

令和 5 年 6 月 27 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09160

研究課題名(和文) マウスモデルを用いた免疫チェックポイント阻害剤の新たな治療抵抗メカニズムの解明

研究課題名(英文) Analysis of resistant mechanism for immune check point inhibitor using original mice model

研究代表者

河谷 菜津子 (Kawatani, Natsuko)

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：80805557

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)：我々が独自に確立した抗原特異的疲弊化CD8T細胞(OT-I細胞)を生体内の50倍程度誘導されるモデルを用いて各免疫チェックポイント分子の発現動態を調べたところ、PD-1はほとんどのOT-I細胞で発現するのに対しTIGIT、TIM-3、LAG-3、CTLA-4は一部の細胞で発現するヘテロな細胞集団であることが分かった。抗PD-1抗体治療を行うとOT-I細胞におけるTIGITの発現が誘導され抗腫瘍効果を十分認めないが、抗PD-1抗体に抗TIGIT抗体を併用するとOT-I細胞の活性化と抗腫瘍効果を認め、抗PD-1抗体治療の耐性メカニズムとしてTIGITが関与している可能性が見いだされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、PD-1/PD-L1シグナルをブロックし疲弊化CD8T細胞を再活性化させる癌免疫療法が臨床応用され注目を集めているが、その効果は限定的であり、耐性メカニズムを明らかにすることが必要である。本研究では抗原特異的CD8T細胞における免疫チェックポイント分子の動態を解析することにより、PD-1抗体治療の耐性メカニズムとしてTIGITが関与していることを明らかにすることができた。抗PD-1抗体治療に加えて抗TIGIT抗体を併用することにより、この耐性は解除され新規癌免疫療法の開発への可能性を見出すことができたため臨床応用への可能性が期待できる研究となった。

研究成果の概要(英文)：To examine the dynamics of the several immune check point molecules on antigen-specific CD8+ T cells during tumor immune response, we originally developed useful mice model using OT-I mice. We found that PD-1 expressions were detected on almost all OT-I cells, whereas the expression of the other molecules including TIGIT, TIM-3, LAG-3, or CTLA-4 were partly detected on those cells indicating that generated OT-I cells were heterogenous population. TIGIT expression were upregulated on OT-I cells by anti-PD-1 mAb treatment resulting abrogated tumor growth suppression. On the other hand, substantial OT-I activation were found by anti-PD-1 mAb treatment adding anti-TIGIT treatment resulting showed substantial tumor growth suppression. These results suggested that TIGIT upregulation on OT-I cells were resistant mechanism for anti-PD-1 mAb treatment.

研究分野：Cancer immune therapy

キーワード：耐性機序 疲弊化CD8T細胞 TIGIT

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

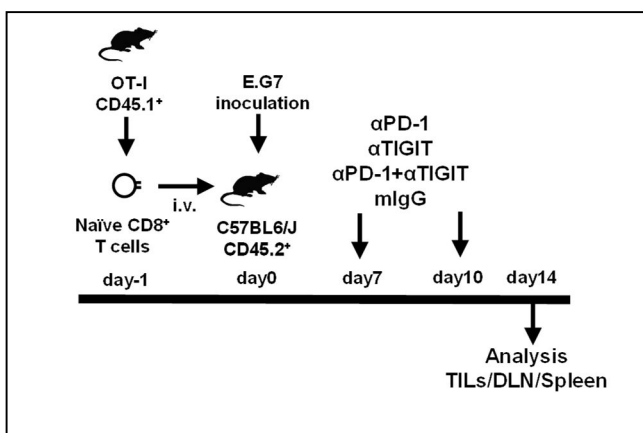
近年、PD-1/PD-L1 シグナルをブロックし疲弊化 CD8T 細胞を再活性化させる癌免疫療法が臨床応用され注目を集めている。しかし、その効果は限定的であり、さらなる活性化 CD8T 細胞の疲弊化誘導への分子機構を解明する必要がある。近年、新規免疫チェックポイント分子として LAG-3, TIM-3, TIGIT などが報告されているが疲弊化におけるそれぞれの役割の違いについては不明であり、抗 PD-1 抗体治療における耐性メカニズムに關与している可能性が考えられる。それらを解析するためには、抗原特異的疲弊化 CD8T 細胞の詳細な解析が必要であるが、通常のマウス腫瘍モデルではその細胞数が少なく困難である。

2. 研究の目的

我々が、独自に確立した OT-I マウスを用いたモデルでは、その細胞数が 50 倍程度誘導され、さらなる詳細な解析が可能である。本研究では、OT-I マウスを用いたマウス腫瘍モデルで抗原特異的疲弊化 CD8T 細胞を誘導し、疲弊化における各免疫チェックポイント分子 (CTLA-4、LAG-3、TIM-3、TIGIT) の役割を解明する。さらに抗 PD-1 抗体治療における耐性への關与についても検討する。それらの結果に基づいてそれぞれの免疫チェックポイント分子に対するモノクローナルを投与し有効な癌免疫療法の開発につなげる。

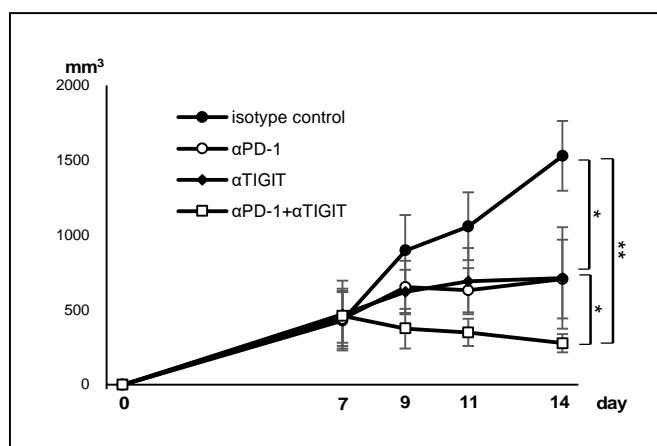
3. 研究の方法

OVA₂₅₇₋₂₆₄ 特異的 T 細胞レセプタートランスジェニック (Tg) マウスである OT-I マウスと Ly5.1 マウスを交配した OT-ILy5.1 マウスの脾臓細胞からナイーブ CD8T 細胞を AutoMACS でネガティブセレクションにて単離し、正常マウス (C57BL/6 マウス, Ly5.2) に移入する。翌日移入したマウスに卵白アルブミン産生 EL-4 細胞 (EG.7) を皮下接種し、経時的に腫瘍局所、所属リンパ節、脾臓細胞における抗原特異的 CD8T 細胞を OVA₂₅₇₋₂₆₄ ペプチド MHC テトラマーまたは V₂ 抗体と CD45.1 抗体で検出する。腫瘍局所の腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) は、Percoll を用いた比重遠心分離法で単離する。腫瘍接種後、1、2、3、4 週目で TIL、リンパ節、脾臓細胞における OT-I 細胞の PD-1, CTLA-4、LAG-3、TIM-3、TIGIT の発現を経時的にフローサイトメーターで解析する。さらに、抗 PD-1 抗体を投与した後の各免疫チェックポイント分子の発現への影響についても評価した。さらに耐性に關与すると考えられる免疫チェックポイント分子に対する抗体を併用して抗腫瘍効果と OT-I 細胞の活性化についてその数と機能を評価して検討した (図)。



4. 研究成果

本モデルで検討した結果、誘導された疲弊化 OT-I 細胞は PD-1 はすべても細胞で発現するのに対して、その他の各免疫チェックポイント分子 (LAG-3, TIM-3, TIGIT) は一部の細胞のみで発現するヘテロな細胞集団であり、さらにそれらの発現時期が異なることを明らかにした。それらの免疫チェックポイント分子の発現を抗 PD-1 抗体治療後に検討したところ、抗 PD-1 抗体投与後、OT-I 細胞の TIGIT 発現が TIL とリンパ節で上昇し、LAG-3 発現が TIL で上昇していた。これらから抗 PD-1 抗体治療の耐性メカニズムに TIGIT と LAG-3 が関与している可能性が示唆された。そこで抗 PD-1 抗体に抗 TIGIT 抗体を併用し抗腫瘍効果と OT-I 細胞への影響を調べたところ、コントロール群と比較し抗 PD-1 抗体単独または抗 TIGIT 抗体単独投与でそれぞれ抗腫瘍効果および OT-I 増加を認めたが、抗 PD-1 抗体と抗 TIGIT 抗体併用により単独投与より顕著な腫瘍増殖抑制効果とさらなる OT-I 細胞の増加を認めた (図)。さらに併用群でペプチド刺激後の IFN- γ 産生が顕著に増加していた。一方抗 LAG-3 抗体併用では抗腫瘍効果と OT-I 細胞の増加はなかった。このことから抗原特異的 CD8T 細胞における TIGIT 発現上昇が抗 PD-1 抗体治療の耐性メカニズムとなっている可能性が示唆された。それは併用療法で克服可能であったので有効な癌免疫療法への応用が可能と考えられた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 星野 弘毅、矢島俊樹、播本憲史、村主遼、萩原慶、山中崇弘、石井範洋、塚越真梨子、渡辺亮、新木健一郎、調 憲
2. 発表標題 抗原特異的CD8T細胞誘導マウス腫瘍モデルを用いた動態解析
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村主 遼、矢島俊樹、星野弘毅、栗山健吾、塚越真梨子、山中崇弘、萩原慶、石井範洋、渡辺亮、新木健一郎、播本憲史、調 憲
2. 発表標題 抗原特異的CD8陽性T細胞の疲弊化誘導における各免疫チェックポイント分子の役割
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 栗山 健吾、矢島 俊樹、山口 亜梨紗、吉川 良平、村主 遼、須賀 邦彦、星野 弘毅、酒井 真、佐野 彰彦、小川 博臣、宗田 真、調 憲、佐伯 浩司
2. 発表標題 腫瘍局所への放射線照射により活性化される、全身での抗腫瘍免疫応答に関する検討
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村主 遼、矢島俊樹、星野弘毅、山中崇弘、萩原慶、塚越真梨子、石井範洋、渡辺亮、新木健一郎、播本憲史、調 憲
2. 発表標題 抗原特異的 CD8T 細胞の疲弊化誘導における各免疫チェックポイント分子の役割
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢島 俊樹、村主 遼、星野 弘毅、吉川 良平、大瀧 容一、尾林 海、中澤 世識、河谷 菜津子、矢澤 友弘、塚越 真梨子、調 憲
2. 発表標題 抗 PD-1 抗体耐性メカニズムにおける疲弊化 CD8T 細胞での各免疫チェックポイント分子の役割
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022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
研究分担者	矢島 俊樹 (Yajima Toshiki) (20346852)	香川大学・医学部・教授 (16201)	
研究分担者	大瀧 容一 (Ohtaki Yoichi) (00625402)	群馬大学・医学部附属病院・助教 (12301)	
研究分担者	中澤 世識 (Nakazawa Seshiru) (60791978)	群馬大学・医学部附属病院・助教 (12301)	

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