

令和 7 年 6 月 10 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2024

課題番号：21K07941

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害剤抵抗性を改善する革新的膵癌治療法の開発

研究課題名（英文）Development of an Innovative Therapeutic Strategy for Pancreatic Cancer to Overcome Resistance to Immune Checkpoint Inhibitors

研究代表者

飯田 忠 (Iida, Tadashi)

名古屋大学・医学部附属病院・病院助教

研究者番号：30878319

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、AM80と免疫チェックポイント阻害剤（ICI）併用による腫瘍縮小効果と、AM80による免疫プロファイル変化の機序解明を目的とする。膵癌などのマウスモデルで併用の有効性を確認し、一細胞解析でリンパ球やマクロファージの変化、特にM1様マクロファージへの変化がICI感受性を高めることが示された。免疫染色やフローサイトメトリーでも同様の変化を確認し、Meflin陽性細胞由来のケモカイン・ケメリンがこの変化を誘導することが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果をもとに臨床試験計画を立案し、特定臨床試験としての実施に向けて各種申請書類を整備した。2024年2月には先進医療Bの認可を取得し、3月にはEDC（電子データ収集）システムの構築を完了、令和6年4月より臨床試験を開始し、有効性の検証を進めている。今後、ICI抵抗性膵癌に対する治療効果が確立されれば、ICIが無効とされる他のがん種への応用・適応拡大も期待される。

研究成果の概要（英文）：This study aims to investigate the tumor-suppressive effect of combining AM80 with immune checkpoint inhibitors (ICIs) and to clarify the associated immune changes and mechanisms. In mouse models of pancreatic, urothelial, gastric, and lung cancers, AM80 combined with anti-PD-1 or anti-PD-L1 antibodies enhanced therapeutic effects. Single-cell analysis revealed that AM80 altered immune cells, especially lymphocytes and macrophages. Notably, macrophages shifted to an M1-like phenotype, increasing ICI sensitivity. These changes were confirmed by immunohistochemistry and flow cytometry. Mechanistically, AM80-induced Meflin-positive fibroblasts secreted chemerin, a chemokine that promoted M1 polarization of macrophages. This remodeling of the tumor microenvironment contributed to a stronger antitumor immune response. Our findings suggest that AM80 can reprogram stromal and immune components to overcome ICI resistance and improve treatment outcomes in cancer models.

研究分野：消化器内科学

キーワード：膵癌 癌関連線維芽細胞 レチノイド AM80 メフリン 免疫チェックポイント阻害剤

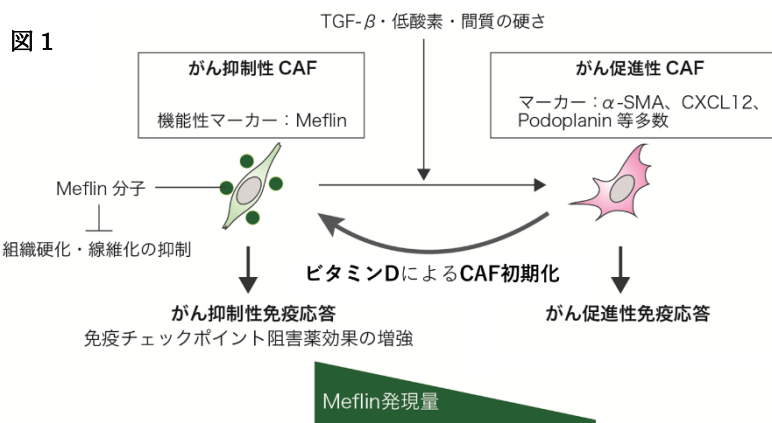
科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

膵がんは5年生存率が9.6%と予後の悪いがんであり、その原因の一つとして化学療法に対する治療抵抗性が知られている。殺細胞性抗がん剤や分子標的薬は勿論のこと、最近脚光を浴びているICIに関しても単剤では効果が乏しく予後改善には至っていない。この治療抵抗性を改善させることが膵がん治療における最重要課題であり、課題解決にはこれを引き起こすメカニズムの理解が不可欠である。現在この原因として考えられているのは膵がんに特徴的な病理像である高度な間質の増生であり、メカニズムとして①間質圧の上昇により血管が虚脱し抗がん剤や免疫チェックポイント阻害剤ががん細胞やリンパ球などの標的細胞へと浸透するのが極めて悪い(薬剤送達の阻害)こと、②豊富な細胞外器質によりリンパ球の腫瘍内への浸潤が乏しいことが言われている。

間質はCAFと同細胞が産生するコラーゲン等の細胞外基質から構成される。近年の研究により、CAFにはがんの進行を促進する「がん促進性CAF」とがんの進行を抑制する「がん抑制性CAF」の両者が存在することが知られている。治療抵抗性の原因となるのはがん促進性CAFでありその反対の機能を持つがん抑制性のCAFの本態は長らく不明であった。しかし研究代表者らは昨年、世界に先駆けてがん抑制性CAFのマーカーMeflinを同定し、またMeflin陽性がん抑制性CAFが、がんの進行中にMeflin陰性がん促進性CAFに形質転換する(CAFのがん細胞側への寝返り現象)ことも明らかにした(図1、Mizutani et al., Cancer Res, 2019)。さらにビタミンD誘導体の投与によりCAFにおけるMeflinの顕著な発現上昇がみられ、ビタミンD誘導体はがん促進性CAFをがん抑制性CAFに戻すこと(CAF初期化)ができることを合わせて報告している。

実際にビタミンD誘導体を膵がんマウスモデルに投与すると間質が変化し腫瘍内血管が拡張し抗がん剤が腫瘍内を浸透しやすくなる(薬剤送達を改善)ことも報告されている(Sherman et al., Cell, 2015)ことから、ビタミンD誘導体のようなCAF



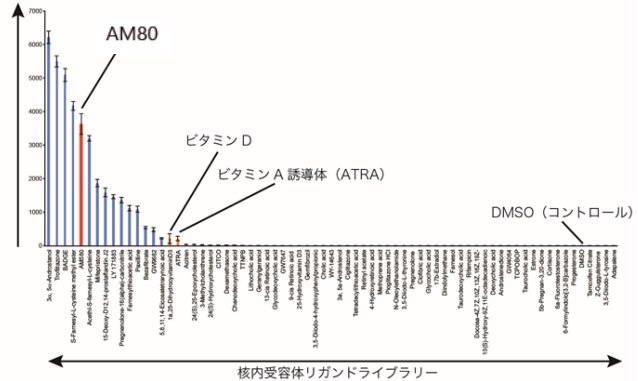
を初期化する薬(CAF初期化薬)を使用すれば、抗がん剤やICIの感受性が上昇する可能性が示唆されている。

これをうけて現在、米国では切除不能進行性膵がんに対してビタミンD誘導体と抗がん剤あるいはICIの併用療法の治験が20数種類行われている(clinicaltrial.govの情報による)。一部良好な結果がでてつつあるが、通常量より数百倍のビタミンD誘導体を投与しないと効果がでないこと、高カルシウム血症が必発であり継続投与が難しいことが大きな問題となっており、副作用が少なくビタミンD誘導体を超える働きをもつCAF初期化薬の発見が期待されている。

研究代表者らはビタミン D 誘導体が核内受容体に作用する分子であることから、同受容体のリガンドライブラリーをヒト膵がん由来 CAF を用いてスクリーニングしたところ、ビタミン D 誘導体よりも Meflin の発現量を上昇させる薬剤として AM80 を同定した (図 2、論文未発表)。

担がんマウスモデルで検証したところ、AM80 自体は抗腫瘍効果を示さなかったが、AM80 と抗がん剤の併用は、抗がん剤単独に比較して有意な抗腫瘍効果を示した。AM80 を投与された腫瘍を観察したところ、Meflin 陽性 CAF の増加と腫瘍血管の拡張がみられた。本効果は Meflin 欠損マウスでは確認されなかった。すなわち、メカニズムとして、AM80 は CAF における Meflin の発現の増強を介して抗がん剤の効果を増強している可能性が示唆された (特願 2020-110560)。

図 2 Meflin 発現量 (ヒト膵がん CAF)



が確認された投与量はヒト換算で安全性が確認されている投与量であり、これを受けて現在ラクオリア創薬と共同研究で切除不能進行性膵がん例に対して抗がん剤と AM80 の併用の効果を検証する医師主導治験を予定している。

さらに研究代表者らは、非小細胞性肺がん 88 例を用いた検証において、Meflin 陽性がん抑制性 CAF の量は ICI に対する奏効率と有意に相関することを明らかにしている (特願 PCT/JP2019/4521)。Meflin 陽性 CAF が 20%以下の症例では同阻害剤の奏効率は 0%であり、CAF の多様性が腫瘍免疫応答にも関わっていることが判明している。また、野生型および Meflin 欠損マウスにマウス大腸がん細胞株 MC38 を皮下移植し、PD-1 抗体を投与したところ、Meflin 欠損マウスでは抗腫瘍効果の有意な低下を認めた。さらに腫瘍浸潤リンパ球の解析ではヒトと一致して、Meflin 欠損マウスでヘルパー T 細胞の低下を認めている。

以上より Meflin の発現の上昇は薬剤送達を改善させるだけでなく、間質のリンパ球を含めた免疫プロファイルを変化させ ICI の効果を増強する可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究の目的は膵がんにおける AM80 (Meflin の発現を上昇させる薬剤) と ICI との併用効果とそのメカニズムを解明することである。これが解明されれば、今後膵がんだけでなく他のがん腫に関して免疫チェックポイント阻害薬の効果を高める可能性を AM80 は秘めており学術的独自性と意義は高く評価されるものと期待している。

3. 研究の方法

(1)AM80 と ICI との併用による腫瘍縮小効果の検証とプロトコールの確立

マウス膵がん細胞株として mT5 の他に、胃癌細胞株、肺癌細胞株、尿路上皮癌細胞株を既に入手済みである。これらの細胞株は野生型 C57BL/6 マウスに皮下移植あるいは同所性移植し ICI (PD-1 抗体あるいは PD-L1 抗体) に対する奏効の有無を検証する。さらにこれらの細胞株を用い、AM80 併用により腫瘍縮小効果の有無の検証と、腫瘍縮小効果が最も増強されるプロトコール (AM80 投与開始時期・投与期間、ICI 併用時期) を腫瘍体積で評価し確立する。

(2)非臨床検体を用いた AM80 による免疫プロファイルの変化 (Meflin との関連性の解明) の検証とメカニズムの解明

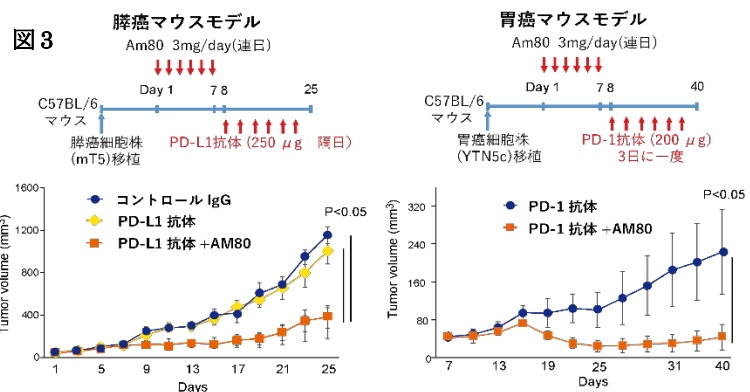
(1)により確立された細胞株・プロトコルを用い、AM80 投与群と AM80 非投与群の腫瘍を比較する。CAF の各種マーカーの解析に加えて、腫瘍内に浸潤するリンパ球のプロファイル (CD4, CD8, CD20, FoxP3) を免疫染色あるいはより多くの浸潤細胞のプロファイルを網羅的に FACS によって検証し、CAF における Meflin の発現量との関連を調べる。

さらにより確立された細胞株・プロトコルを既に作成されている Meflin 欠失マウスに用いその効果を検証しメカニズムの解明につなげる。

4. 研究成果

(1) AM80 と ICI との併用による腫瘍縮小効果の検証とプロトコルの確立

マウス膵癌細胞株 mT5 に加え、胃癌、肺癌、尿路上皮癌のマウス癌細胞株を用いて、野生型 C57BL/6 マウスに対して皮下あるいは同所性に移植し、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI : 抗 PD-1 抗体または抗 PD-L1 抗体) に対する反応性を検証した。さら



に、これらのモデルを用いて AM80 との併用効果を評価し、腫瘍縮小効果の有無および最も効果的な治療プロトコル (AM80 の投与開始時期、投与期間、ICI との併用タイミング) を腫瘍体積に基づき確立した。

その結果、膵癌、尿路上皮癌、胃癌、肺癌のマウスモデルすべてにおいて、ICI 単独投与に比べて AM80 との併用により有意な腫瘍縮小効果が認められた (図 3)。とりわけ、ICI 開始の 5~7 日前から AM80 を事前投与する“ICI 前投与法”が最も効果的であり、同時投与では同様の効果は得られなかった (PCT/JP2021/024382)。このことから、AM80 は ICI の感受性を高める効果を有するが、その効果発現には投与タイミングの最適化が必須であることが明らかとなった。

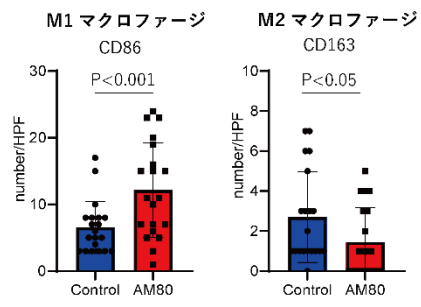
(2) AM80 による免疫プロファイルの変化と Meflin を介した作用機序の解明

確立したプロトコルを用いて、AM80 投与群と非投与群における腫瘍微小環境の免疫プロファイルを比較した。CAF の各種マーカーに加え、腫瘍内リンパ球 (CD4⁺, CD8⁺, CD20⁺, FoxP3⁺) の免疫染色および FACS 解析を行い、浸潤免疫細胞の変化を網羅的に解析した。その結果、AM80 投与群ではリンパ球に加えて特にマクロファージに顕著な変化が認められ、これが ICI 感受性の増強に寄与していることが示唆された。AM80 は CAF に発現するレチノイド受容体を介して Meflin の発現を誘導し、この Meflin 陽性 CAF が腫瘍間質内の免疫細胞の極性 (とくにマクロファージ) に影響を与えることを非臨床試験により明らかとした。実際、Meflin 欠失マウスでは、AM80 による ICI 感受性増強効果やマクロファージの変化は認められず、Meflin が本作用機序において必須であることが示された。

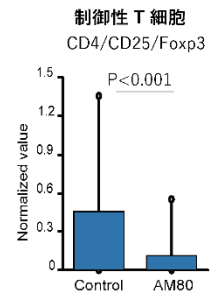
さらに、Meflin 陽性 CAF が特異的に発現するケモカインとして Chemerin (ケメリン) を同定した。Chemerin はマクロファージに作用し、抗腫瘍免疫に関与する M1 マクロファージへの分化を促進することが報告されており、本研究においても同様の M1 マクロファージの増加が確認された。これらの結果は、AM80 による CAF の Meflin 発現誘導を起点とした Chemerin-M1 マク

ロファージ軸が、ICI 感受性を増強する新たなメカニズムであることを示唆している。

図4 マクロファージの変化 (IHC)



T細胞の変化 (一細胞解析)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ando Ryota, Sakai Akihiro, Iida Tadashi, Kataoka Kunio, Mizutani Yasuyuki, Enomoto Atsushi	4. 巻 14
2. 論文標題 Good and Bad Stroma in Pancreatic Cancer: Relevance of Functional States of Cancer-Associated Fibroblasts	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3315 ~ 3315
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers141143315	査読の有無 無
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 Ando Ryota, Shiraki Yukihiro, Miyai Yuki, Shimizu Hiroki, Furuhashi Kazuhiro, Minatoguchi Shun, Kato Katsuhiko, Kato Akira, Iida Tadashi, Mizutani Yasuyuki, Ito Kisuke, Asai Naoya, Mii Shinji, Esaki Nobutoshi, Takahashi Masahide, Enomoto Atsushi	4. 巻 262
2. 論文標題 Meflin is a marker of pancreatic stellate cells involved in fibrosis and epithelial regeneration in the pancreas	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 61 ~ 75
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.6211	査読の有無 無
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 飯田 忠、大脇貴之、岡田晴生、水谷泰之、安藤良太、藤城光弘、川嶋啓揮、榎本 篤	4. 巻 45
2. 論文標題 なぜ膵癌は免疫チェックポイント阻害薬が効かないのか？～その機序と克服をめざした膵癌間質研究～	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 胆と膵	6. 最初と最後の頁 171-178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Iida T, Mizutani Y, Esaki N, Ponik SM, Burke BM, Weng L, Kuwata K, Masamune A, Ishihara S, Haga H, Kataoka K, Mii S, Shiraki Y, Ishikawa T, Ohno E, Kawashima H, Hirooka Y, Fujishiro M, Takahashi M, Enomoto A	4. 巻 41
2. 論文標題 Pharmacologic conversion of cancer-associated fibroblasts from a protumor phenotype to an antitumor phenotype improves the sensitivity of pancreatic cancer to chemotherapeutics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 2764-2777
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-022-02288-9	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 該当する

1. 著者名 Ohno Eizaburo, Kawashima Hiroki, Ishikawa Takuya, Mizutani Yasuyuki, Iida Tadashi, et al.	4. 巻 12
2. 論文標題 The role of EUS elastography-guided fine needle biopsy in the histological diagnosis of solid pancreatic lesions: a prospective exploratory study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SCIENTIFIC REPORTS	6. 最初と最後の頁 16603
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-21178-4	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 Kataoka Kunio, Kawashima Hiroki, Ohno Eizaburo, Ishikawa Takuya, Mizutani Yasuyuki, Iida Tadashi, Furukawa Kazuhiro, Nakamura Masanao, Honda Takashi, Ishigami Masatoshi, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Comparison of outcomes between secondary fully covered and uncovered self-expandable metal stents in the treatment of recurrent biliary obstruction of pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 SURGICAL ENDOSCOPY AND OTHER INTERVENTIONAL TECHNIQUES	6. 最初と最後の頁 5676 - 5683
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-021-08981-2	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 Iida Tadashi, Mizutani Yasuyuki, Esaki Nobutoshi, Ponik Suzanne M., Burkel Brian M., Weng Liang, Kuwata Keiko, Masamune Atsushi, Ishihara Seiichiro, Haga Hisashi, Yulshikawa Takuya, Ohno Eizaburo, Kawashima Hiroki, Hirooka Yoshiki, Fujishiro Mitsuhiro, Takahashi Masahide, Enomoto Atsushi	4. 巻 -
2. 論文標題 Pharmacologic conversion of cancer-associated fibroblasts from a protumor phenotype to an antitumor phenotype improves the sensitivity of pancreatic cancer to chemotherapeutics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-022-02288-9	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 該当する

1. 著者名 Mizutani Yasuyuki, Iida Tadashi, Ohno Eizaburo, Ishikawa Takuya, Kinoshita Fumie, Kuwatsuka Yachiyo, Imai Miwa, Shimizu Shinobu, Tsuruta Toshihisa, Enomoto Atsushi, Kawashima Hiroki, Fujishiro Mitsuhiro	4. 巻 22
2. 論文標題 Safety and efficacy of MIKE-1 in patients with advanced pancreatic cancer: a study protocol for an open-label phase I/II investigator-initiated clinical trial based on a drug repositioning approach that reprograms the tumour stroma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-022-09272-2	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 飯田 忠, 榎本 篤, 川嶋啓揮
2. 発表標題 癌関連線維芽細胞をターゲットにした免疫チェックポイント阻害剤感受性改善薬の開発
3. 学会等名 第54回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 T Iida, H Kawashima, A Enomoto
2. 発表標題 Pharmacologic conversion of cancer-associated fibroblasts from a protumor phenotype to an antitumor phenotype improves the sensitivity of pancreatic cancer to immune checkpoint blockade therapy
3. 学会等名 AACR special conference in Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 飯田 忠, 水谷泰之, 川嶋啓揮, 榎本 篤
2. 発表標題 癌抑制性線維芽細胞の同定と治療応用
3. 学会等名 第81回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大脇 貴之, 宮井 雄基, 飯田 忠, 江崎 寛季, 白木 之浩, 三井 伸二, 榎本 篤
2. 発表標題 Meflinは尿路上皮癌における免疫チェックポイント阻害剤治療の効果予測バイオマーカーである
3. 学会等名 第81回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯田 忠
2. 発表標題 癌抑制性線維芽細胞の同定と治療応用
3. 学会等名 第52回日本膵臓学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 飯田 忠
2. 発表標題 膵癌における癌関連線維芽細胞をターゲットにした新たな治療薬の探索
3. 学会等名 第107回日本消化器病学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 飯田 忠, 水谷 泰之, 石川 卓哉, 大野 栄三郎, 川嶋 啓揮, 榎本 篤, 藤城 光弘	4. 発行年 2021年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 4
3. 書名 消化器・肝臓内科	

1. 著者名 飯田 忠, 水谷 泰之, 榎本 篤	4. 発行年 2021年
2. 出版社 科学評論社	5. 総ページ数 5
3. 書名 臨床免疫・アレルギー科	

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 レチノイドとがん治療薬との併用療法が有効ながん患者の選択方法およびレチノイドとがん治療薬との併用医薬	発明者 飯田忠、榎本篤、川嶋啓揮	権利者 東海国立大学機構
産業財産権の種類、番号 特許、C20210078TW#P01	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 レチノイドとがん治療薬との併用療法が有効ながん患者の選択方法およびレチノイドとがん治療薬との併用医薬	発明者 飯田忠、榎本篤、川嶋啓揮	権利者 東海国立大学機構
産業財産権の種類、番号 特許、特許登録番号7327855号	取得年 2023年	国内・外国の別 国内

〔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	大野 栄三郎 (Ohno Eizaburo) (00447822)	藤田医科大学・医学系研究科・准教授 (33916)	
研究分担者	石川 卓哉 (Ishikawa Takuya) (00792649)	名古屋大学・医学部附属病院・講師 (13901)	
研究分担者	川嶋 啓揮 (Kawashima Hiroki) (20378045)	名古屋大学・医学系研究科・教授 (13901)	
研究分担者	藤城 光弘 (Fujishiro Mitsuhiro) (70396745)	東京大学・医学系研究科・教授 (12601)	

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