

令和 4 年 6 月 22 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18101

研究課題名(和文) XCR1陽性樹状細胞による革新的新規がんワクチン療法

研究課題名(英文) Innovative novel cancer vaccine therapy with XCR1 positive dendritic cells

研究代表者

水本 有紀 (Mizumoto, Yuki)

和歌山県立医科大学・医学部・学内助教

研究者番号：60596980

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)：がん免疫療法において効率よく細胞傷害性T細胞(CTL)を誘導することは非常に重要である。そこで、CTL誘導能の高いXCR+樹状細胞への抗原送達と活性化を同時に行うため、がん抗原を生体内で特異的にXCR1+樹状細胞に送達させて効率的にCTLを誘導するとともに、アジュバントであるpoly(I:C)の作用を検討した。CTLの効率的な誘導を認める一方で、樹状細胞での免疫チェックポイント分子の発現を認めた。このがんワクチンを用いることで、特異的に抗原を樹状細胞に送達させるシステムの重要性和、かつ免疫チェックポイント阻害剤の併用することでより強い抗がん作用をもたらす可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、がん免疫療法で重要となるCTLを生体内で効率的に誘導するシステムとして、XCR1+樹状細胞へのがん抗原の特異的な送達が重要であること、またアジュバント併用による免疫チェックポイント分子の発現から、がんペプチドワクチン療法と免疫チェックポイント阻害剤との併用の有用性が示唆された。マウス実験の結果をヒトへ応用するにあたり、実際的な副作用の発現の有無の検討などの課題があるが、今後のがん免疫療法に対する基礎的なデータが得られたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：XCR+ dendritic cells are professional antigen presenting cells with high CTL-inducing ability. To induce suitable antigen specific immune responses via dendritic cells, simultaneous treatment of antigen and adjuvant is quite important. We have prepared XCL1-peptide vaccine in which XCL1, a ligand for chemokine receptor XCR1, is fused with a cancer antigen peptide. Treatment of XCL1-peptide vaccine with adjuvant (poly(I:C)) could strongly induce antigen specific CTL in mice. When dendritic cells were stimulated with XCL1-peptide vaccine and poly(I:C), immune checkpoint molecules were induced along with activation of dendritic cells. These results suggest that this vaccine can efficiently induce anti-cancer CTLs in combination with immune checkpoint inhibitors.

研究分野：消化器外科

キーワード：がんワクチン 樹状細胞 CTL 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

がん免疫療法では、がん細胞を直接攻撃する細胞傷害性 T 細胞(cytotoxic T cell: CTL)の「質」と「量」が重要となる。近年、CTL の質を改善する免疫チェックポイント阻害療法(immune checkpoint inhibitor: ICI)が確立され臨床応用されているが、生体内でがん特異的 CTL の量的な誘導がない患者では ICI は無効とされ、患者生体内の CTL を誘導する工夫が求められる。これまでに、がんに対する特異的 CTL を誘導し、がんへの攻撃性を高める治療戦略として、がんペプチドワクチンを開発してきたが、その生存期間延長効果は限定的で、現在までに創薬に至っていない。しかし、その開発過程において、効率的ながん特異的 CTL 誘導には、がんワクチン抗原が抗原提示能力の高い樹状細胞に送達されていること、また、その樹状細胞が免疫アジュバントなどにより十分成熟化していることが重要であることが明らかとなってきた。

樹状細胞は不均一な集団であり、特徴的な機能を示す様々なサブセット(亜集団)からなる。その中には、免疫応答を活性化させるサブセットばかりでなく、逆にブレーキをかける機能を持ったサブセットも存在する。前者としては、ケモカイン受容体 XCR1 を発現する樹状細胞サブセット(XCR1+樹状細胞)が知られ、マウスでもヒトでも強力な CTL 誘導活性を示す。また、XCR1+樹状細胞は、他の樹状細胞サブセットと比べ Toll-like receptor (TLR)3 を高く発現しており、TLR3 agonist である poly(I:C)が XCR1+樹状細胞を成熟化させる理想的なアジュバントとなる。

従来のがんペプチドワクチン療法では、投与したワクチン抗原(ペプチド)が生体内で様々な抗原提示細胞に取り込まれるため、効率よく CTL が誘導されていなかった。我々は、がん抗原を XCR1+樹状細胞へ特異的に送達させるがんワクチンを開発するために、がん抗原ペプチドを XCR1 の特異的リガンドであるケモカイン XCL1 に連結させた XCL1-がん抗原ワクチンを作製し、マウスを用いてその効果の検討を行った。その結果、XCL1-がん抗原ワクチン投与により効率的に抗原を XCR1+樹状細胞に送達させ、抗原特異的 CTL が誘導できることを見いだした(Mizumoto et al. Br J Cancer)。一方で、ワクチンと同時に投与するアジュバントは、樹状細胞以外の細胞にも作用することで予期せぬ副作用を引き起こすことが懸念される。そこで、併用投与するアジュバントも生体内で標的樹状細胞に選択的に送達されれば全身的な副作用も軽減されるのではと考えた。すなわち、XCL1 とがん抗原とアジュバントを連結させたワクチンを開発することで、生体内で抗原を XCR1+樹状細胞特異的に抗原を送達させるとともに活性化させ、軽微な副作用で極めて効率よく簡便にがん特異的 CTL が誘導される画期的な新規がんワクチンが開発できると考えた。

2. 研究の目的

われわれは、がんペプチドワクチン療法や樹状細胞を用いたがんワクチン療法を以前より研究し、報告している(Matsuda K et al, Cancer Immunology Immunotherapy, 2004, Yamaue H et al, Cancer Science, 2015, Miyazawa M et al, Int J Cancer, 2017)。しかしながら、従来のがんワクチン療法では、生体内における CTL の誘導能が弱く、抗がん効果が限定的なものであった。そのため、免疫療法による抗がん効果を増強するためには、がんへの攻撃性が高く「質」の良い CTL をこれまで以上に効率よく誘導することが重要であると考え、その開発を目的とした。さらになんワクチンが十分効果を発揮するにはアジュバントの働きが重要であるが、アジュバントの投与による副作用が懸念される。そこで抗原を選択的に送達するとともにアジュバント投与による副作用の軽減を狙ったワクチンの開発を目指すこととした。

3. 研究の方法

(1) われわれはすでに「XCL1-がんペプチド-FLAG」の配列を含む発現ベクターを作製済みであり、これを用いてXCL1-がんペプチドワクチンをFLAGtagにより精製する手法を確立している。このワクチンを大量精製し、アジュバントのpoly(I:C)にチオール修飾(RS-H)を行い、XCL1のアミノ基(R-NH₂)と架橋させてXCL1-OT-1-poly(I:C)連結ワクチンの作製を試みた。

(2) poly(I:C)がXCR1+樹状細胞選択的に送達された際に発現誘導されると考えられる免疫チェックポイント分子について、その発現を検討した。マウス骨髄細胞をFlt3リガンド(Flt3L)存在下で培養し樹状細胞を誘導した。誘導された樹状細胞に、XCL1-がんペプチドワクチンとpoly(I:C)とを添加し、一定時間培養する。この条件では樹状細胞特異的にXCL1-がんペプチドワクチンとpoly(I:C)が作用する環境を模していると考えられる。そしてXCR1+樹状細胞における免疫チェックポイント分子の発現をフローサイトメトリーにて検討した。

(3) XCL1-がんペプチドワクチンをXCR1+樹状細胞に特異的に送達させる重要性について明らかにするために、XCR1以外のケモカイン受容体を用いてXCR1+樹状細胞以外の細胞に抗原を送達させた際の抗原特異的CTLの誘導を検討した。XCR1とは結合せず、XCR1+樹状細胞以外の抗原提示細胞に発現しているケモカイン受容体CX3CL1のリガンドであるケモカインCX3CL1と、がんペプチド(モデル抗原としてOvalbumin由来MHC class I拘束性ペプチド(OT-1))を連結させたCX3CL1-がんペプチドワクチンを作製・精製し、XCL1-がんペプチドワクチンとの比較を行った。誘導された抗原特異的CTLについてはOVA tetramer または抗原刺激によるIFN- γ 産生をフローサイトメトリーで評価した。

4. 研究成果

(1) がんペプチドとしてモデル抗原であるOvalbumin由来MHC class I拘束性ペプチド(OT-1)を含む「XCL-がんペプチド」ワクチンを精製した。さらにpoly(I:C)と「XCL-がんペプチド」とを架橋させるため、poly(I:C)のチオール修飾(RS-H)を行った。XCL1のアミノ基(R-NH₂)と架橋させることを試みた。しかし、Western blottingでの検出ができず、作製の手技が確立できなかった。

(2) 骨髄より誘導されたXCR1+樹状細胞を、各種濃度のXCL1-OT-1ワクチンおよびpoly(I:C)50 μ g/mlの存在下で培養し、XCR1+樹状細胞での免疫チェックポイント分子および樹状細胞の活性化マーカーであるCD40の発現を検討した(図1)。いずれの分子についてもpoly(I:C)のみもしくはXCL1-OT-1存在下でもその発現が上昇しており、抗PD-1抗体や抗PD-L1,抗PD-L2抗体といった免疫チェックポイント阻害剤の効果が期待できると考えられた。

(3) XCL1-OT-1ワクチンと比較して、XCR1に結合しないCX3CL1-OT-1ワクチンでは抗原特異的CTLの誘導がみられなかった(図2)。このことからXCL1を介してXCR1+樹状細胞特異的にがん抗原を送達させることがCTL誘導に重要であることが示唆された。

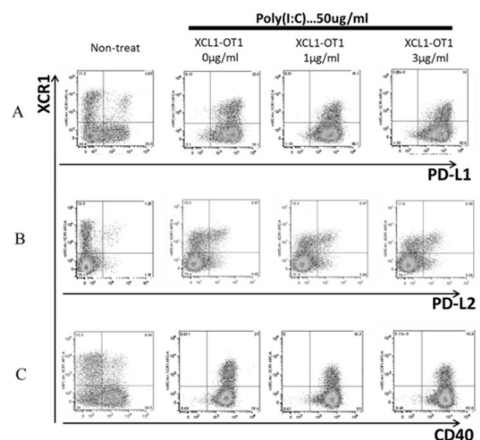


図1. XCR1+樹状細胞における免疫チェックポイント分子の発現。樹状細胞をXCL1-OT-1およびpoly(I:C)で刺激し細胞表面上の分子の発現を検討した。A.PD-L1, B.PD-L2, C.CD40

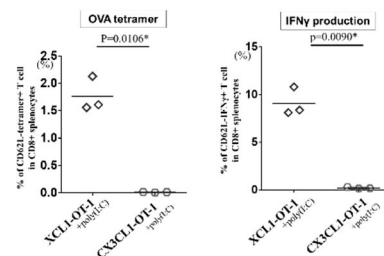


図2. XCR1以外の抗原提示細胞による抗原特異的CTL誘導の検討

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mizumoto Yuki, Hemmi Hiroaki, Katsuda Masahiro, Miyazawa Motoki, Kitahata Yuji, Miyamoto Atsushi, Ojima Toshiyasu, Matsuda Kenji, Tamada Koji, Yamaue Hiroki, Kaisho Tsuneyasu	4. 巻 122
2. 論文標題 Anticancer effects of chemokine-directed antigen delivery to a cross-presenting dendritic cell subset with immune checkpoint blockade	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1185-1193
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41416-020-0757-2	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 Mizumoto Y, Yokoyama S, Matsuda K, Iwamoto H, Mitani Y, Tamura K, Nakamura Y, Murakami D, Oka M, Kobayashi Y, Yamaue H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Modulation of capecitabine administration to improve continuity of adjuvant chemotherapy for patients with colorectal cancer: A phase II study.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 126-133
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/mco.2019.1961	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 Matsuda K, Tamura K, Iwamoto H, Mizumoto Y, Mitani Y, Nakamura Y, Murakami D, Sakanaka T, Yamaue H.	4. 巻 98
2. 論文標題 Tumor Sidedness Is Associated with Survival in Patients with Synchronous Colorectal Peritoneal Carcinomatosis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncology	6. 最初と最後の頁 230-236
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1159/000505128	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 Iwamoto H, Matsuda K, Hayami S, Tamura K, Mitani Y, Mizumoto Y, Nakamura Y, Murakami D, Ueno M, Yokoyama S, Hotta T, Takifuji K, Yamaue H.	4. 巻 30
2. 論文標題 Quantitative Indocyanine Green Fluorescence Imaging Used to Predict Anastomotic Leakage Focused on Rectal Stump During Laparoscopic Anterior Resection.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Laparoendosc Adv Surg Tech A.	6. 最初と最後の頁 542-546
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/lap.2019.0788	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 Nakamura Y, Yokoyama S, Matsuda K, Tamura K, Mitani Y, Iwamoto H, Mizumoto Y, Murakami D, Kitahata Y, Yamaue H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Preoperative detection of KRAS mutated circulating tumor DNA is an independent risk factor for recurrence in colorectal cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 441
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-79909-4.	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 Tamura K, Matsuda K, Horiuchi T, Noguchi K, Hotta T, Takifuji K, Iwahashi M, Iwamoto H, Mizumoto Y, Yamaue H.	4. 巻 222
2. 論文標題 Laparoscopic anterior resection with or without transanal tube for rectal cancer patients - A multicenter randomized controlled trial.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Surg.	6. 最初と最後の頁 606-612
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.amjsurg.2020.12.054	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 Tamura K, Matsuda K, Fujita Y, Iwahashi M, Mori K, Yamade N, Hotta T, Noguchi K, Sakata Y, Takifuji K, Iwamoto H, Mizumoto Y, Yamaue H.	4. 巻 45
2. 論文標題 Optimal Assessment of Frailty Predicts Postoperative Complications in Older Patients with Colorectal Cancer Surgery	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 World J Surg.	6. 最初と最後の頁 1202-1209.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00268-020-05886-4	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4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 Yuki Mizumoto, Hiroaki Hemmi, Masahiro Katsuda, Yuki Fukuda-Ohta, Takashi Orimo, Izumi Sasaki, Koji Tamada, Hiroki Yamaue, Tsuneyasu Kaisho
2. 発表標題 Chemokine-mediated delivery of cancer peptide vaccine to a dendritic cell subset with high crosspresentation activity.
3. 学会等名 The 27th International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水本有紀、勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、宮本篤、中森幹人、尾島敏康、松田健司、邊見弘明、玉田耕治、改正恒康、山上裕機
2. 発表標題 樹状細胞サブセット(XCR1+DC)への特異的送達によるがんペプチドワクチン療法
3. 学会等名 第25回日本がん免疫外科研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水本有紀、勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、宮本篤、松田健司、田村耕一、三谷泰之、岩本博光、中村有貴、村上大輔、阪中俊博、改正恒康、山上裕機
2. 発表標題 樹状細胞サブセットに注目したがん免疫療法の開発
3. 学会等名 第74回日本大腸肛門病学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 水本有紀、勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、宮本篤、中森幹人、尾島敏康、松田健司、邊見弘明、玉田耕治、改正恒康、山上裕機
2. 発表標題 ケモカインを介した樹状細胞サブセットへのがん抗原送達による抗腫瘍効果
3. 学会等名 第24回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2020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
---------	---------