

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18128

研究課題名（和文）漢方薬と抗PD-1抗体併用による抗腫瘍効果と腸内細菌叢の変化に関する検討

研究課題名（英文）Association between anti-tumor effect of Kampo combined with anti-PD-1 antibody and interstitial microbiota

研究代表者

植田 浩介（Ueda, Kosuke）

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：60569440

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）：本研究では漢方薬（十全大補湯、補中益気湯、大建中湯、大黄甘草湯、抑肝散、桂枝茯苓丸）を用いて、抗PD-1抗体併用による抗腫瘍効果の解析、腸内細菌叢の変化の解明を行った。漢方薬が腫瘍増殖に与える影響に関する腎細胞癌細胞株移植マウスを用いた検討では、大黄甘草湯を投与したマウスでは最も腫瘍増殖が抑制されていることが確認された。また、腸内細菌叢の解析では多様性が高まることが確認されたが、薬剤間において顕著な差は認められなかった。漢方薬と抗PD-1抗体を用いた検討においても大黄甘草湯と抗PD-1抗体を併用した群において最も高い抗腫瘍効果が認められたが、腸内細菌叢には有意な変化は確認されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では腎細胞癌における漢方薬が与える腸内細菌叢への影響、漢方薬と免疫チェックポイント阻害剤である抗PD-1抗体との併用による治療効果を評価した。腫瘍増殖に与える影響に関する検討では、漢方薬の投与により抗腫瘍効果や腸内細菌叢の変化に影響は認められるものの薬剤間において顕著な変化は認められなかった。漢方薬と抗PD-1抗体を用いた検討においても大黄甘草湯と抗PD-1抗体を併用した群において高い抗腫瘍効果が認められたが、腸内細菌叢には有意な変化は確認されなかった。漢方薬と抗PD-1抗体の併用により腎細胞癌に対する抗腫瘍効果を高める可能性はあるが、腸内細菌叢との関連については明らかとならなかった。

研究成果の概要（英文）：In this study, we evaluated the effects of Japanese traditional herbal medicines which called as Kampo on the intestinal microbiota in renal cell carcinoma (RCC) and the antitumor effect of its combination with anti-PD-1 antibody. Regarding the effect of Kampo on tumor growth inhibition, it was shown that tumor growth was most inhibited in mice transplanted with RCC cell lines that were treated with Daiokanzoto, and that the administration of Kampo increases the diversity of the intestinal microbiota. In the study of the combination of Kampo and anti-PD-1 antibody, most effective anti-tumor effect was observed in the group that treated with Daikenchuto and anti-PD-1 antibody. However, no significant change was observed in the intestinal microbiota compared to the other groups. Although the combination of Kampo and anti-PD-1 antibodies may enhance the anti-tumor effect against RCC, the association with the intestinal microbiota was not clarified.

研究分野：腎細胞癌

キーワード：腎細胞癌 腸内細菌 免疫チェックポイント阻害剤

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の効果予測因子として、腸内細菌叢が注目されている。近年の報告では、菌種の多様性が治療効果に影響を及ぼしている可能性や、抗生剤投与が治療効果の減弱に関連している可能性について言及されている。さらに、漢方薬に含まれる様々な成分の prebiotics としての働きが腸内細菌叢を変化させ、それによって生体遺伝子の変化が起こり、免疫機能を変化させることが示されている。これまで、免疫チェックポイント阻害剤と漢方薬を併用した際に起こる腸内細菌叢や腸管免疫環境の変化と抗腫瘍効果との関連についての報告はされていない。免疫チェックポイント阻害剤と漢方薬との併用効果を確認し、腸内細菌叢や腸管免疫環境の変化を調べ、その抗腫瘍効果との関係性を明らかにすることで効果的な免疫チェックポイント阻害剤の治療戦略構築を目指すことを目的とし、本研究を開始するに至った。

2. 研究の目的

本研究では 漢方薬と抗 PD-1 抗体併用による抗腫瘍効果 漢方薬と抗 PD-1 抗体併用による免疫動態 漢方薬と抗 PD-1 抗体併用による腸内細菌叢の変化を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

まず、本研究ではマウス腎細胞癌細胞株(RENCA)移植マウス(BALB/c)を用いて、漢方薬(十全大補湯、補中益気湯、大建中湯、大黄甘草湯、抑肝散、桂枝茯苓丸)による抗腫瘍効果を確認し、腸内細菌叢の変化に関する検討を 16sRNA 系統解析を用いて解析する。さらに漢方薬による抗腫瘍効果の比較で抗腫瘍効果が認められた大黄甘草湯と抗腫瘍効果が認められなかった十全大補湯を用いて免疫チェックポイント阻害剤である抗 PD-1 抗体との併用を行い、腎細胞癌マウスモデルで抗腫瘍効果の比較検討を行う。それらの実験系で採取されたマウス糞便を 16sRNA 系統解析を用いて腸内細菌叢の解析を行う。また、マウス実験系で各薬剤投与後に採取された腫瘍を免疫組織化学を用いて免疫細胞の染色を行い、各群間の腫瘍中の免疫細胞(CD8, Treg)ならびに PD-L1 の発現を比較検討する。

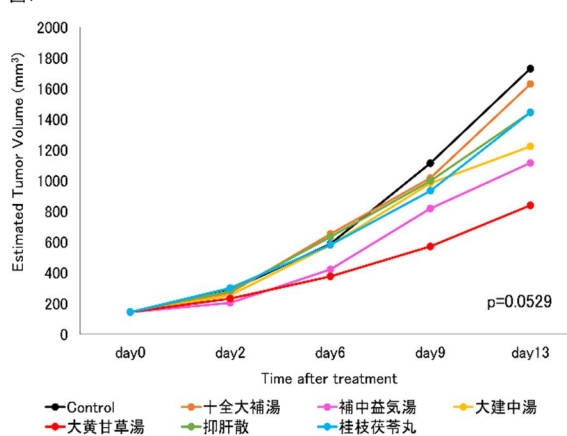
4. 研究成果

本研究では、マウス腎細胞癌細胞株移植マウスを用いて漢方薬(十全大補湯、補中益気湯、大建中湯、大黄甘草湯、抑肝散、桂枝茯苓丸)による抗腫瘍効果を確認した。大黄甘草湯を投与したマウスにおいて最も腫瘍増殖が抑制されていることが確認された(図1)。また、16sRNA 系統解析を用いた腸内細菌叢の解析においては漢方薬投与群において 多様性が高まることが確認された。さらに、大黄甘草湯投与を行ったマウスにおいては *Parabacteroides* 属の増加していることが確認された。次に、漢方薬による抗腫瘍効果の比較で最も高い抗腫瘍効果が認められた大黄甘草湯と抗腫瘍効果が認められなかった十全大補湯を用いて抗 PD-1 抗体との併用効果をみたマウス実験においては、抗 PD-1 抗体と大黄甘草湯の併用群において最も高い抗腫瘍効果が確認されたものの、抗 PD-1 抗体投与群と比較し有意な抗腫瘍効果は確認できなかった($p=0.5609$)(図2)。しかしながら、16sRNA 系統解析における腸内細菌叢の解析においては *Parabacteroides* 属の腸内細菌群は大黄甘草湯単独投与群と比較し、さらなる増加が認められており、*Parabacteroides* 属群の増加が抗腫瘍効果の増強に反映している可能性も示唆された。腫瘍組織を用いた腫瘍細胞中の PD-L1 の発現や免疫細胞の比較においては、まだ十分な解析ができておらず、今後の検討課題となっている。

これまでに得られた結果において、漢方薬の投与は腸内細菌叢に変化を与える

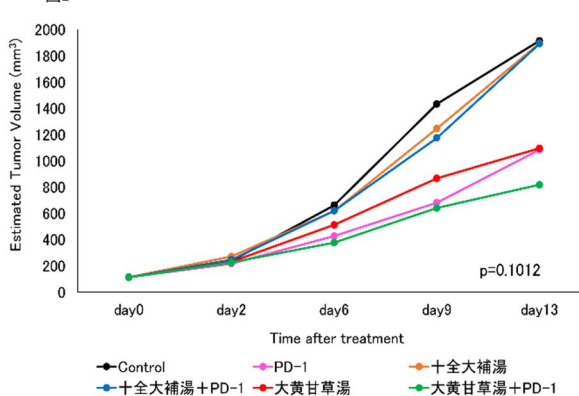
prebiotics として働く可能性があり、*Parabacteroides* 属の増加を促す大黄甘草湯は抗 PD-1 抗

図1



抗 PD-1 抗体と大黄甘草湯の併用群において最も高い抗腫瘍効果が確認されたものの、抗 PD-1 抗体投与群と比較し有意な抗腫瘍効果は確認できなかった($p=0.5609$)(図2)。

図2



体の併用により腎細胞癌に対する抗腫瘍効果を高める可能性があり、さらに Parabacteroides 属の増加が治療効果に関わる可能性も示唆される。今後、漢方薬を用いた解析を行うことにより、抗 PD-1 抗体をはじめとした免疫チェックポイント阻害剤の治療効果を高める腸内細菌をはじめとした biomarker の探索が可能になることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ueda Kosuke, Suekane Shigetaka, Kurose Hirofumi, Ogasawara Naoyuki, Hiroshige Tasuku, Chikui Katsuaki, Uemura Keiichiro, Nakiri Makoto, Nishihara Kiyooki, Matsuo Mitsunori, Igawa Tsukasa	4. 巻 52
2. 論文標題 Absolute lymphocyte count is an independent predictor of survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with nivolumab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 179 ~ 186
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyab157	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 Ueda Kosuke, Suekane Shigetaka, Kurose Hirofumi, Ito Naoki, Ogasawara Naoyuki, Hiroshige Tasuku, Chikui Katsuaki, Ejima Kazuhisa, Uemura Keiichiro, Nakiri Makoto, Nishihara Kiyooki, Igawa Tsukasa	4. 巻 52
2. 論文標題 Immune-related adverse events are clinical biomarkers to predict favorable outcomes in advanced renal cell carcinoma treated with nivolumab plus ipilimumab	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 479 ~ 485
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyac009	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 Hinata Nobuyuki, Yonese Junji, Masui Satoru, Nakai Yasutomo, Shirotake Suguru, Tatsugami Katsunori, Inamoto Teruo, Nozawa Masahiro, Ueda Kosuke, Etsunaga Toru, Osawa Takahiro, Uemura Motohide, Kimura Go, Numakura Kazuyuki, Yamana Kazutoshi, Miyake Hideaki, Fukasawa Satoshi, Ochi Kenya, Kaneko Hirokazu, Uemura Hirotsugu	4. 巻 25
2. 論文標題 A multicenter retrospective study of nivolumab monotherapy in previously treated metastatic renal cell carcinoma patients: interim analysis of Japanese real-world data	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1533 ~ 1542
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01692-z	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 Osawa Takahiro, Kojima Takahiro, Hara Tomohiko, Sugimoto Mikio, Eto Masatoshi, Takeuchi Ario, Minami Keita, Nakai Yasutomo, Ueda Kosuke, Ozawa Michinobu, Uemura Motohide, Miyauchi Yasuyuki, Ohba Kojiro, Suzuki Toshiro, Anai Satoshi, Shindo Tetsuya, Kusakabe Naohisa, Tamura Keita, Komiyama Motokiyo, Goto Takayuki, Yokomizo Akira	4. 巻 111
2. 論文標題 Oncological outcomes of a multicenter cohort treated with axitinib for metastatic renal cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2460 ~ 2471
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14449	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 Nakai Yasutomo, Takeuchi Ario, Osawa Takahiro, Kojima Takahiro, Hara Tomohiko, Sugimoto Mikio, Eto Masatoshi, Minami Keita, Ueda Kosuke, Ozawa Michinobu, Uemura Motohide, Miyauchi Yasuyuki, Ohba Kojiro, Kashiwagi Akira, Murakami Masaya, Sazuka Tomokazu, Yasumoto Hiroaki, Morizane Shuichi, Kawasaki Yoshihide, Morooka Daichi, Shimazui Toru	4. 巻 30
2. 論文標題 Efficacy and safety of second-line axitinib in octogenarians with metastatic renal cell carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Geriatric Oncology	6. 最初と最後の頁 30534 ~ 30538
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jgo.2020.12.012	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 Keita, Osawa Takahiro, Takeuchi Ario, Minami Keita, Nakai Yasutomo, Ueda Kosuke, Ozawa Michinobu, Uemura Motohide, Sugimoto Mikio, Ohba Kojiro, Suzuki Toshihiro, Anai Satoshi, Shindo Tetsuya, Kusakabe Naohisa, Komiyama Motokiyo, Tanaka Ken, Yokomizo Akira	4. 巻 51
2. 論文標題 External validation of the albumin, C-reactive protein and lactate dehydrogenase model in patients with metastatic renal cell carcinoma receiving second-line axitinib therapy in a Japanese multi-center cohort	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 810 ~ 818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa264	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3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 植田 浩介、小笠原 尚之、松永 祥弘、星野 龍志、黒瀬 浩文、築井 克聡、上村 慶一郎、名切 信、西原 聖顕、松尾 光哲、 末金 茂高、井川 掌
2. 発表標題 転移性腎細胞癌における免疫チェックポイント阻害剤の治療効果に対する抗生剤の影響
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 植田 浩介
2. 発表標題 10 combo時代の転移性腎細胞癌における二次治療以降の薬物選択～TKIの位置づけ～
3. 学会等名 第72回西日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 植田 浩介、末金 茂高、小笠原 尚之、黒瀬 浩文、熊谷 壽二、築井 克聡、名切 信、西原 聖顕、松尾 光哲、井川 掌
2. 発表標題 進行性腎細胞癌におけるNivolumab単独療法の効果に対する抗生剤の影響
3. 学会等名 第42回癌免疫外科研究会
4. 発表年 2021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
---------	---------