

令和 4 年 4 月 5 日現在

機関番号：17401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22850

研究課題名(和文)メラノーマに対するOX40L遺伝子導入iPS細胞由来マクロファージ療法の開発

研究課題名(英文)Development of Induced pluripotent stem cell-derived macrophages expressing OX40 ligand therapy

研究代表者

木村 俊寛(Kimura, Toshihiro)

熊本大学・病院・診療助手

研究者番号：40879904

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文):不死化したiPS細胞由来の骨髄前駆細胞(iPS-ML)にOX40Lを導入することでマウスメラノーマに対する治療効果が増強されることを確認できた。一方で、安全面からはiPS-MLの腫瘍化リスクが課題として挙げられたため治療マウスとMHCclassIIの一部のみが異なるマウス由来の細胞を用いて同様の治療を行った結果、効果の差がないことが確認できた。つまりMHCclassIが一致していればiPS-MLの治療効果は阻害されないということであり、長期的にはいずれ免疫学的に排除されるため腫瘍化の側面からはより安全であると思われた。今後は免疫チェックポイント阻害薬との併用による乗せ効果を確認する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗PD-1抗体を始めとした免疫チェックポイント阻害薬(ICI)の有効性が明らかになったが、日本人に多いとされる末端黒子型のメラノーマではその効果は限定的であるため本邦での進行期メラノーマ診療はいまだに難渋しているのが現状である。併用が期待される従来の細胞移入療法はその培養の困難さやコストの観点から一般病院での普及は非現実的である。

iPS細胞をソースとした細胞移入療法がICIの効果を増幅できれば、将来的にはバンク等から事前に各種HLAのiPS-MLを大量に作成しておくことで速やかにクオリティーの保証された細胞を供給することができるため、より広く普及しやすい細胞移入療法になることが期待できる。

研究成果の概要(英文): We have established an immune cell therapy with immortalized myeloid cell lines derived from induced pluripotent stem (iPS) cells (iPS-ML), and OX40L-expressing iPS-ML, (iPS-ML-OX40L). However, the tumorigenicity is a matter of concern. Therefore, we performed the experiments mimic allogenic situations. As a result, there was no difference in therapeutic effects between syngeneic and allogenic environments.

These results suggest that allogenic immune cell therapy could show equivalent anticancer effects and these cells will be removed immunologically in long view, therefore iPS-ML therapy will become more safe.

In future, we want to show the efficacy of iPS-ML-OX40L and immune checkpoint inhibitor combination therapy.

研究分野：皮膚科

キーワード：メラノーマ iPS-ML OX40 OX40L

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メラノーマは年間 2000 人の新規患者がいる中で、650 人/年が死亡している非常に悪性度の高い癌である。リンパ行性、血行性に転移をきたしやすく、手術が不可能な場合、以前はダカルバジンなどの化学療法が選択されていたが、その長期寛解率は 2% と非常に予後不良であった。その後新たな治療法として、抗 PD-1 抗体を始めとした免疫チェックポイント阻害薬の有効性が明らかになったが、有効率は 30-40% にすぎず、十分とは言えない。一方、同時に注目を浴びているがん免疫療法として養子細胞移入療法がある。これは腫瘍内に浸潤したリンパ球 (TIL) を患者個別に採取し、培養・増殖させた上で再投与する治療法であり、メラノーマに対する効果は奏効率 72% と現時点で最も強力な免疫療法と言える。しかしながら培養の困難さやコストの観点から一般病院での普及は非現実的である。患者個人から細胞を個々に調整する必要があるため、その作業だけで 3 週間以上の時間を要し、腫瘍の進展に細胞調整が間に合わず投与できない状況もある。このような背景から、現時点でメラノーマ治療においては、より効果が高く、より広く普及可能ながん免疫療法が求められている。

2. 研究の目的

我々はこれまで不死化した iPS 細胞由来ミエロイドライン (iPS-ML) を用いた細胞療法について研究を進めており、この iPS-ML に免疫チェックポイントのアクセル分子である OX40L を導入することで、マウスメラノーマに対する治療効果が増強されることもすでに確認している。それだけでなく、その機能解析からは OX40L 過剰発現 iPS-ML が腫瘍内に多くの活性化 T 細胞を招き入れており、様々なサイトカインやケモカインを放出することで腫瘍微小環境を変え、抗腫瘍効果を引き起こしていることが推測された。これはすなわち腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) が減少し免疫チェックポイント阻害薬の無効例となり易い cold tumor の状態から多くの TIL が浸潤する hot tumor の状態に改善することということであり、OX40L 過剰発現 iPS-ML と免疫チェックポイント阻害薬との併用による治療効果の増幅が期待される。臨床応用に向けてまずは in vivo での治療効果について検討し、そのメカニズムの解析および安全性の評価を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

具体的な実験計画としては、メラノーマ細胞を腹膜播種したマウスを非治療群、iPS-ML 投与群、iPS-ML-OX40L 投与群、抗 PD-1 抗体+iPS-ML 投与群、抗 PD-1 抗体+iPS-ML-OX40L 投与群、抗 CTLA-4 抗体+iPS-ML 投与群および抗 CTLA-4 抗体+iPS-ML-OX40L 投与群の 7 群に分け、併用による治療の上乗せ効果を検証する。さらに、治療後の脾臓や腫瘍を採取し、リンパ球の免疫染色および FCM での解析を行い、制御性 T 細胞、メモリー T 細胞、エフェクター T 細胞の分布を確認することで生体内での免疫応答の機能解析を行う。

また、安全性の評価としては iPS-ML の腫瘍化リスクが課題として挙がっていたため、治療に用いる B6 マウスと MHCclassII の一部のみが異なるマウス:129Sv マウス由来の ES-ML を用いて同様の治療を行い比較する。

4. 研究成果

MHCclassII 一致の iPS-ML、不一致の ES-ML での治療においては、両者間に有意な効果の差は見られなかった。これはすなわち MHCclassI が一致していれば iPS-ML の治療効果は阻害されず、長期的には治療効果を発揮したのちにいずれ免疫学的に排除されることを示唆しており、将来的には HLA のみ一致した他人の iPS-ML で治療することにより腫瘍化のリスクの観点からは

より安全に治療に用いることができるであろうことが推測された。

免疫チェックポイント阻害薬との併用治療の効果確認については新型コロナウイルスパンデミックにより進行は大幅に遅れており、まだ iPS-ML-OX40L の上乗せ効果については確認できていない。まずは *in vivo* においてマウスメラノーマに対して抗 PD-L1 抗体を投与する治療スケジュールについて条件設定を確認しており、今後この条件に iPS-ML-OX40L での治療を加えることで、上乗せ効果について評価を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9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 Mizuhashi Satoru, Kubo Yosuke, Fukushima Satoshi, Kanemaru Hisashi, Nakahara Satoshi, Miyasita Azusa, Ishibashi Takayuki, Kuriyama Haruka, Kimura Toshihiro, Masuguchi Shinichi, Zhang Rong, Iwama Tatsuaki, Nakatsura Tetsuya, Uemura Yasushi, Senju Satoru, Ihn Hironobu	4. 巻 102
2. 論文標題 Immune cell therapy against disseminated melanoma by utilizing induced pluripotent stem cell-derived myeloid cell lines producing interferon-beta or interleukin-15/interleukin-15 receptor alpha	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 133～136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdermsci.2021.03.005	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 Kaneko Akira, Kanemaru Hisashi, Kajihara Ikko, Mijiddorj Tselmeg, Miyauchi Hitomi, Kuriyama Haruka, Kimura Toshihiro, Sawamura Soichiro, Makino Katsunari, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Makino Takamitsu, Masuguchi Shinichi, Fukushima Satoshi, Ihn Hironobu	4. 巻 102
2. 論文標題 Liquid biopsy-based analysis by ddPCR and CAPP-Seq in melanoma patients	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 158～166
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jdermsci.2021.04.006	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 Takei Itsuki, Sawamura Soichiro, Kimura Toshihiro, Makino Takamitsu, Aoi Jun, Kajihara Ikko, Nishimura Yuki, Igata Toshikatsu, Masuguchi Shinichi, Fukushima Satoshi	4. 巻 63
2. 論文標題 Amelanotic melanoma of the nail apparatus complicated with digital mucous cyst	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Australasian Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 e95～e96
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/ajd.13679	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 Kanemaru Hisashi, Mizukami Yukari, Kaneko Akira, Tagawa Hidemi, Kimura Toshihiro, Kuriyama Haruka, Sawamura Soichiro, Kajihara Ikko, Makino Katsunari, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Makino Takamitsu, Masuguchi Shinichi, Fukushima Satoshi, Ihn Hironobu	4. 巻 24
2. 論文標題 A mechanism of cooling hot tumors: Lactate attenuates inflammation in dendritic cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 103067 ~ 103067
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2021.103067	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 Kimura Toshihiro, Fukushima Satoshi	4. 巻 33
2. 論文標題 Induced pluripotent stem cell derived myeloid cells expressing OX40 ligand amplify antigen specific T cells in advanced melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pigment Cell & Melanoma Research	6. 最初と最後の頁 744 ~ 755
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/pcmr.12887	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 Tagawa Hidemi, Kanemaru Hisashi, Kimura Toshihiro, Kuriyama Haruka, Sawamura Soichiro, Kajihara Ikko, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Fukushima Satoshi, Ihn Hironobu	4. 巻 47
2. 論文標題 BATF2 expression as a novel marker for invasive phenotype in malignant melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Journal of Dermatology	6. 最初と最後の頁 372 ~ 373
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15495	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 Kuriyama Haruka, Fukushima Satoshi, Kimura Toshihiro, Okada Etsuko, Ishibashi Takayuki, Mizuhashi Satoru, Kanemaru Hisashi, Kajihara Ikko, Makino Katsunari, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Okada Seiji, Ihn Hironobu, Kita Kanako	4. 巻 100
2. 論文標題 Matrin-3 plays an important role in cell cycle and apoptosis for survival in malignant melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 110 ~ 119
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2020.08.013	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 Ishibashi Takayuki, Kajihara Ikko, Mizuhashi Satoru, Kuriyama Haruka, Kimura Toshihiro, Kanemaru Hisashi, Makino Katsunari, Miyashita Azusa, Aoi Jun, Makino Takamitsu, Fukushima Satoshi, Kita Kanako, Ihn Hironobu	4. 巻 14
2. 論文標題 Methyl-CpG binding domain protein 3: a new diagnostic marker and potential therapeutic target of melanoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioScience Trends	6. 最初と最後の頁 390 ~ 395
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5582/bst.2020.01048	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 Kuriyama Haruka, Kimura Toshihiro et. al.	4. 巻 22
2. 論文標題 Immunotherapy with 4-1BBL-Expressing iPS Cell Derived Myeloid Lines Amplifies Antigen-Specific T Cell Infiltration in Advanced Melanoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 1958 ~ 1958
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22041958	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2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Toshihiro Kimura
2. 発表標題 iPS cell-derived myeloid cells expressing OX40 ligand amplify tumor-infiltrating T cells in advanced melanoma
3. 学会等名 The 46th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology. (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村 俊寛
2. 発表標題 悪性黒色腫に対するiPS細胞由来OX40L導入マクロファージ療法の開発
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
---------	---------