

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：13401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860849

研究課題名(和文)効果的な抗腫瘍免疫をもたらす自家造血幹細胞移植法の開発研究

研究課題名(英文)An effective anti tumor immunity induced by autologous hematopoietic stem cell transplanta.

研究代表者

鈴木 孝二 (Suzuki, Koji)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10397268

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)：固形腫瘍に対して大量の抗がん剤投与を目的とした自家造血幹細胞移植が一般的に行われている。従来、自己に発生したがん細胞に対する抗腫瘍免疫は生じないものと考えられてきた。我々は、自家移植においても、免疫細胞にがん抗原を認識させ予備免疫することで移植後の抗腫瘍免疫を導くことを示した。さらに、担がん状態でゲムシタピンを投与し骨髄由来抑制細胞を減少させることで予備免疫が高まり、自家造血幹細胞移植後の抗腫瘍免疫が増強することをマウス自家移植実験モデルで確認した。今後、再現性実験、メカニズムの解析を予定している。今回の結果により臨床における幹細胞採取時にゲムシタピン投与の有用性に関する予備データとなりうる。

研究成果の概要(英文)：Autologous stem cell transplantation (ASCT) was usually known as a rescue at myelosuppression followed by high dose chemotherapy for refractory solid tumor. Although autoimmunity cannot have any effect for tumor antigen, we developed the new strategy inducing the effective autoimmunity by the ASCT. Gemcitabine which was known the effect of reducing of myeloid derived suppressor cells, lead immune response to the tumor antigen. So, we used gemcitabine for pre immunizing agent in donor immunity and transplantation of these immune cells could get a more powerful anti tumor effect by ASCT. Now, we confirm these result and mechanism. In the future, these result will be useful for develop new ASCT regimen in clinical setting.

研究分野：小児がん、血液疾患

キーワード：腫瘍免疫 造血幹細胞移植 骨髄由来抑制性細胞 がん微小環境

1. 研究開始当初の背景

がん細胞は増殖の過程において免疫監視機構からの排除を免れるために、周囲の微小環境中に免疫寛容状態を作り出している。この免疫寛容は、制御性 T 細胞(T reg)や骨髄由来抑制性細胞 (Myeloid derived suppressor cells ;MDSCs)、腫瘍関連マクロファージといった抑制的な免疫担当細胞によって形成されていることが報告されている(Gabrilovich DI et al. Nat Rev Immunol 2012)。がんワクチンをはじめとする免疫療法に関する研究が近年さかに行われるようになってきている。しかし、がんワクチンの主たる働きはがん細胞に対し特異的に働くエフェクター細胞を誘導することであるのだが、エフェクター細胞による免疫監視機構十分に発揮するためには、がん微小環境中に形成される免疫寛容状態を破壊することも必要であると考えられるようになってきている。

2. 研究の目的

本研究は難治性固形腫瘍に対し、がん微小環境中に形成された免疫寛容状態を破壊し、特異的抗腫瘍免疫による免疫監視機構を発揮させることで、強力な抗腫瘍効果を導く新たな治療方法の開発を目指したものである。本研究では、腫瘍抗原に対して予備免疫を行ったドナーにより自家造血幹細胞移植実験を行い、がん微小環境の免疫寛容状態の破壊と同時に移植後造血回復期に特異的抗腫瘍免疫を増強させようかどうかを検討し、同時にそのメカニズムについても免疫学的な解析を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、マウス大腸がん細胞株である CT26 および、同系マウスとして BALB/c マウスを用いた。自家末梢血幹細胞移植については、同系マウスをドナーとした実験モデルを確立しており、それを用いた。

その上で以下 3 つを検討した (図 1)。

- (1) 自家末梢血幹細胞移植時の輸注細胞に対して腫瘍特異抗原に対する予備免疫を高めることができるのか。
- (2) 自家末梢血幹細胞移植時の移植前処置として 6Gy の全身放射線照射を行い、それにより、レシピエントの体内の抑制的免疫細胞を減少させ、移植後の抗腫瘍効果を高めることができるのか。
- (3) 移植時のドナー MDSC を減少させることでレシピエント体内のエフェクター細胞をより効率的に増殖させることが可能か。それにより、移植後の抗腫瘍効果が増強されるのか。

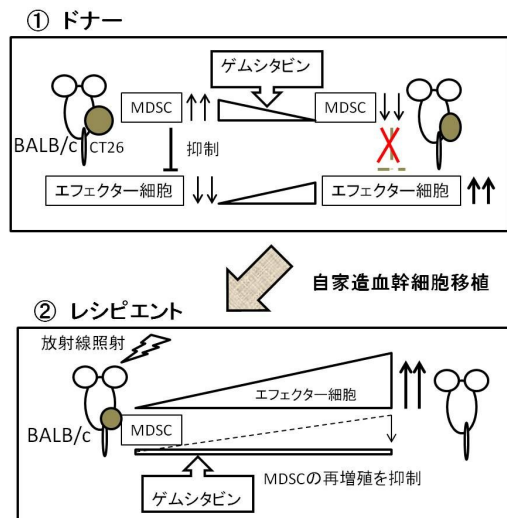


図1. 本研究の全体のコンセプト

- (1) について、担がん状態のマウス体内で増殖している MDSCs を選択的に減少させることが報告されているゲムシタピンを担がん状態ドナーマウスの腹腔内へ投与した。ゲムシタピンによる腫瘍特異的 CD8 陽性 T 細胞の推移についてフローサイトメトリーによるテトラマーアッセイを用いて測定した。同時に MDSC や制御性 T 細胞数の推移についてもフローサイトメトリーにより測定した。
- (2) に対しては、6Gy の全身放射線照射を受けたレシピエントマウスに対して、CT26 細胞の皮下投与とドナー骨髄・脾細胞を移植した。無移植マウスにも CT26 細胞を皮下投与し、移植群および、無移植群それぞれの腫瘍径を

計測した。

(3)に対して、条件の異なるレシピエントからの自家末梢血幹細胞移植を行い、移植後の抗腫瘍効果について検討を行った。ドナーを3つの群に分けた。1群は担がん状態にあるマウス、2群は担がん状態でゲムシタピン投与を受けたマウス。3群はがんを有していないナイーブなマウス。レシピエントに対して6Gyの全身放射線照射による前処置を行い、CT26細胞を皮下投与した。同日、それぞれの群のマウスから採取した骨髄・脾細胞をレシピエントに移植した。移植後の腫瘍径の計測を行った。

4. 研究成果

(1)について、ゲムシタピンは担がん状態にあるマウス体内で増加したMDSCsを減少させていることが脾細胞の解析によって確認された。同時に測定した制御性T細胞もゲムシタピン投与により減少しており、腫瘍特異的CD8陽性T細胞数は増加していた。(2回の実験で確認。今後、3回目の実験により再現性を確認する予定)

(2)について、無移植群に対して、移植群において、レシピエントのCT26皮下腫瘍の増大速度は速かった。これは、過去の研究結果と同じであり、再現性も確認できている。移植後の血球回復環境において、エフェクターT細胞が効率的に増殖したためと推察される。今後、実際に移植後のエフェクター細胞の推移についても検討を加え、メカニズムを解明する予定である。

(3)(1)で確認したように、ドナーに対してゲムシタピンを投与しMDSCsを減少させることで、移植時細胞中のMDSCs細胞数を減らし、エフェクターT細胞数相対的に増加させようと想定された。担がんマウスにゲムシタピンを投与した群をドナーとした移植後に腫瘍の増大が抑制されていることが確認された。

今後、再現性の有無を確認すると同時に、移植後の免疫細胞の経時的推移についても今後解析を予定している。

今回の研究において、いくつかの興味深い知見は得られているものの、マウスに作成した腫瘍の大きさについては、もともと個体差もあり、実験結果の解釈については十分な検討を繰り返す必要があると考えられる。今後、繰り返す実験において、再現性が確認できた場合には、そのメカニズムについても解析を進め、学会、論文等で結果を公表していく予定である。従来、抗腫瘍免疫は得られにくいと考えられている自家造血幹細胞を用いて効果的な抗腫瘍免疫が導けることが可能となれば、同種移植に比べて移植片対宿主病のような致命的合併症の危険性もなく、より安全かつ効果的な新たな造血幹細胞移植の方法として臨床応用も検討されこととなるものと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

河北亜希子, 谷澤昭彦, 熊野麻美, 巨田元礼, 米谷博, 鈴木孝二, 川谷正男, 畑郁江, 大嶋勇成, MTXによる一過性亜急性脳症を反復した悪性リンパ腫の1例、日本小児血液・がん学会雑誌、査読有、15巻、2014年、18-23

河北亜希子, 谷澤昭彦, 鈴木孝二, 畑郁江, 高橋秀典, 熊切正信, 安澤数史, 望月隆, 大嶋勇成、急性リンパ性白血病に合併した播種性Fusarium感染症の一例、日本小児血液・がん学会雑誌、査読有、50巻、2013年、624-628

K. Suzuki, K. Aida, R. Miyakawa, K. Nasumi, T. Udagawa, T. Yoshida, Y. Ohshima, K. Aoki, Preimmunization of donor lymphocytes enhances antitumor

immunity of autologous hematopoietic stem cell transplantation. Cancer Med 査読有、
vol 2,2013. 636-645 DOI:10.1002

〔学会発表〕(計 2 件)

鈴木孝二、急性リンパ性白血病の維持療法中に葉酸欠乏症をきたした一小児例、第 56 回日本小児血液・がん学会学術集会、2014.11、岡山コンベンションセンター(岡山市)

鈴木孝二、治療開始前に自然退縮傾向を認めたホジキンリンパ腫の 1 例、第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会 2013.11、ヒルトン福岡シーホーク(福岡市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

- 出願状況(計 0 件)
- 取得状況(計 0 件)

〔その他〕

6 . 研究組織

(1)研究代表者

鈴木 孝二 (SUZUKI, Koji)

福井大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10397268