腫瘍接種後 14,16 日後に MSC/CCL19 を局所投与した 6 匹中 2 匹のマウスで腫瘍の拒絶を認めた。腫瘍組織の免疫染色を行ったところ、MSC/CCL19 投与後の腫瘍内には CD4 陽性細胞、CD11c 陽性細胞が顕著に増加していることが確認され、フローサイトメトリーを用いた腫瘍浸潤リンパ球の解析では、CD45 陽性 F4/80 陰性 CD11c 陽性細胞および IFN 陽性 CD8T 細胞の顕著な増加が観察された。CCL19 のレセプターである CCR7 陽性 CD11c 陽性細胞の増加も確認された。MSC による腫瘍組織での持続的な CCL19 産生は CD11c 陽性樹状細胞様細胞を集積させ、CD8T 細胞の活性化に参与していることが示唆された。一方で、IFN および TNF 陽性 CD4T 細胞割合に変化がなかったことから、樹状細胞様細胞の CD8T 細胞活性化は、腫瘍組織内ではなく、リンパ節を介していると考えられる。さらに、MSC/CCL19 局所投与および抗 PD-L1 抗体による治療群において、6 匹中 5 匹のマウスで腫瘍の拒絶を認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0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 Iida Yuichi, Yoshikawa Rintaro, Murata Akihiko, Kotani Hitoshi, Kazuki Yasuhiro, Oshimura Mitsuo, Matsuzaki Yumi, Harada Mamoru	4. 巻 8
2. 論文標題 Local injection of CCL19-expressing mesenchymal stem cells augments the therapeutic efficacy of anti-PD-L1 antibody by promoting infiltration of immune cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal for ImmunoTherapy of Cancer	6. 最初と最後の頁 e000582 ~ e000582
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/jitc-2020-000582	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 飯田雄一、吉川倫太郎、村田暁彦、小谷仁司、松崎有未、原田守
2. 発表標題 CCL19発現間葉系細胞の局所投与は抗PD-L1抗体の腫瘍抑制効果を増強する
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 飯田雄一、吉川倫太郎、村田暁彦、小谷仁司、松崎有未、原田守
2. 発表標題 Local deliver of CCL19-expressing mesenchymal stromal cells augments the therapeutic efficacy by anti-PD-L1 blockade antibody via promoting infiltration of immune cells
3. 学会等名 第48回日本免疫学会総会
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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