

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：81303

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17768

研究課題名（和文）肺がんメタボリズムが免疫寛容をもたらすメカニズムの解明と治療応用

研究課題名（英文）Metabolism and immune tolerance of lung cancer.

研究代表者

佐藤 卓（Sato, Taku）

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター（研究所）・がん薬物療法研究部・共同研究員

研究者番号：90814541

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：近年の免疫チェックポイント阻害（ICB）療法の成功により、腫瘍免疫の賦活化で、肺がんを治療できることが示された。しかし、不応答症例の方がむしろ多いこと、耐性獲得がんの出現、など、依然大きな問題がある。本研究では、腫瘍の代謝に干渉することによって上記問題を解決できないか？という観点から検討を行った。その結果、腫瘍細胞に特徴的なブドウ糖代謝（ワールブルグ効果）が自身への免疫寛容をもたらすこと、そのメカニズムとしてブドウ糖代謝と免疫シグナル伝達制御との間のクロストークが関わることを強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺がん治療においても免疫チェックポイント阻害治療（ICB）が一般化し、さらにICBと多剤の併用治療が続々とファーストライン化すると見込まれる現況において、ICBへの不応答例を予測したり、減らす手法の開発は極めて重要である。今後、本研究の成果をさらに発展させ、新たなICB併用治療としての有用性を検証する意義は高い。本研究は、そのような目標に向けて、その基礎をなすデータを収集することができた。メカニズムについては、より詳細な解析が必要と思われる。

研究成果の概要（英文）：The recent success of immune checkpoint blockade (ICB) therapy has shown that lung cancer can be treated by activating tumor immunity. However, there are still major problems, such as the rather large number of non-responsive cases and the emergence of resistance. In this study, the possibility that interfering with tumor metabolism resolves immune tolerance was investigated. The results strongly suggest that tumor glucose metabolism (Warburg effect) leads to immune tolerance, and that the mechanism involves crosstalk between glucose metabolism and regulation of intracellular signal transduction that regulates immunity.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：肺がん 代謝 腫瘍免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年の免疫チェックポイント阻害 (ICB) 療法の成功により、腫瘍免疫の賦活化で、肺がんを治療できることが示された。しかし、i) 不応答症例の方がむしろ多いこと、ii) 耐性獲得がんの出現、など、依然大きな問題がある。我々は最近、腫瘍に特徴的な糖代謝形質 (Warburg 効果 (ワールブルグ効果)) が、自身に対する免疫寛容を強く誘導していることを発見した。本研究では、この腫瘍 W 効果がもたらす免疫抑制機構を、新規治療標的として開発する。がんが免疫系を回避する新規メカニズムを明らかにしつつ、がん代謝という普遍性の高い特性をターゲットする“新規免疫セラピー”への展開に向けて、その基礎となるデータを収集する研究を構想した。

2. 研究の目的

ICB 療法の成功により、腫瘍免疫の賦活化で、肺がんを治療できることが示された。しかし、i) 不応答症例の方がむしろ多いこと、ii) 耐性獲得がんの出現、などの大きな問題がある。本課題では、1) ワールブルグ効果による免疫寛容誘導メカニズムを解明するとともに、2) ワールブルグ効果ターゲット免疫療法の有効性をマウス前臨床モデルにて検証する。現状では ICB 進歩の恩恵を受けられていない多数の NSCLC 患者に福音をもたらす新たな免疫セラピーへの展開が期待できるとともに、学術的にも、~90 年来の謎となっているワールブルグ効果の意義解明など、極めて大きな成果を期待できる。

3. 研究の方法

ワールブルグ効果型および反ワールブルグ効果型の解糖系酵素を発現する遺伝子改変マウスから肺上皮細胞を単離し、不死化・形質転換した後に各種実験に用いた。普遍性検討においては、肺がんに限定せず、syngenic な非免疫不全マウスに生着できるマウス細胞株を実験に用いた。移植系での検討：遺伝子改変マウス肺上皮細胞の syngenic allograft 腫瘍を解析した。(a) 浸潤白血球 (TIL) 細胞表面マーカーはフローサイトメトリーによって解析した。(b) バルク腫瘍の遺伝子発現解析は、Nanostrings 法、および RNA-Seq を用いた。また、培養系にて、前述の肺上皮細胞について、いくつかのサイトカイン・増殖因子で刺激後の遺伝子発現を、RNA-seq 法でしらべた。また、全エクソシーケンスを行い、腫瘍変異負荷量 (tumor mutation burden) を算出した。

4. 研究成果

ワールブルグ効果による免疫寛容誘導メカニズムを解明するとともに、ワールブルグ効果ターゲット免疫療法の有効性をマウス前臨床モデルにて検証することを目的として、各種取り組みを行った。

【メカニズムの解明】

遺伝子改変マウス肺上皮細胞を形質転換の後に野生型マウスに移植して syngenic allograft 腫瘍を形成させ、ワールブルグ効果が免疫回避を導く分子機構を検討した。浸潤白血球 (TIL) 細胞表面マーカーの解析やバルク腫瘍の遺伝子発現解析等により、ワールブルグ効果をもたらず免疫寛容に強く関与すると思われるシグナル伝達経路が浮上した。このシグナル異常は培養系における細胞の遺伝子発現解析においても、同様にみとめられた。これらの結果から、ワールブルグ効果をもたらず免疫寛容には、腫瘍細胞内における代謝制御とシグナル伝達制御との間のクロストークが関与することが強く示唆された。

この経路のシグナル異常メカニズムを明らかにするための各種解析を行った。シグナル経路を駆動する受容体に対する中和抗体を用いた検討等から、ワールブルグ効果様の代謝に、当該シグナル経路のオートクライン/パラクラインループを抑制する作用があることが分かった。

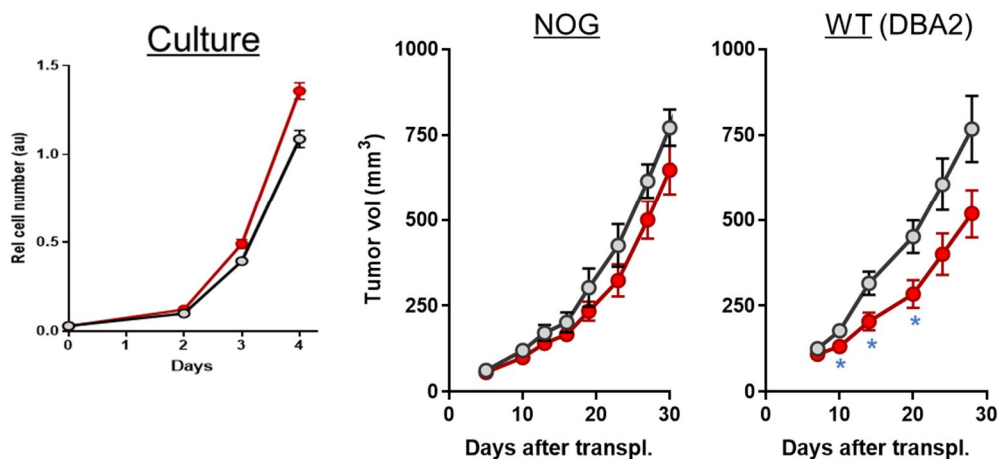
念のため、全エキソソームシークエンスを行って腫瘍変異負荷量をもとめたが、表現型の差異を説明できるような違いはみとめられなかった、

【マウスモデルにおける治療効果の検証】

遺伝子操作によるワールブルグ効果への拮抗が、既存チェックポイント阻害と相乗効果を示すか否か、検討した。その結果、PD-1 阻害および PD-L1 阻害のいずれとの組み合わせにおいても、相乗的な治療効果をもつことが明らかになった。これら相乗効果をより普遍的に検証するため、種々の syngenic 移植腫瘍系をテストし、まず、各試験系におけるベースラインの ICB 反応性を確認した。

遺伝子操作によるワールブルグ効果への拮抗が、既存チェックポイント阻害と相乗効果を示すか否か、種々の syngenic 移植腫瘍系を用いて検討した。多くの場合、PD-1 阻害よりも PD-L1 阻害の方が、腫瘍抑制効果が大きかった。この現象が、マウス固有のものなのか、使用する抗体の性能の問題によるものなのかは判断としていない。ともかく、全てではないが複数細胞株において、ワールブルグ効果解消に似た代謝改変が、2a) 移植腫瘍の増大を遅らせること、2b) 免疫チェックポイント阻害に対する感受性を高めること、が分かった。

KLN205 cells



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Kikuchi N, Soga T, Nomura M, Sato T, Sakamoto Y, Tanaka R, Abe J, Morita M, Shima H, Okada Y, Tanuma N	4. 巻 530
2. 論文標題 Comparison of the ischemic and non-ischemic lung cancer metabolome reveals hyper activity of the TCA cycle and autophagy.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 285-291
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2020.07.082.	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
---------------------------	-----------------------	----

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