

令和 4 年 6 月 5 日現在

機関番号：14501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21547

研究課題名(和文) ヒト化マウスを用いた新規リンパ腫PDXモデルの開発

研究課題名(英文) Development of a novel lymphoma PDX model using humanized mice

研究代表者

齊藤 泰之 (Saito, Yasuyuki)

神戸大学・医学研究科・講師

研究者番号：40508842

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：免疫細胞ヒト化マウスを用いたリンパ腫患者由来がん異種移植(PDX)モデルの確立と抗ヒトSIRP抗体の有効性をin vivoで検証することを目的に、ヒトBリンパ腫由来株化細胞もしくはリンパ腫患者細胞を免疫細胞ヒト化マウス(ヒトさい帯血由来CD34陽性細胞を免疫不全マウスに移植したマウス)へ移植することで実験系を確立した。このモデルマウスの腫瘍内におけるヒトマクロファージの浸潤ならびにリツキシマブと抗ヒトSIRP抗体による抗腫瘍効果を本モデルを用いて示せたことから、がん免疫療法の評価が可能な新たなツールとしての有用性が明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究代表者が開発した「免疫細胞ヒト化マウスを用いた患者由来がん異種移植(PDX)モデル」を用いることにより、リンパ腫の病因の理解やマクロファージを標的とした新たな診断や治療法の確立に繋がる可能性を有している。さらに、研究代表者らが見出した膜型分子SIRPを標的としたがん免疫療法の有効性を検証する前臨床モデルとして有用であることが示されたことから、本研究によって学術的成果と共に、新規がん治療法の創出に資する社会的意義の高い研究成果を得られた。

研究成果の概要(英文)：In this research, we created an experimental system by transplanting human B lymphoma patient-derived tumor cells into immune-cell humanized mice (immunodeficient mice transplanted with CD34-positive cells isolated from human cord blood cells) to establish a lymphoma patient-derived xenograft (PDX) model and to validate the efficacy of anti-human SIRP antibody in vivo. We found the infiltration of human macrophages in the tumors and the antitumor effect of rituximab and anti-human SIRP antibody using this model. Thus, our findings indicate that this model can be a new tool for evaluating cancer immunotherapy, particularly targeting human macrophages in vivo.

研究分野：血液学、免疫学

キーワード：PDXモデル ヒト化マウス がん微小環境 マクロファージ CD47 SIRP

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、がん細胞を取り巻く免疫細胞や間質細胞で形成される「がん微小環境」を標的としたがん免疫療法が新たな治療戦略として注目されている。中でも T 細胞による抗腫瘍効果を負に制御する PD-1 や CTLA-4 を標的とした「免疫チェックポイント阻害薬」が様々ながんに対して有効性を示すことが明らかとなった。さらに最近になり、このような免疫チェックポイントは T 細胞のみならず、ナチュラルキラー細胞やマクロファージ、樹状細胞などの自然免疫細胞にも存在することが明らかになり、がんを取り巻く周囲の免疫細胞を標的とした新たな免疫チェックポイント阻害剤の開発競争が世界中で盛んに行われている。中でも研究代表者らは、がん細胞上の膜型分子 CD47 とマクロファージや樹状細胞などの貪食細胞に特異的に発現する SIRP (Signal regulatory protein) との結合により (CD47-SIRP シグナル) 抗体医薬により誘導される抗体依存性細胞貪食 (ADCP) 活性 (ならびに抗腫瘍効果) が抑制されることを複数のマウス腫瘍モデルを用いて明らかにしてきた。

一方で、これらの薬剤は主にがん細胞と周囲の様々な免疫細胞の相互作用を標的とした薬剤のため、*in vitro* の実験系では評価系が複雑であること、また *in vivo* でヒトがん細胞の治療効果評価する異種移植モデルでは T 細胞、B 細胞、ならびにナチュラルキラー細胞を有しないことから、従来の実験系ではヒト免疫細胞に作用する薬剤による抗腫瘍効果の評価が不可能であった。さらに、がん患者のがん組織を直接免疫不全マウスに移植して構築した患者由来がん異種移植マウスモデル (Patient-Derived Xenograft (PDX) mouse model) は、旧来の培養細胞や遺伝子操作したマウスモデルよりも、がんの増殖や転移をより忠実に再現すると考えられており、がんの新規治療を効率的に開発し臨床導入するための前臨床試験モデルとして期待されている。一方で、概要の更で述べたように、従来 PDX マウスモデルは獲得免疫細胞の欠損、もしくはマクロファージなどの免疫細胞がマウス由来であるため、周囲の免疫細胞を標的とした薬剤の前臨床モデルとして使用できない。

2. 研究の目的

これらの問題点を改善するために、研究代表者は造血幹細胞を次世代免疫不全マウスに移植し、自然免疫細胞ならびに獲得免疫細胞を含んだヒト免疫細胞を有する免疫細胞ヒト化マウスを用いた腫瘍モデルの開発を行なっている。すでにヒトリンパ腫細胞株を免疫細胞ヒト化マウスに移植したモデルにおいて、マクロファージを中心としたヒト免疫細胞による腫瘍微小環境の再現を得られつつある。そこで本研究では、研究代表者が独自のノウハウを有している免疫細胞ヒト化マウスを用いた腫瘍モデルの実験系を切り口として、マクロファージや樹状細胞などの骨髄系細胞の機能の再現により優れたがん微小環境の構築、ならびにこのモデルを用いた PDX モデルにおける患者由来がん微小環境の構築と CD47-SIRP シグナルを標的とした新たな抗体医薬の開発を目的とし、研究を進めた。

3. 研究の方法

次世代免疫不全マウスを用いたヒト腫瘍モデルを用いた「がん微小環境」の評価および治療モデルの確立を目的に、ヒト造血因子を複数発現した次世代免疫不全マウスに臍帯血由来 CD34 陽性細胞を投与することで免疫細胞ヒト化マウスの作製を行った。続いて、このマウスにヒト B 細胞リンパ腫細胞株 (Raji) もしくはリンパ腫患者由来腫瘍細胞を投与することで、ヒトリンパ腫マウスモデルの樹立をおこなった。さらに、これらのマウスにおける腫瘍細胞の生着を確認後、CD47 と SIRP との結合を阻害する抗ヒト SIRP 抗体の投与を行い、*in vivo* における抗腫瘍効果の検討を行った。

4. 研究成果

(1) 次世代免疫不全ヒト化マウスを用いたがん微小環境の再構築の解析

上述のように本研究課題においては、研究代表者が開発した複数のヒト造血因子を発現させた重度免疫不全マウスを用いた。この免疫不全マウスに臍帯血由来 CD34 陽性造血幹前駆細胞を移植した場合、従来の重度免疫不全マウスに比べて、ヒト造血幹前駆細胞の生着率の向上、ならびに自然免疫細胞であるナチュラルキラー細胞やマクロファージ、樹状細胞への分化が効率的に誘導されることを明らかにした。続いて、この免疫細胞をヒト化した免疫不全マウスにヒト B 細胞リンパ腫細胞株 (Raji) を移植した腫瘍モデルを作製し、腫瘍内へ浸潤した免疫細胞 (特に T 細胞、ナチュラルキラー細胞、マクロファージ、樹状細胞) をフローサイトメトリーならびに免疫組織染色を用いて解析を行なった。その結果、免疫細胞をヒト化したマウスの腫瘍組織内においてヒトマクロファージやナチュラルキラー細胞の浸潤を認めており、さらに免疫細胞をヒト化したマウスにおいて、非ヒト化マウスに比べて著明な腫瘍の増大を認めたことから、がん (リンパ腫) 微小環境内に浸潤したヒト免疫細胞が腫瘍細胞の増殖を促す可能性が本モデルによって示された。

(2) PDX モデルの作製とがん微小環境の評価

成人発症のリンパ腫の7-8割を占めるびまん性大細胞型リンパ腫(DLBCL)や濾胞性リンパ腫(FL)は、リンパ腫の中では比較的検体が入手しやすい一方で、PDXモデルの樹立が困難であった。しかし最近、ヒト化した免疫不全マウスにおいてDLBCLの生着に成功したとの報告が数報あり、周囲の免疫細胞によるがん細胞の生着のサポートがPDXモデルの樹立に重要であることが示唆された。本研究では、上述の免疫細胞をヒト化した免疫不全マウスに非ホジキンリンパ腫(DLBCL)患者腫瘍より採取した細胞を骨髄内に投与したところ、骨髄内において患者由来リンパ腫の生着を認めた。一方で、これらの免疫細胞ヒト化マウスにおいては患者由来細胞の皮下への生着を認めなかったことから骨髄内におけるがん微小環境、特にマクロファージなどの免疫細胞による微小環境がリンパ腫PDXモデルの樹立に重要であることが明らかとなった。

(3) 抗SIRP抗体によるリンパ腫PDXモデルを用いた抗腫瘍効果の検討

研究代表者らは同系マウスの系において、マウス由来マクロファージ上に発現するSIRPに対する抗体(抗マウスSIRP抗体)の投与により、がん細胞に対する抗腫瘍効果が著明に増強されることを明らかにしてきた。本研究においては、抗ヒトSIRP抗体の有効性の検討を行ったところ、(1)で用いた免疫細胞ヒト化マウス用いたヒトリンパ腫(Raji)モデルにおいて、抗ヒトSIRP抗体が分子標的薬(抗CD20抗体)による抗腫瘍効果を著明に増強させることを見出した。さらに、(2)のPDXモデルにおいても抗ヒトSIRP抗体と抗CD20抗体との併用により、骨髄内のリンパ腫細胞が著明に減少することが明らかとなった。

これらの結果から、本実験系は抗ヒトSIRP抗体などヒト免疫細胞、特にマクロファージなどの食細胞に作用する薬剤によるB細胞リンパ腫に対する抗腫瘍効果をin vivoで評価可能な前臨床モデルとして有用である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Saito Yasuyuki, Willinger Tim, Theocharides Alexandre P. A.	4. 巻 12
2. 論文標題 Editorial: Advances in Human Immune System Mouse Models for Studying Human Hematopoiesis and Cancer Immunotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 829644
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.829644	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 Sakamoto Mariko, Murata Yoji, Tanaka Daisuke, Kakuchi Yuka, Okamoto Takeshi, Hazama Daisuke, Saito Yasuyuki, Kotani Takenori, Ohnishi Hiroshi, Miyasaka Masayuki, Fujisawa Masato, Matozaki Takashi	4. 巻 119
2. 論文標題 Anticancer efficacy of monotherapy with antibodies to SIRP /SIRP 1 mediated by induction of antitumorigenic macrophages	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2109923118
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2109923118	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 Rafiei Anahita, Wilk C. Matthias, Helbling Patrick M., Myburgh Renier, Saito Yasuyuki, Haralambieva Eugenia, Soldini Davide, Chakraborty Rikhia, Merad Miriam, Allen Carl E., Nombela-Arrieta Cesar, Manz Markus G.	4. 巻 4
2. 論文標題 BRAFV600E or mutant MAP2K1 human CD34+ cells establish Langerhans cell-like histiocytosis in immune-deficient mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 4912 ~ 4917
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2020001926	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 該当する
1. 著者名 Murata Yoji, Saito Yasuyuki, Kotani Takenori, Matozaki Takashi	4. 巻 24
2. 論文標題 Blockade of CD47 or SIRP : a new cancer immunotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Expert Opinion on Therapeutic Targets	6. 最初と最後の頁 945 ~ 951
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14728222.2020.1811855	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 Hazama Daisuke, Yin Yizhen, Murata Yoji, Matsuda Makoto, Okamoto Takeshi, Tanaka Daisuke, Terasaka Naohiro, Zhao Jinxuan, Sakamoto Mariko, Kakuchi Yuka, Saito Yasuyuki, Kotani Takenori, Nishimura Yoshihiro, Nakagawa Atsushi, Suga Hiroaki, Matozaki Takashi	4. 巻 27
2. 論文標題 Macrocyclic Peptide-Mediated Blockade of the CD47-SIRP Interaction as a Potential Cancer Immunotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Chemical Biology	6. 最初と最後の頁 1181 ~ 1191.e7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.chembiol.2020.06.008	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 Franke Katka, Pillai Saravanan, Hoogenboezem Mark, Gijbels Marion, Matlung Hanke, Geissler Judy, Olsmann Hugo, Pottgens Chantal, van Gorp Patrick, Ozsvar-Kozma Maria, Saito Yasuyuki, Matozaki Takashi, Kuijpers Taco, Hendriks Rudi, Kraal Georg, Binder Christoph, de Winther Menno, van den Berg Timo	4. 巻 11
2. 論文標題 SIRP on Mouse B1 Cells Restricts Lymphoid Tissue Migration and Natural Antibody Production	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 570963
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.570963	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 該当する

1. 著者名 Nishimura Taichi, Saito Yasuyuki, Washio Ken, Komori Satomi, Respatika Datu, Kotani Takenori, Murata Yoji, Ohnishi Hiroshi, Mizobuchi Satoshi, Matozaki Takashi	4. 巻 50
2. 論文標題 SIRP on CD11c+ cells induces Th17 cell differentiation and subsequent inflammation in the CNS in experimental autoimmune encephalomyelitis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 European Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 1560 ~ 1570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/eji.201948410	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 該当する

1. 著者名 Wang Bochao, Hara Kouichi, Kawabata Akiko, Nishimura Mitsuhiro, Wakata Aika, Tjan Lidya Handayani, Poetranto Anna Lystia, Yamamoto Chisato, Haseda Yasunari, Aoshi Taiki, Munakata Lisa, Suzuki Ryo, Komatsu Masato, Tsukamoto Ryuko, Itoh Tomoo, Nishigori Chikako, Saito Yasuyuki, Matozaki Takashi, Mori Yasuko	4. 巻 16
2. 論文標題 Tetrameric glycoprotein complex gH/gL/gQ1/gQ2 is a promising vaccine candidate for human herpesvirus 6B	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1008609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.ppat.1008609	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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yasuyuki Saito, Rie Iida, Daisuke Hazama, Takenori Kotani, Yoji Murata, Hiroshi Yokozaki, Takashi Matozaki
2. 発表標題 A novel humanized mouse model in vivo evaluation of cancer immunotherapy targeting human macrophages
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuyuki Saito, Rie Iida-Norita, Daisuke Hazama, Refaat Alaa, Satomi Komori, Takenori Kotani, Yoji Murata, Takashi Matozaki
2. 発表標題 Preclinical Evaluation of the efficacy of anti-human SIRP antibody for cancer immunotherapy by the use of humanized mice
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yasuyuki Saito, Rie Iida, Daisuke Hazama, Takenori Kotani, Yoji Murata, Takashi Matozaki
2. 発表標題 Humanized mouse models for in vivo evaluation of cancer immunotherapy targeting human macrophages
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Rie Iida-Norita, Yasuyuki Saito, Daisuke Hazama, Satomi Komori, Hiroki Yoshida, Risa Sugihara, Yoji Murata, and Takashi Matozaki
2. 発表標題 A novel humanized mouse model for assessing human macrophage-targeted cancer immunotherapy in vivo
3. 学会等名 14th International Conference on Protein Phosphatase (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Rie Iida-Norita, Yasuyuki Saito, Daisuke Hazama, Satomi Komori, Hiroki Yoshida, Risa Sugihara, Yoji Murata, and Takashi Matozaki
2. 発表標題 A novel humanized mouse model for assessing human macrophage-targeted cancer immunotherapy in vivo
3. 学会等名 神戸大学・理研BDR合同シンポジウム
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室ホームページ https://www.med.kobe-u.ac.jp/tougou/signal/Home.html
--

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