

令和 6 年 5 月 30 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09412

研究課題名(和文) 免疫微小環境リモデリングに着目した尿路上皮癌新規複合免疫療法の開発

研究課題名(英文) Exploration of novel combined immunotherapy for urothelial cancer

研究代表者

齊藤 亮一 (Saito, Ryoichi)

京都大学・医学研究科・准教授

研究者番号：30792270

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：マウス尿路上皮癌モデルでは、マウス黒色腫やマウス肺癌モデルと比較して、抗腫瘍免疫の潜在的な抑制因子であるG-MDSCが増加していた。G-MDSCはT細胞の活性化を抑制し、RNAレベルでArg1とNos2の高発現を示した。抗Ly6G抗体と抗PD-L1抗体の併用により、単剤使用と比べて有意に腫瘍抑制効果を認めた。CD8+T細胞の枯渇は抗Ly6G抗体と抗PD-L1抗体の併用による腫瘍抑制効果を無効化し、抗Ly6G抗体によるMDSCの除去がT細胞疲弊を解除したものと考えられた。また、ヒトでもMDSCを抑制するとされているCXCR2阻害剤は抗PD-L1抗体と併用することで腫瘍抑制効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

転移性尿路上皮癌において、免疫チェックポイント阻害剤(ICI)の治療反応性に何らかの好中球が関連していることが知られていたが、我々は抗腫瘍免疫の潜在的な抑制因子であるG-MDSCが増加していることを見出し、G-MDSCはT細胞の活性化を抑制することを確認した。

また、抗Ly6G抗体やヒトでもMDSCを抑制するとされているCXCR2阻害剤を抗PD-L1抗体と併用することで、単剤使用と比較して有意に腫瘍抑制効果を認めた。

本研究結果はICI治療に適した患者群を特定したり、ICI治療と併用することで治療効果を増強させるような新規薬剤の開発につながる可能性があり、大きな学術的意義を有する。

研究成果の概要(英文)：G-MDSC, which is potential suppressor of antitumor immunity, is increased in mouse UC models compared with mouse melanoma and mouse lung cancer. G-MDSC suppressed in vitro T cell activation and showed high expression of Arg1 and Nos2 in the RNA levels. The combination of anti Ly6G and anti PD-L1 antibodies showed a significant tumor suppressive effect compared to monotherapy. Depletion of CD8+ T cells nullified the tumor suppressive effect of the combination of anti-Ly6G and anti-PD-L1 antibodies. These results suggest that the elimination of MDSCs by anti-Ly6G antibodies lifted T-cell exhaustion. Furthermore, CXCR2 inhibitors, which have been shown to suppress MDSC in humans, showed tumor suppression when used in combination with anti-PD-L1 antibodies.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：膀胱癌 MDSC

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

転移性尿路上皮癌に対する抗 PD1/PD-L1 抗体製剤による新規免疫療法が保険適応となり、化学療法後の二次治療としての有効性が明らかとなった。しかし、単剤での治療効果は限定的で、いまだ多数の症例では治療抵抗性である。このような PD1 阻害治療耐性メカニズムを理解することは PD1 阻害治療を柱とする新規複合免疫療法の開発に不可欠であり、治療抵抗性メカニズムの解明と克服が望まれる。

2. 研究の目的

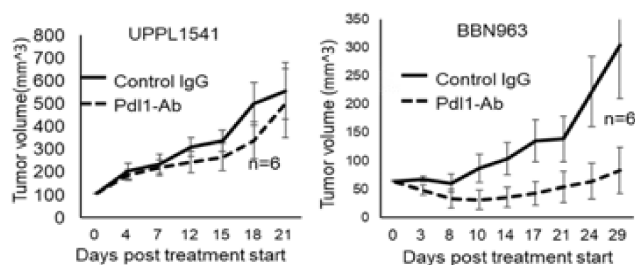
本研究ではマウス尿路上皮癌細胞同系移植モデルを用いて、ミエロイド系抑制性細胞 (MDSC) 抑制が免疫微小環境にどのような影響を与えるかと PD1 阻害治療を増強しうるかについて検討し、MDSC を抑制しうる化合物を探索することで、MDSC の転移性尿路上皮癌における新規治療標的としての可能性を検討する。

3. 研究の方法

(1) マウス尿路上皮癌皮下アログラフトモデルを用いた膀胱癌免疫微小環境の解析

我々はヒト膀胱癌の遺伝学的特徴を再現するマウス尿路上皮癌細胞株を新規に樹立した。同系マウス皮下移植モデルでは UPPL1541 は抗 PD-L1 抗体治療に抵抗性、BBN963 は感受性があった (図 1)。MDSC には顆粒球系への分化傾向を示す G-MDSC と単球系への分化傾向を示す M-MDSC がある。本研究では、CTL 活性化マーカー (CD69+, CD62L- など) や CTL 疲弊マーカー (CD39 など)、抑制性細胞集団 (制御性 T 細胞、MDSC、腫瘍随伴マクロファージ)、CAF (腫瘍随伴線維芽細胞) を含めた包括的評価をフローサイトメトリーと bulk RNAseq で行う。

(図1)



(2) MDSC 除去が免疫微小環境に及ぼす影響と PD1 阻害治療との併用効果の検討

マウスにおいて Ly6G 抗体により G-MDSC を除去できることが知られている。本研究では (1) で示した免疫微小環境の解析を MDSC 除去下、PD1 阻害治療下、併用療法下で行い、比較検討する。PD1 阻害感受性株である BBN963 や BBN 発癌由来株だが PD1 阻害耐性の BBN975 でも同様の解析を行い、どのような微小環境であれば MDSC 除去による PD1 阻害治療への併用効果が得られるのかを詳細に検討する。

(3) MDSC における臨床応用可能なターゲット分子の探索

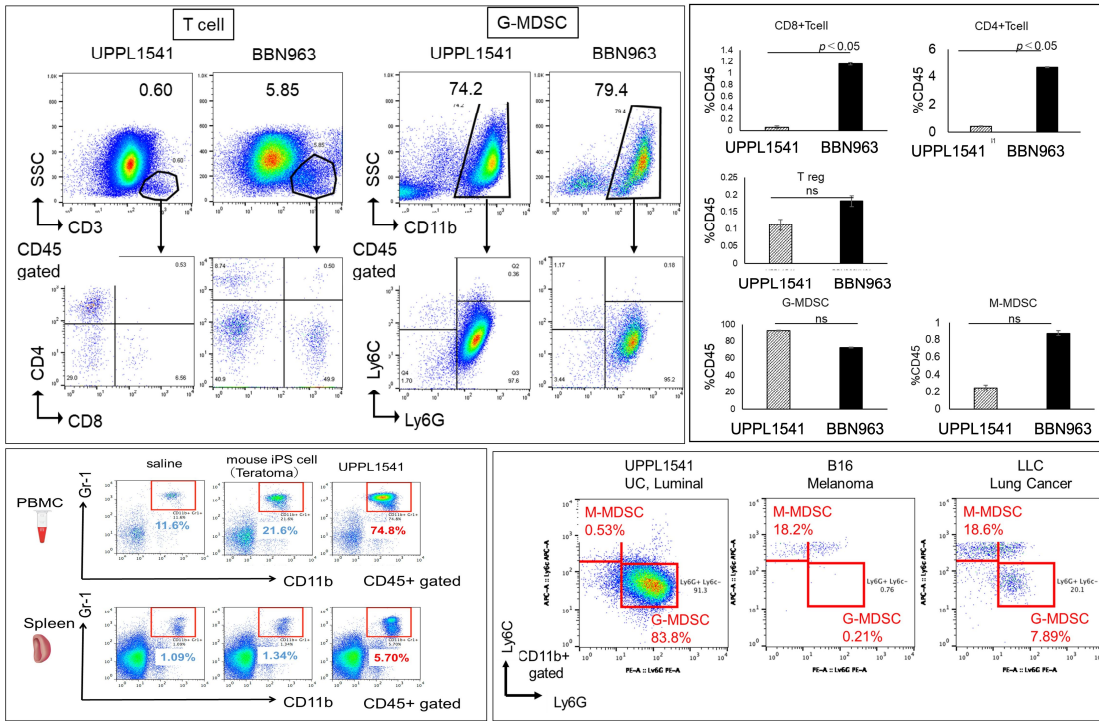
(2) で示した Ly6G 蛋白はマウスでのみ発現し、ヒトでは発現していない。そのため本研究の成果を臨床応用可能なレベルにまで到達させるためにはヒト/マウス共通で MDSC に発現する分子を阻害した場合の腫瘍抑制効果を検討する必要がある。現在 Gemcitabine、CXCR2 阻害剤と BTK 阻害剤がヒト MDSC を抑制するとされている。Gemcitabine は殺細胞効果がメインであるため、本研究では腫瘍細胞への直接作用が少ないと思われる CXCR2 阻害剤と BTK 阻害剤を用いて同様の MDSC 抑制実験を行う。

4. 研究成果

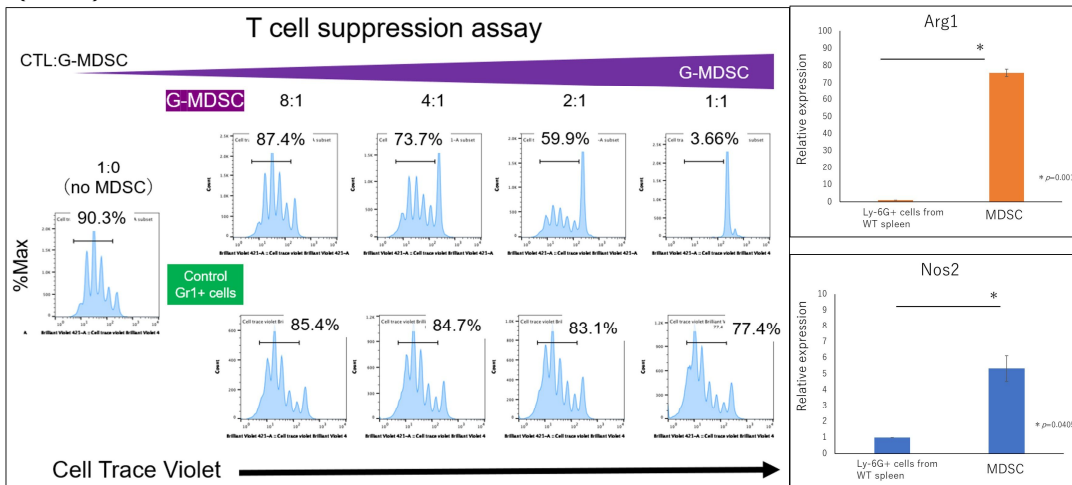
(1) TILs と G-MDSC および M-MDSC のフローサイトメトリーとゲーティングを行ったところ、BBN963 腫瘍は immune inflamed で Treg, G-MDSC および M-MDSC の増加を示した。UPPL1541 腫瘍は immune cold で、G-MDSC の増加を示した。UPPL1541 腫瘍では、PBMC と脾臓で骨髄系細胞の増加がみられた。UPPL1541 腫瘍では、マウスメラノーマおよび肺がんモデルと比較して有意に G-MDSC の増加していた (図 2)。

T 細胞抑制アッセイでは、UPPL1541 腫瘍から抽出した G-MDSC を添加すると CTL への細胞分化が減少した。また、マウス尿路上皮癌組織から抽出した G-MDSC は RNA レベルで Arg1 および Nos2 が高発現しており、活性化状態を示した (図 3)。これらのことから、UPPL1541 腫瘍において G-MDSC は抗 PD-L1 治療に対して負の影響を与えていると考えられた。

(図 2)

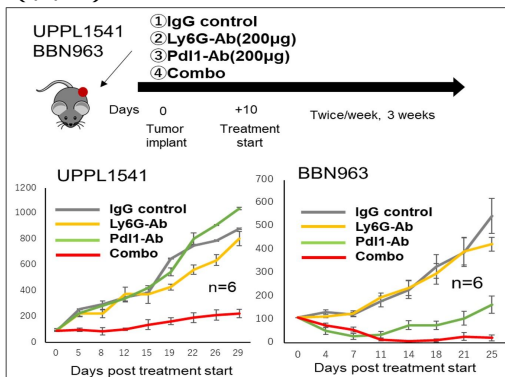


(図 3)

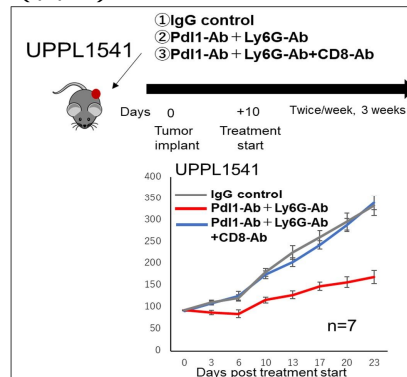


(2) マウスにおいて G-MDSC を除去できることが知られている Ly6G 抗体は抗 PD-L1 抗体との併用療法で UPPL1541 腫瘍の増殖を抑制した。また、BBN963 腫瘍に対して長期抑制効果を示した (図 4)。また、CD8+T 細胞の枯渇は、UPPL1541 腫瘍における Ly6G 抗体・抗 PD-L1 抗体併用療法の効果を無効化した (図 5)。Ly6G 抗体・抗 PD-L1 抗体併用療法は、UPPL1541 腫瘍および脾臓において CD8+ , CD4+T 細胞を増加させた (図 6)。これらの結果は Ly6G 抗体の効果が CTL 活性化を通じて発揮されたことを示している。

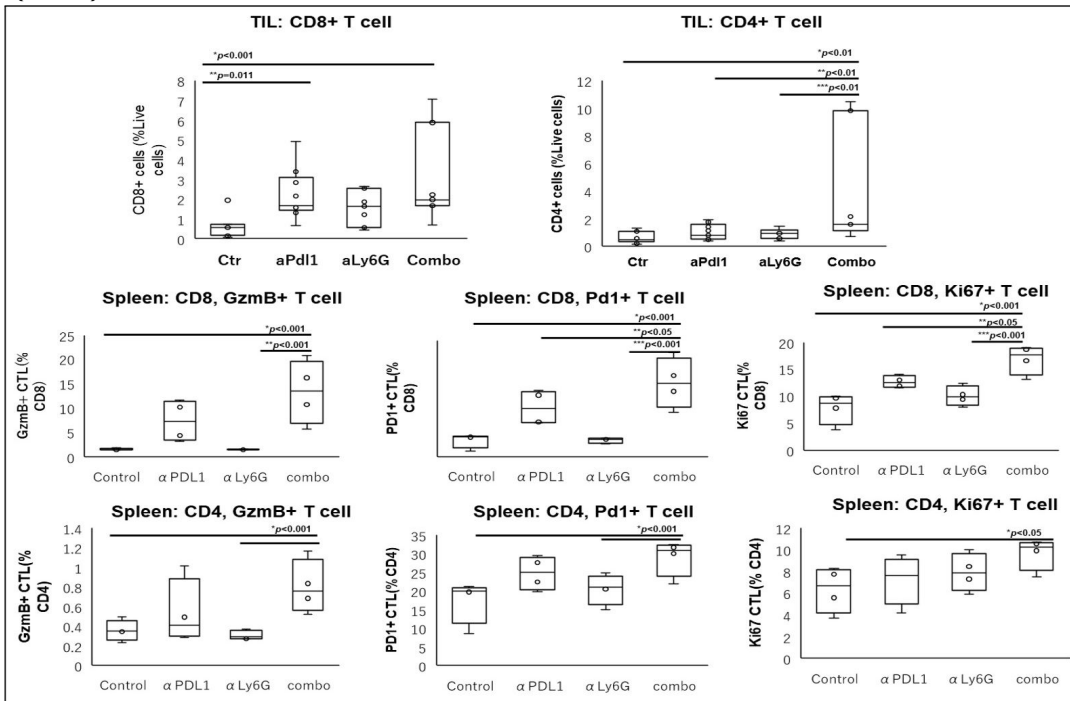
(図 4)



(図 5)

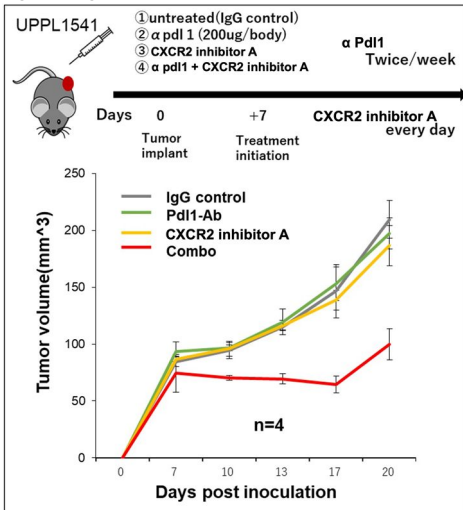


(6)



(3) ヒトでも G-MDSC を抑制するとされている CXCR2 阻害剤は、UPPL1541 腫瘍において抗 PD-L1 抗体と併用することで腫瘍抑制効果を示した (図 7)。今後臨床応用のために、投与条件の最適化と有害事象の検討を行う必要がある。

(7)



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Ryoichi Saito, Keiyu Matsumoto, Soki Kashima, Katsuhiko Ito, Junichi Ikeda, Chisato Ohe, Toru Sakatani, Ryosuke Ikeuchi, Kenji Nakamura, Akihiro Hamada, Hajime Takamori, Kaoru Murakami, Yuki Kita, Osamu Ogawa, Takashi Kobayashi
2. 発表標題 G-MDSC inhibition reactivated antitumor immunity in PD-1 blockade-resistant mouse urothelial tumors by remodeling tumor immune microenvironment
3. 学会等名 第111回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2024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
研究分担者	吉田 崇 (Yoshida Takashi) (00714966)	関西医科大学・医学部・助教 (34417)	

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