

令和 6 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09371

研究課題名（和文）骨髄由来免疫抑制細胞の抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬の探索

研究課題名（英文）Unraveling the anti-cancer immune evasion mechanism of immune suppressive cells and exploring the basis for innovative cancer therapy

研究代表者

黄 鵬（HUANG, Peng）

岡山大学・中性子医療研究センター・研究准教授

研究者番号：00610841

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）：本申請研究では、腫瘍免疫応答活性化に寄与するREICの作用点とその分子メカニズムの解明によりREIC/DKK-3との結合により骨髄由来抑制細胞の游走及び局所への浸潤の抑制効果の解明に焦点を当てた解析を行った。腫瘍免疫活性化の向上・副作用の低減を狙った高機能化REICの開発が可能となり、新規抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬の創製基盤の構築へと大きく前進する。今回の成果は、REIC/DKK-3遺伝子を基盤シードとする骨髄由来免疫抑制細胞の抗癌免疫逃避メカニズムの解明に基づく革新的癌創薬の展開基盤になるものと判断した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請研究では、免疫調整剤として機能するREICタンパク質の分子メカニズムを解明することにより、骨髄由来免疫抑制細胞の抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬の開発が可能となり、新規がん免疫治療薬の創製基盤の構築へと大きく前進する。

研究成果の概要（英文）：In this study, we focused elucidate of REIC that contributes to tumor immune response activation and its molecular mechanism, and elucidate the effect of binding with REIC/DKK-3 on suppressing the migration and local infiltration of myeloid-derived suppressor cells. It has become possible to develop a highly functional REIC that aims to improve tumor immune activation and reduce side effects, making a major step forward in building the foundation for innovative cancer drug discovery based on the elucidation of novel anticancer immune escape mechanisms.

It was determined that these results will form the basis for innovative cancer drug discovery based on the elucidation of the anti-cancer immune escape mechanism of bone marrow-derived immunosuppressive cells based on the REIC/DKK-3 gene.

研究分野：泌尿器科

キーワード：骨髄由来免疫抑制細胞 腫瘍免疫応答 REIC/DKK-3 免疫逃避 前立腺癌

研究開始当初の背景

近年、標的医療の研究開発においては、新たな免疫チェックポイント阻害薬の探索とともに癌免疫治療の創薬、特に、その臨床効果の検証と効果増強法の開発が注目すべき研究となっている。現在、申請者らによって新規遺伝子治療「癌治療遺伝子 REIC/DKK-3 を用いた前立腺癌に対する in-situ 遺伝子治療」の臨床研究が実施され、PSA 低下を伴う抗腫瘍効果及び自己癌ワクチン化作用が誘導されることが実証されている。特に、抗癌免疫様作用を有する REIC タンパク質が、ヒト生体内において骨髄由来免疫抑制細胞を抑制することが示唆されている。また、最近の申請者の研究より、REIC/DKK-3 に、MDSC 細胞に発現するカモカイン受容体のアンタゴニスト様の作用を発見した。これは、REIC/Dkk-3 抗癌免疫治療における新規医薬候補として大きく期待される状況にあると考えられる。このことが、骨髄由来免疫抑制細胞の抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬の開発を検証するという本研究構想に至った根源的な理由であり、本研究開始の機は熟している。

2. 研究の目的

本研究の主な目的は、骨髄由来免疫抑制細胞の抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬を探索することにある。前述のように、我々は長年の研究を基盤に、REIC をがん治療に有用な遺伝子治療薬として開発してきたが、そのタンパク質分子としての作用機序は未解明の部分が多い。分泌タンパク質としての作用点を明確にし、腫瘍免疫応答活性化のメカニズムを分子レベルで解明することは、REIC 創薬の合理性に関する proof of concept 取得につながる。本申請研究では、これら受容体と REIC との詳細な分子間相互作用、その下流のシグナル伝達様式、発現する組織と細胞、REIC-受容体経路の細胞における機能的役割を明らかにする。腫瘍免疫応答活性化に寄与する REIC の作用点とその分子メカニズム解明により REIC/DKK-3 とケモカイン受容体を発現する骨髄由来抑制細胞の結合により骨髄由来抑制細胞の游走及び局所への浸潤の抑制効果の解明に焦点を当てた解析を行う。特に、免疫調整剤として機能する REIC タンパク質の分子メカニズムを解明することにより、腫瘍免疫活性化の向上・副作用の低減を狙った高機能化 REIC の開発が可能となり、新規抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬の創製基盤の構築へと大きく前進する。

3. 研究の方法

本研究方法は、具体的に下記の通りである。前立腺がん担癌マウスより末梢血を採取後 FACS Aria で MDSC 細胞を分離し、MDSC 細胞の表面マーカーの確認を行った。分離した MDSC 細胞に対する REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターのケモカインレセプターの抑制効果の観点から解析した。Ad-REIC の抗癌作用に基づく免疫逃避応答に関する機序を解明し、その有効性を検証した。次に、分離した MDSC 細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子ベクター(タンパク質)を作用させ、細胞内タンパク質を抽出し、または特異的 siRNA によりノックダウンさせ、遺伝子-タンパク質発現変動をマイクロアレイやタンパク質抗体

アレイ等により解析し、細胞核内の標的遺伝子群(転写されるタンパク質群)の同定を行い、REIC/Dkk-3 と MDSC 細胞膜上での結合分子・受容体の同定を選抜し、外源性 REIC より骨髄由来免疫抑制細胞の抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌治療のメカニズムの一端を解明するため、前立腺がん担癌マウスモデルに対する REIC/DKK3 遺伝子の有効性を検証した。

4. 研究成果

本申請研究では、REIC/DKK-3 と特定のケモカイン受容体を発現する骨髄由来抑制細胞との結合により骨髄由来抑制細胞の游走及び局所への浸潤の抑制効果の検討を行った。これら受容体と REIC との詳細な分子間相互作用、その下流のシグナル伝達様式、発現する組織と細胞、REIC-受容体経路の細胞における機能的役割を一部が解明した。腫瘍免疫応答活性化に寄与する REIC の作用点とその分子メカニズムの解明により、REIC/DKK-3 との結合により骨髄由来抑制細胞の游走及び局所への浸潤の抑制効果の解明に焦点を当てた解析を行った。特に、免疫調整剤として機能する REIC タンパク質の分子メカニズムを解明することにより、腫瘍免疫活性化の向上・副作用の低減を狙った高機能化 REIC の開発が可能となり、新規抗癌免疫逃避機構の解明に基づく革新的癌創薬の創製基盤の構築へと大きく前進する。

さらに、本研究の成果を基づく国際共同研究加速基金(国際共同研究強化(A))の支援受け、REIC/DKK-3 を用いて免疫と遺伝子治療を組み合わせ最先端医療融合の研究「次世代環状 mRNA ワクチンプラットフォームの創薬」の関与について示すような学術的『問い』を設定し、腫瘍免疫逃避機構を標的とした次世代環状 mRNA ワクチンプラットフォームの創薬に着目して研究を目指す。

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 7件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Ren Liangliang, Jiang Minxiao, Xue Dingwei, Wang Huan, Lu Zeyi, Ding Lifeng, Xie Haiyun, Wang Ruyue, Luo Wenqin, Xu Li, Wang Mingchao, Yu Shicheng, Cheng Sheng, Xia Liquan, Yu Haifeng, Huang Peng, Xu Naijin, Li Gonghui	4. 巻 18
2. 論文標題 Nitroxoline suppresses metastasis in bladder cancer via EGR1/circNDRG1/miR-520h/smad7/EMT signaling pathway	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 5207 ~ 5220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijbs.69373	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 Lin Wenfeng, Chen Wenwei, Zhong Jisheng, Ueki Hideo, Xu Abai, Watanabe Masami, Araki Motoo, Liu Chunxiao, Nasu Yasutomo, Huang Peng	4. 巻 13
2. 論文標題 Identification of MICALL2 as a Novel Prognostic Biomarker Correlating with Inflammation and T Cell Exhaustion of Kidney Renal Clear Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1214 ~ 1228
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/jca.66922	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 Xue Ruizhi, Lin Wenfeng, Fujita Hirofumi, Sun Jingkai, Kinoshita Rie, Ochiai Kazuhiko, Futami Junichiro, Watanabe Masami, Ohuchi Hideyo, Sakaguchi Masakiyo, Tang Zhengyan, Huang Peng, Nasu Yasutomo, Kumon Hiromi	4. 巻 13
2. 論文標題 Dkk3/REIC Deficiency Impairs Spermiation, Sperm Fibrous Sheath Integrity and the Sperm Motility of Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Genes	6. 最初と最後の頁 285 ~ 285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/genes13020285	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 Chen Wenwei, Lin Wenfeng, Wu Liang, Xu Abai, Liu Chunxiao, Huang Peng	4. 巻 19
2. 論文標題 A Novel Prognostic Predictor of Immune Microenvironment and Therapeutic Response in Kidney Renal Clear Cell Carcinoma based on Necroptosis-related Gene Signature	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Medical Sciences	6. 最初と最後の頁 377 ~ 392
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijms.69060	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 Sun J, Lin W, Li C, Ueki H, Xue R, Sadahira T, Hu H, Wada K, Li N, Liu C, Araki M, Xu A, Huang P.	4. 巻 11
2. 論文標題 Repurposing of posaconazole as a hedgehog/SMO signaling inhibitor for embryonal rhabdomyosarcoma therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Cancer Res .	6. 最初と最後の頁 4528-4540
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 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 Sun J, Lin W, Wang Q, Sakai A, Xue R, Watanabe M, Liu C, Sadahira T, Nasu Y, Xu A, Huang P.	4. 巻 75
2. 論文標題 The Cell Cycle Checkpoint Gene, RAD17 rs1045051, Is Associated with Prostate Cancer Risk	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Acta Med Okayama .	6. 最初と最後の頁 415-421
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18926/AMO/62379	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 Lin Wenfeng, Sun Jingkai, Sadahira Takuya, Xu Naijin, Wada Koichiro, Liu Chunxiao, Araki Motoo, Xu Abai, Watanabe Masami, Nasu Yasutomo, Huang Peng	4. 巻 17
2. 論文標題 Discovery and Validation of Nitroxoline as a Novel STAT3 Inhibitor in Drug-resistant Urothelial Bladder Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 3255 ~ 3267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijbs.63125	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 Lin Wenfeng, Li Chaoming, Xu Naijin, Watanabe Masami, Xue Ruizhi, Xu Abai, Araki Motoo, Sun Ruifen, Liu Chunxiao, Nasu Yasutomo, Huang Peng	4. 巻 Volume 16
2. 論文標題 Dual-Functional PLGA Nanoparticles Co-Loaded with Indocyanine Green and Resiquimod for Prostate Cancer Treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Nanomedicine	6. 最初と最後の頁 2775 ~ 2787
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/IJN.S301552	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Peng Huang, Wenfeng Lin, Motoo Araki, Masami Watanbe, and Yasutomo Nasu
2. 発表標題 DISCOVERY AND VALIDATION OF NITROXOLINE AS A NOVEL STAT3 INHIBITOR IN DRUG-RESISTANT UROTHELIAL BLADDER CANCER
3. 学会等名 AUA2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Peng Huang, Wenfeng Lin, Motoo Araki, Masami Watanbe, and Yasutomo Nasu
2. 発表標題 Nitroxoline shows the antitumor and suppresses metastasis effect in bladder cancer
3. 学会等名 AACR-JCA Conference 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 WENFENG LIN, Jingkai Sun, Takuya Sadahira, Motoo Araki, Masami Watanabe, Yasutomo Nasu, Peng Huang
2. 発表標題 Reposition of the antibiotic nitroxoline as a novel STAT3 inhibitor for drug-resistant urothelial bladder cancer
3. 学会等名 AACR-NCI-EORTC Molecular Targets and Cancer Therapeutics (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 トリアゾール誘導体の用途	発明者 黄 鵬, 渡部昌実, 林 文鋒	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2021-053244	出願年 2021年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	渡部 昌実 (watanabe masami) (70444677)	岡山大学・大学病院・教授 (15301)	
研究分担者	荒木 元朗 (araki motoo) (90467746)	岡山大学・医歯薬学域・教授 (15301)	
研究分担者	植木 英雄 (ueki hideo) (90537218)	岡山大学・総合技術部・技術専門職員 (15301)	

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		
中国	南方医科大学	香港中文大学	浙江大学
米国	NIH	Virginia Commonwealth University	