

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 19 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461449

研究課題名(和文) インターロイキン2と抗PD-L1抗体の併用によるGVHD/GVL分離法の開発

研究課題名(英文) Low-dose IL-2 combined with PD-1 blockade separates GVHD and GVL effect.

研究代表者

松岡 賢市 (Ken-ichi, Matsuoka)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：90432640

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：低用量IL-2療法がTreg増加を介して免疫寛容を導入しうることが臨床試験の結果から示されている。しかしながら、Tregの増加はGVL効果をも減弱させることが懸念され、IL-2療法中のTregホメオスタシスを正確に制御する技術の開発が必要である。われわれは今回の研究で、IL-2療法中のTreg恒常性の維持には、PD-1経路による抑制的制御が不可欠な役割を果たしていることを動物実験および臨床検体解析から明らかにした。この成果は、Tregホメオスタシスを標的とする免疫療法の開発において、重要な基盤となると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that low-dose IL-2 can induce immune-tolerance with the increase of Treg. However, Treg increase might reduce GVL effect. Therefore, we need to develop the technique to regulate Treg homeostasis during low-dose IL-2 therapy. In this study, our murine study and human subject analysis clearly demonstrated that PD-1 signaling has indispensable role for Treg homeostasis during IL-2. Our results might provide important information for the development of the Treg-based immune therapy for patients after HSCT.

研究分野：造血幹細胞移植学

キーワード：造血幹細胞移植 制御性T細胞 GVHD 免疫寛容

1. 研究開始当初の背景

同種造血幹細胞移植(Hematopoietic stem cell transplantation: HSCT)は、血液癌の根治療法として、多くの難治疾患患者の治療に貢献している。支持療法の進歩、ドナーソースの多様化を背景に、これまで移植の適用とならなかった高齢症例や非寛解症例など、移植片対宿主病(GVHD)のリスクの高い移植が増えており、GVHDを必要十分に管理しつつ、移植片対白血病効果(GVL effect)を最大化する免疫制御が求められる。この観点において、マウス骨髄移植モデルにてGVHDを抑制しながらGVLを減じない対象選択的な働きが報告されている制御性T細胞(Regulatory T cell; Treg)の移植後再構築は、移植後生存のみならず、免疫合併症のない質の高い治癒を目指す上で、極めて重要なポイントである。

IL-2を低用量投与することにより、Tregを選択的に増加させることで、免疫寛容を導入しうることが臨床試験の結果から示された。移植後Tregの恒常性を治療ターゲットとする低用量IL-2療法は、難治性慢性GVHDに対する新たな治療法として確立が期待されるが、今後、本治療法を、非常に多彩な臨床症例に広く適用するには、個々の症例に応じた運用法の検討が求められる。とりわけ、原病の再発リスクが高いと考えられる患者に対しては、Treg増幅から抗腫瘍免疫が減弱する可能性が懸念されるため、IL-2療法を適用するにあたって、慎重な免疫学的検証に基づいてTregホメオスタシスを正確にコントロールする技術の開発が必要である。

2. 研究の目的

IL-2療法中のTregホメオスタシスを保持するメカニズムを検証する。特にさまざまな抑制性共刺激因子のはたらきを明らかにする。

3. 研究の方法

低用量IL-2療法をモデル化するマウス実験系を確立し、IL-2投与によるTregの表現型変容について検討する。中和抗体およびノックアウトマウスを用いた検証実験を行う。

これと並行し、低用量IL-2療法の患者検体を集積し、それぞれのリンパ球サブセット上のPD-1発現を詳細にモニタリングし、他データや臨床症状との相関を解析する。

4. 研究成果

Tregは高親和性IL-2レセプターが持続的に発現することで、低用量IL-2に適切に反応することが可能である。しかし、TregのIL-2への反応を制御するメカニズムは不明であった。また、PD-1はB7:CD28ファミリーに属する共抑制受容体であり、T細胞の活性化を負に制御する。しかし、Treg上のPD-1発現の意義については不明な点が多く残されていた。

生体内におけるTreg上に発現するPD-1の役割を検討するため我々は低用量IL-2マウスモデルを作成した。このマウスモデルでは、慢性GVHD患者に対する低用量IL-2療法と同様に、低用量IL-2によりTreg特異的な増加を認め、特にPD-1を高発現したセントラルメモリー型Tregの増加を認めた。低用量IL-2に抗PD-1抗体を併用すると、初期にはIL-2単独群と比較して強い分裂およびTreg増加を認めたが、増加効果は維持されずまもなく減少へと転じた。PD-1^{-/-}マウスを用いた実験でも同様の結果であった。低用量IL-2により増加したPD-1^{-/-}マウスのTregはエフェクターメモリー型主体であり、Bcl-2の低下、Fasの上昇を伴う高いアポトーシス活性を示した。これらの結果より、PD-1が活性化Tregの末梢における分化およびアポトーシスの制御において重要な役割を果たしていることが示された。

慢性GVHDに対する低用量IL-2療法における臨床効果との相関の検討では、Treg上のPD-1上昇が強い症例において慢性GVHDの高い改善傾向を示した。本解析は少数例での解析であり、Treg上のPD-1発現と臨床効果との相関検討にはより多数例での解析が必要である。しかし、Treg上のPD-1は、同種造血幹細胞移植後のTregのホメオスタシス制御による慢性GVHD予防ならびに治療の新規バイオマーカーとしての可能性が示された。

低用量IL-2療法中におけるTreg上のPD-1発現を制御するメカニズムは本研究では明らかにされていない。自己免疫疾患ではTregにおけるPD-1の機能低下またはSNPsが病態と関与していると報告されている。IL-2投与患者におけるPD-1のさらなる機能および遺伝子学的解析により、TregにおけるPD-1発現制御およびPD-1を用いた臨床効果予測のメカニズム解明へとつながると考えられる。

今回の研究で得られた基礎的知見は、移植後患者に対する免疫介入を検討する上で重要な情報となる。臨床的観点から、個々の患者の病態に応じてGVHDとGVLをバランスよくコントロールする免疫制御技術の確立を急ぎたい。

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12件)

PD-1 modulates regulatory T-cell homeostasis during low-dose interleukin-2 therapy.

Asano T, Meguri Y, Yoshioka T, Kishi Y, Iwamoto M, Nakamura M, Sando Y, Yagita H, Koreth J, Kim HT, Alyea EP, Armand P, Cutler CS, Ho VT, Antin JH, Soiffer RJ, Maeda Y, Tanimoto M, Ritz J, Matsuoka KI.

Blood. 2017 Apr 13;129(15):2186-2197. 査読有

Graft-versus-leukemia effect with a WT1-specific T-cell response induced by azacitidine and donor lymphocyte infusions after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Ishikawa T, Fujii N, Imada M, Aoe M, Meguri Y, Inomata T, Nakashima H, Fujii K, Yoshida S, Nishimori H, Matsuoka KI, Kondo E, Maeda Y, Tanimoto M.

Cytotherapy. 2017 Apr;19(4):514-520. 査読有

Phase I/IIa Study of Low Dose Subcutaneous Interleukin-2 (IL-2) for Treatment of Refractory Chronic Graft Versus Host Disease.

Asano T, Matsuoka KI, Iyama S, Ohashi K, Inamoto Y, Ohwada C, Murata M, Satake A, Yoshida C, Nakase K, Mori Y, Tanimoto M. Acta Med Okayama. 2016 Oct;70(5):429-433. 査読有

Pretransplantation Anti-CCR4 Antibody Mogamulizumab Against Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma Is Associated With Significantly Increased Risks of Severe and Corticosteroid-Refractory Graft-Versus-Host Disease, Nonrelapse Mortality, and Overall Mortality.

Fuji S, Inoue Y, Utsunomiya A, Moriuchi Y, Uchiaru K, Choi I, Otsuka E, Henzan H, Kato K, Tomoyose T, Yamamoto H, Kurosawa S, Matsuoka K, Yamaguchi T, Fukuda T.

J Clin Oncol. 2016 Oct 1;34(28):3426-33. 査読有

Treatment of thrombotic microangiopathy after hematopoietic stem cell transplantation with recombinant human soluble thrombomodulin.

Fujiwara H, Maeda Y, Sando Y, Nakamura M, Tani K, Ishikawa T, Nishimori H, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Tanimoto M.

Transfusion. 2016 Apr;56(4):886-92. 査読有

Vigorous inflammatory responses in noninfectious pulmonary complication induced by donor lymphocyte infusion.

Nishie M, Fujii N, Mimura Y, Asano T, Mimura-Kimura Y, Aoe K, Aoe M, Nakashima H, Fujiwara H, Nishimori H, Matsuoka K, Kondo E, Maeda Y, Tanimoto M.

Transfusion. 2016 Jan;56(1):231-6. 査読有

Polycythemia Vera Diagnosed after

Esophageal Variceal Rupture.

Kono Y, Takaki A, Gobara H, Matsuoka K, Nishino M, Okada H, Yamamoto K.

Intern Med. 2015;54(18):2395-9. 査読有

Anti-IL-12/23 p40 antibody attenuates experimental chronic graft-versus-host disease via suppression of IFN- γ /IL-17-producing cells.

Okamoto S, Fujiwara H, Nishimori H, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Tanaka T, Yoshimura A, Tanimoto M, Maeda Y.

J Immunol. 2015 Feb 1;194(3):1357-63. 査読有

Programmed death-1 pathway in host tissues ameliorates Th17/Th1-mediated experimental chronic graft-versus-host disease.

Fujiwara H, Maeda Y, Kobayashi K, Nishimori H, Matsuoka K, Fujii N, Kondo E, Tanaka T, Chen L, Azuma M, Yagita H, Tanimoto M.

J Immunol. 2014 Sep 1;193(5):2565-73. 査読有

[Exploring regulatory T cell-based therapy for refractory graft-versus-host disease].

Matsuoka K.

Rinsho Ketsueki. 2014 Jun;55(6):670-81. 査読有

11. Increased mitochondrial apoptotic priming of human regulatory T cells after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Murase K, Kim HT, Bascug OR, Kawano Y, Ryan J, Matsuoka K, Davids MS, Koreth J, Ho VT, Cutler C, Armand P, Alyea EP, Blazar BR, Antin JH, Soiffer RJ, Letai A, Ritz J.

Haematologica. 2014 Sep;99(9):1499-508. 査読有

12. Bronchiolitis obliterans with allogeneic hematopoietic cell transplantation: a 10-year experience of the Okayama BMT Group.

Fujii N, Nakase K, Asakura S, Matsuo K, Nawa Y, Sunami K, Nishimori H, Matsuoka K, Kondo E, Maeda Y, Shinagawa K, Hara M, Tanimoto M.

Int J Hematol. 2014;99(5):644-51. 査読有

[学会発表](計10件)

Impact of Incomplete Blood Count Recovery Prior to Allogeneic Hematopoietic Stem

Cell Transplantation on Engraftment and Early Infection in Patients with Acute Myeloid Leukemia

Takeru Asano, Shuntaro Ikegawa, Tomoko Inomata, Naoto Ikeda, Hiroyuki Sugiura, Taiga Kuroi, Shohei Yoshida, Hisakazu Nishimori, Ken-ichi Matsuoka, Nobuharu Fujii, Eisei Kondo, Yoshinobu Maeda, Mitsune Tanimoto
第 58 回 米国血液学会総会, 2016/12/6 米国サンディエゴ

Takeru Asano, Yuriko Kishi, Yusuke Meguri, Takanori Yoshioka, Miki Iwamoto, Yoshinobu Maeda, Hideo Yagita, Mitsune Tanimoto, John Koreth, Jerome Ritz, Ken-ichi Matsuoka

PD-1 signaling has a critical role in maintaining Regulatory T Cell Homeostasis; Implication for Treg depletion therapy by

PD-1 Blockade
第 57 回 米国血液学会総会, 2015/12/5 Orland

Takanori Yoshioka, Yusuke Meguri, Takeru Asano, Yuriko Kishi, Miki Iwamoto, Yoshinobu Maeda, Mitsune Tanimoto, Ken-ichi Matsuoka

Acute Gvhd Induce the Critical Depletion of Naïve Pool in Regulatory T Cells: Implication for Linked

Pathogenesis into Chronic Gvhd
第 57 回 米国血液学会総会, 2015/12/5 Orland

Yuriko Kishi, Yusuke Meguri, Miki Iwamoto, Takeru Asano, Takanori Yoshioka, Yoshinobu Maeda, Mitsune Tanimoto, John Koreth, Jerome Ritz, Ken-ichi Matsuoka

Interval of IL-2 Administration Has a Major Impact on Treatment Efficacy for Regulatory T Cell

Expansion and Homeostasis
第 57 回 米国血液学会総会, 2015/12/5 Orland

Takeru Asano, Haesook T. Kim, John Koreth, Robert J Soiffer, Yusuke Meguri, Takanori Yoshioka, Hideo Yagita, Mitsune Tanimoto, Jerome Ritz, Ken-ichi Matsuoka

Enhanced Expression of PD-1 Modulates CD4+Foxp3+ Regulatory T Cell Homeostasis during Low-Dose IL-2 Therapy in Patients with Chronic Graft-Versus-Host Disease
第 56 回 米国血液学会総会, San Francisco, 2014/12/8

Takanori Yoshioka, Yusuke Meguri, Takeru

Asano, Taro Masunari, Kumiko Kagawa, Koichi Nakase, Yoshinobu Maeda, Mitsune Tanimoto, Ken-ichi Matsuoka

Early Homeostatic Expansion of Regulatory T Cells with the Predominant Effector/Memory Phenotype

May Stabilize Immune Recovery in the First Month after HSCT

第 56 回 米国血液学会総会, San Francisco, 2014/12/8

Kazuyuki Murase, Haesook T. Kim, Masahiro Hirakawa, Tiago Reis Matos, Yutaka Kawano, Jeremy Ryan, Ken-ichi Matsuoka, John Koreth, Robert J Soiffer, Anthony G. Letai, Junji Kato, Jerome Ritz

Low-Dose IL-2 Reduces Mitochondrial Priming and Increases Bcl2 Expression in CD4 Memory Regulatory T Cells

第 56 回 米国血液学会総会, San Francisco, 2014/12/8

Yusuke Meguri, Takeru Asano, Takanori Yoshioka, Haruka Izumi, Yuriko Kishi, Yoshinobu Maeda, Mitsune Tanimoto, Ken-ichi Matsuoka

Host Immune Status Determines the Effects of Therapeutic Interleukin-2 Administration: Enhancement of GVL or Induction of Tolerance?

第 56 回 米国血液学会総会, San Francisco, 2014/12/8

Taiga Kuroi, Sachiyo Okamoto, Kyosuke Saeki, Yujin Kobayashi, Hisakazu Nishimori, Hideaki Fujiwara, Ken-ichi Matsuoka, Nobuharu Fujii, Eisei Kondo, Mitsune Tanimoto, Yoshinobu Maeda

Anti-IL-12/23 p40 Antibody Attenuates Chronic Graft Versus Host Disease Via Suppression of IFN- γ /IL-17-Producing Cells

第 56 回 米国血液学会総会, San Francisco, 2014/12/8

Hideaki Fujiwara, Yoshinobu Maeda, Yasuhisa Sando, Makoto Nakamura, Katsuma Tani, Takanori Ishikawa, Hisakazu Nishimori, Ken-ichi Matsuoka, Nobuharu Fujii, Eisei Kondo, Mitsune Tanimoto

Use of Recombinant Thrombomodulin for Thrombotic Microangiopathy after Hematopoietic Stem Cell Transplantation Ameliorate Disease Severity

第 56 回 米国血液学会総会, San Francisco, 2014/12/8

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松岡 賢市 (Ken-ichi, Matsuoka)

岡山大学・大学病院・講師

研究者番号：90432640