

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：84409

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16850

研究課題名（和文）獲得免疫起動抑制機構の解明と抗体による制御法の開発

研究課題名（英文）Regulation of immune initiation checkpoint by antibody

研究代表者

溝手 雄（Mizote, Yu）

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪国際がんセンター（研究所）・その他部局等・がん創薬部研究員

研究者番号：70801497

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）：本研究はがん免疫療法の新たな標的候補としてMFG-E8の可能性を示した。MFG-E8非存在下では、マウスに皮下移植した腫瘍細胞の増殖が抑えられ、さらに既存の免疫チェックポイント阻害剤である抗PD-1抗体の効果を増強した。この抗PD-1抗体治療効果の増強作用は、抗MFG-E8抗体との投与によっても再現できたため、抗MFG-E8抗体は抗PD-1抗体の有効な併用薬の候補になり得る。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんに対する免疫の抑制を解除する免疫チェックポイント阻害剤（ICI）の臨床開発成功により、がん免疫療法が標準治療体系に組み込まれつつある。一方で臨床現場での知見を基に効果のない症例に対する新たな治療法の開発が基礎研究に求められている。

本研究結果は、既存のICIである抗CTLA-4抗体や抗PD-1抗体とは異なる作用機序で免疫抑制を解除しており、これまで効果の得られなかった症例に対して治療効果を得られる可能性を示唆している。

研究成果の概要（英文）：This study showed the potential of MFG-E8 as a novel target for cancer immunotherapy. In the absence of MFG-E8, the growth of tumor cells subcutaneously transplanted into mice was suppressed, and the effect of the conventional immune checkpoint inhibitor, anti-PD-1 antibody was enhanced. Since this potentiating effect of the anti-PD-1 antibody therapeutic effect could be reproduced by administration with the anti-MFG-E8 antibody. These results suggested that MFG-E8 can be a candidate for an effective concomitant drug of the anti-PD-1 antibody.

研究分野：がん免疫

キーワード：がん免疫 抗原提示 免疫チェックポイント

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitor; ICI) は 2010 年にメラノーマを対象とした抗 CTLA-4 抗体の第 Ⅲ 相臨床試験の結果が報告されたのを皮切りに様々な臨床試験の結果が報告され、がんによる免疫抑制機構の強力さが明らかとなった。しかし一部の症例で目覚しい効果を示した一方で効果の無かった症例も存在した。我々のグループは以前より免疫抑制機構の解除を目指し、獲得免疫機構の始動起点を制御し得る Milk fat globule-epidermal growth factor-factor 8 (MFG-E8)を標的とした抗体療法の開発を進めてきた。MFG-E8 は 1990 年に乳腺上皮細胞の細胞表面分子として同定され、後にアポトーシス細胞表面上に露出したホスファチジルセリン (PtdSer) と、抗原提示細胞上の  $\alpha_3\beta_5$  インテグリンとを架橋して貪食作用を促進するオプソニンとして機能することが知られている。しかし MFG-E8 が腫瘍微小環境に与える影響には未だ十分に解明されていない点が存在し、製薬化には至っていない。

### 2. 研究の目的

腫瘍微小環境において免疫寛容を引き起こす MFG-E8 の主な産生源が腫瘍細胞そのものなのか、それとも非腫瘍細胞なのかは不明であり、作用機序に未解明な部分が存在する。本研究では MFG-E8 が腫瘍に与える影響を明らかとし、さらには中和抗体による既存の ICI との併用の有効性を検証する。

### 3. 研究の方法

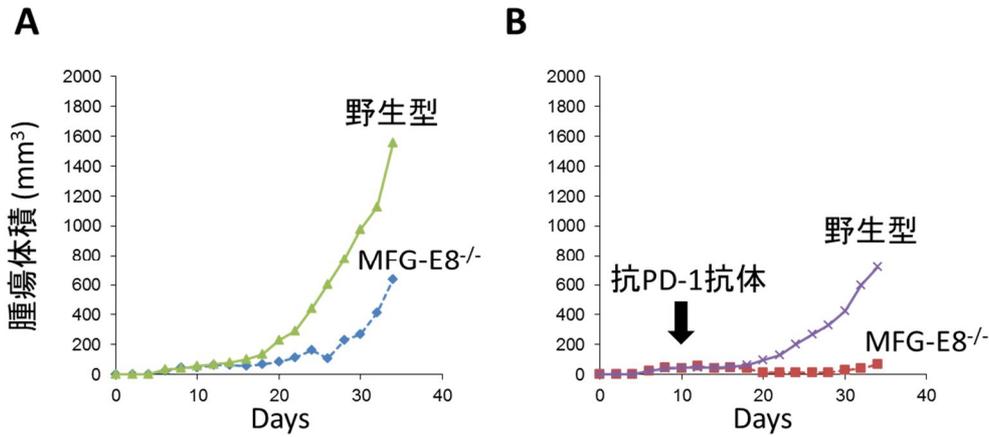
マウス線維肉腫細胞株 MCA205 を用いた皮下腫瘍担癌モデルを作製し、*in vivo* での検討を行った。野生型 C57BL/6、*Mfge8* 遺伝子ノックアウト (MFG-E8<sup>-/-</sup>) マウスに移植し腫瘍増殖を測定することで、宿主あるいはがん細胞が発現する MFG-E8 が腫瘍増悪に与える影響、並びにその際の免疫応答の関与を明らかとした。加えて抗 PD-1 抗体投与による治療効果の変化を計測した。さらに MFG-E8<sup>-/-</sup> マウスで観察された結果を、抗 MFG-E8 中和抗体によって再現できるかを試験し、抗 PD-1 抗体との併用療法の可能性を探索した。

### 4. 研究成果

(1) MCA205 皮下腫瘍モデルを作製し、野生型 C57BL/6 と MFG-E8<sup>-/-</sup> マウスにおける腫瘍増殖の比較を行った。驚くべきことに MFG-E8<sup>-/-</sup> マウスにおいて、無治療であるにもかかわらずすべての個体で腫瘍の一時的な自然縮小が見られ、腫瘍増殖の抑制が観察された (図 1 A)。この腫瘍増殖抑制効果は中和抗体を用いた T 細胞除去試験によって、CD8 陽性 T 細胞によるものであることが明らかとなった。尚、MCA205 細胞そのものは MFG-E8 を恒常的に産生・分泌していた。この事実は、腫瘍そのものが産生する MFG-E8 の有無に関わらず、宿主における MFG-E8 の存在が獲得免疫応答誘導を制限しており、腫瘍微小環境にて MFG-E8 が存在しなければ CD8 陽性 T 細胞を主とする強い獲得免疫応答が誘導されることを示唆している。

MFG-E8 と同様に PtdSer を認識し、抗原提示細胞上の受容体と結合してオプソニンとして機能する分泌タンパク 2-glycoprotein 1 (2-GP1) 並びに Growth arrest-specific 6 (Gas6) の KO マウスに担癌し腫瘍増殖を測定した結果がそれぞれ報告されている。前者は分子の機能として抗血管新生に働くことが知られており、メラノーマ細胞株 B16F10 皮下移植モデルの腫瘍移植 16 日後において 2-GP1<sup>-/-</sup> マウスは野生型と比べて腫瘍重量が有意に大きかった (Passam FH et al., J Autoimmun. 2010)。一方後者は MFG-E8 と同様、受容体を介してアポトーシス細胞を貪食したマクロファージが M2 型へ極性化が進むことが知られている。大腸がん細胞株 CT26、膵臓がん細胞株 Panc02、胸腺腫細胞株 EL4 をそれぞれ皮下移植したモデルにおいて Gas6<sup>-/-</sup> マウスは野生型と比較して何れの細胞株でも腫瘍増殖速度の低下が観察された (Loges S et al., Blood 2010)。しかしマウス系統や移植細胞株の差異はあれど、MFG-E8<sup>-/-</sup> マウスで観察された腫瘍の一時的な縮小は観察されていない。このことから MFG-E8 は、PtdSer に対するオプソニンの中でも獲得免疫応答起動の制御に重要な役割を担っており、有効な標的となり得る考えられる。

さらに、抗 PD-1 抗体を投与することで、より強い腫瘍退縮効果を示した (図 1 B)。これは MFG-E8<sup>-/-</sup> マウスにおいて、活性化した抗腫瘍 CD8 陽性 T 細胞がより増加したため、活性化と共に PD-1 分子が発現上昇した抗腫瘍 CD8 陽性 T 細胞もまた増加したと予想される。

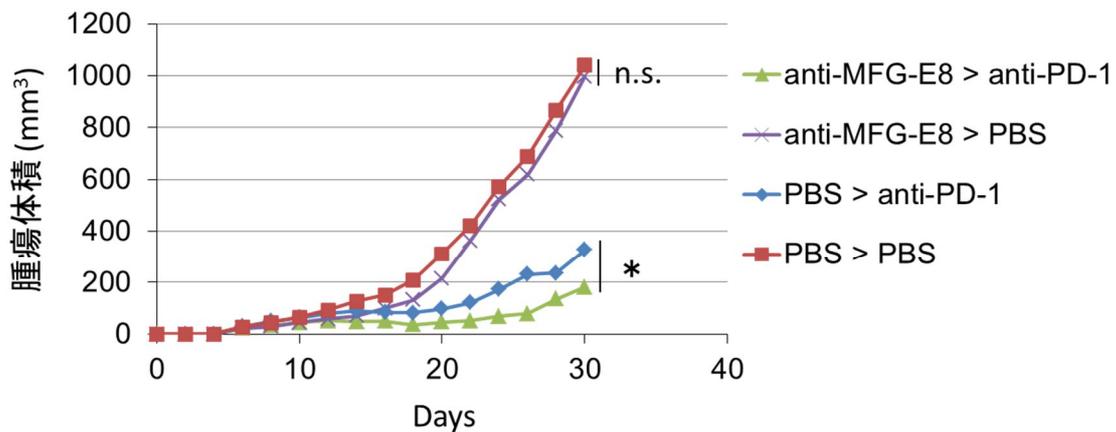


**図1: MFG-E8<sup>-/-</sup>マウスにおける腫瘍増殖抑制と抗PD-1抗体治療効果の増強**

加えて、抗 PD-1 抗体療法を受けた非小細胞肺癌症例の治療前血漿中 MFG-E8 濃度を測定したところ、抗 PD-1 抗体療法に効果を示した群において有意に量が少なかった。

これらのことから、基底状態での MFG-E8 の産生量が、獲得免疫応答誘導に影響することが示唆された。また、治療開始時の血中 MFG-E8 量が、抗 PD-1 抗体治療のバイオマーカーとなる可能性を示唆している。

( 2 ) 野生型マウスに抗 MFG-E8 中和抗体を事前に投与しておき、そこへ MCA205 を移植することで、( 1 ) の MFG-E8<sup>-/-</sup>マウスにおいて観察された抗腫瘍効果が再現できるか否かを検証した。その結果、抗 MFG-E8 抗体を事前投与しておくことによって、併用した抗 PD-1 抗体の治療効果を増強させることに成功した。このことは、抗 MFG-E8 抗体が既存の ICI の有用な併用薬候補になり得ることを示唆している。



**図2: 抗MFG-E8抗体併用投与による抗PD-1抗体治療効果の増強**

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