

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670723

研究課題名(和文) cDNAライブラリーを用いた卵巣癌における新規免疫抑制因子の探索と治療応用

研究課題名(英文) An exploration of novel immunosuppressive factors by using immunological functional genome screening and development of new treatment strategy in ovarian cancer

研究代表者

濱西 潤三 (HAMANISHI, Junzo)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80378736

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：卵巣癌が宿主免疫から逃避する際に変化する複数の遺伝子について、免疫学的な機能ゲノミクススクリーニングにより探索し、複数個の遺伝子を同定した。さらにそれらの遺伝子のうち数個は、がん細胞に遺伝子導入し、免疫細胞(CD8T細胞)と共培養実験にて、免疫抑制活性を示すことから、卵巣癌に対する新たな免疫抑制メカニズムの一つの可能性であることが示唆された。今後はマウス卵巣癌モデルにて検証する予定である。

研究成果の概要(英文)：We detected several immune suppressive genes, by using immunological functional-genome -screening for exploring a novel factors related to cancer immune escape in ovarian cancer. Some of these genes-transduced ovarian cancer cell line showed immunosuppressive function with co-cultured CD8+T cells. Therefore these data suggested that we found one of novel immunosuppressive mechanism in ovarian cancer via these genes. Hereafter, we will confirm this immuno- mechanism with in vivo mouse ovarian cancer model.

研究分野：医歯薬学

キーワード：卵巣がん がん免疫抑制 機能ゲノミクス 免疫療法 がん免疫逃避

1. 研究開始当初の背景

卵巣癌は、初診時すでに腹腔内播種をきたした進行がんが多く、また抗がん剤抵抗性となりやすいことから、婦人科がんの中で最も予後不良の疾患であり、新たな治療戦略が求められている。近年の分子生物学の発展により、がん細胞が免疫細胞の攻撃から逃れる「がん免疫逃避機構」の存在が明らかとなっており、これまでに我々は卵巣癌において、免疫抑制性補助シグナル PD-L1(programmed cell death 1 ligand1)が卵巣癌細胞に高頻度に発現し不良因子であることを発見し、2011年より世界で初めて卵巣癌を対象に抗 PD-1 抗体薬(Nivolumab)による第 2 相医師主導治験を行った。一方で、本治療だけでは腫瘍抑制効果がない症例もありさらにこれまで報告されていない免疫抑制因子も数多く存在することが予想されているが、これらの未知免疫抑制因子をゲノムワイドに同定する方法は確立していない。

2. 研究の目的

本研究では、卵巣癌が宿主免疫から逃避する際に変化する未知の遺伝子や遺伝子群を免疫学的な機能ゲノミクス解析を用いて探索し、その進展に関わる因子を解明するとともに、従来の抗がん治療とは全く異なった視点から、新しい治療戦略を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

新規の免疫抑制因子の同定のために、マウス卵巣癌細胞株から免疫抵抗性の細胞株を樹立し、この細胞株の cDNA ライブラリーを作成し親株に遺伝子導入する。次にこれらの卵巣癌細胞と免疫細胞とを共培養し、生存した卵巣癌細胞に含まれる全遺伝子を同定する。さらにこれらの遺伝子を強制発現させたがん細胞株を作成し、マウス卵巣癌腹膜播種モデルを用いて免疫抑制や腫瘍増殖能を評価する。また、発現抑制株を作成して反証実験を行い、新規の免疫抑制因子として同定することとした

4. 研究成果

複数の発癌遺伝子や発癌抑制遺伝子の変異を組み合わせると組み替えたマウス卵巣癌細胞株およびマウス卵巣癌腹膜播種モデルを用いて、卵巣癌が発生する際に宿主免疫から逃避する際に変化する遺伝子を網羅的に解析し、そのなかでも特に免疫(抑制)に関わる複数の遺伝子(アノテーションの不明な遺伝子を除く)を抽出した。次に仮想抗原 OVA を発現するマウス卵巣癌細胞株を作成し同抗原を認識する T 細胞をもつマウスへの繰り返し投与による免疫抵抗性(免疫逃避能)獲得能を有する細胞株を樹立する実験を行い、免疫抵抗性獲得細胞株を作成したが、上記で得られた遺伝子と一致するものがなかったが、同遺伝子の下流シグナルに関係する遺伝子について機能を調べ、免疫に関わる

遺伝子を同定しそれぞれの発現を抽出した。それらの遺伝子をそれぞれ強制発現させた腫瘍細胞株を用いて、T 細胞との培養下で機能的に免疫抑制を示すことができた遺伝子について、ヒト卵巣癌(癌性腹水細胞)での発現を認めた。さらにこれらの遺伝子をコードするタンパクに対する機能阻害抗体を入手し、卵巣癌細胞と T 細胞を共培養にて、同免疫抑制機能を確認できた。今後は新たな研究資金を獲得できれば、同抗体を用いた in vivo マウス実験による検証実験を行い、その有用性を検討する予定である。

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 19 件)

Hamanishi J*, Mandai M, Konishi I.
Immune checkpoint inhibition in ovarian cancer.
Int Immunol. 2016 Apr 7. [Epub ahead of print] PMID: 27055470 査読あり

Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, Matsumura N, Baba T, Konishi I.
Dual faces of IFN- in cancer progression: a role of PD-L1 induction in the determination of pro- and anti-tumor immunity.
Clin Cancer Res. 2016 Mar 25. [Epub ahead of print] PMID: 27016309 査読あり

Mandai M, Hamanishi J, Abiko K, Matsumura N, Baba T, Konishi I.
Anti-PD-L1/PD-1 immune therapies in ovarian cancer: basic mechanism and future clinical application.
Int J Clin Oncol. 2016 Mar 11. [Epub ahead of print] Review. PMID: 26968587 査読あり

Hamanishi J*, Mandai M, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Konishi I.
PD-1/PD-L1 blockade in cancer treatment: perspectives and issues.
Int J Clin Oncol, 2016 Feb 22. [Epub ahead of print] 査読あり

Peng J, Hamanishi J*, Matsumura N, Abiko K, Murat K, Baba T, Yamaguchi K, Horikawa N, Hosoe Y, Murphy KS, Konishi I, Mandai M.
Chemotherapy induces Programmed death-ligand 1 overexpression via the Nuclear Factor- B to foster an immunosuppressive tumor microenvironment in ovarian cancer
Cancer Res. 2015; 75: 5034-5045. 査読あり

Hamanishi J*, Mandai M, Ikeda T, Minami M, Kawaguchi A, Murayama T, Kanai M, Mori Y, Matsumoto S, Chikuma S, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Ueda A, Hosoe Y, Morita S, Yokode M, Shimizu A, Honjo T, Konishi I.
Safety and Antitumor Activity of Anti-PD-1 Antibody, Nivolumab, in Patients With Platinum-Resistant Ovarian Cancer.
J Clin Oncol. 2015; 33: 4015-4022. 査読あり

Abiko K, Matsumura N, Hamanishi J, Horikawa N, Murakami R, Yamaguchi K, Yoshioka Y, Baba T, Konishi I, Mandai M. IFN- γ from lymphocytes induces PD-L1 expression and promotes progression of ovarian cancer.
Br J Cancer. 2015; 112:1501-1509. 査読あり

濱西 潤三*, 万代 昌紀, 小西 郁生
【最新 がん免疫療法 抗 PD-1 抗体、CAR-T 細胞療法から、Neoantigen を標的としたがん制御機構まで】免疫チェックポイントの基礎とがん免疫療法への開発(解説/特集)
実験医学 (0288-5514)33 巻 14 号
Page2193-2200(2015.09). 査読なし

濱西 潤三*, 万代 昌紀, 小西 郁生
【新たな時代を迎えたがん免疫療法】免疫チェックポイント阻害療法の現状と展望(解説/特集)
Medical Science Digest (1347-4340)41 巻 9 号
Page287-290(2015.08). 査読なし

濱西潤三*, 万代昌紀, 松村謙臣, 小西郁生
【女性がん医療の最前線】卵巣癌治療
Bio Clinica (0919-8237) 30 巻 10 号
Page28-32(2015.09) 査読なし

濱西潤三*, 万代昌紀, 小西郁生
【婦人科がん・泌尿器科がん】卵巣がんに対する免疫チェックポイントシグナル阻害薬の臨床応用
腫瘍内科(1881-6568)16巻2号 Page121-127.
査読なし

濱西 潤三*
難治性卵巣癌の克服を目指して 化学療法抵抗性卵巣癌の局所免疫の解析に基づいた、がん免疫逃避を標的とした新規治療戦略(第53回日本産科婦人科学会 学術集会 シンポジウム腫瘍)
日本産科婦人科学会雑誌 66: 2777-2791, 2014. 査読あり

濱西 潤三*, 小西 郁生
【新たな抗体治療の展開】新たに開発された抗体治療 卵巣がん(解説/特集)

がん分子標的治療 (1347-6955)13 巻 2 号
Page203-211(2015.07). 査読なし

濱西 潤三*, 万代 昌紀, 松村 謙臣, 安彦 郁, Peng Jin, Kumuruz Murat, 小西 郁生
【免疫チェックポイントの基礎と臨床】臨床 抗 PD-1 抗体の婦人科がんへの応用(解説/特集)
最新医学 (0370-8241)70 巻 3 号
Page414-420(2015.03). 査読なし

濱西 潤三*, 万代 昌紀, 小西 郁生
話題の疾患と治療 免疫チェックポイント PD-1 経路を標的とするがん治療への臨床応用(解説)
感染・炎症・免疫 (0387-1010)44 巻 4 号
Page387-389(2015.01). 査読なし

濱西 潤三*, 万代 昌紀, 小西 郁生
【新たながん治療戦略の鍵を握る PD-1 抗体: がん免疫療法が、がんを制する】PD-1 抗体の臨床 進行卵巣がんに対する抗 PD-1 抗体療法(解説/特集)
細胞工学 (0287-3796)33 巻 10 号
Page1057-1060(2014.09). 査読なし

濱西 潤三*, 小西 郁生
【がん免疫抑制・免疫疲弊と新規治療】免疫チェックポイント PD-1/PD-L1 経路を標的とする新しいがん治療(解説/特集)
癌と化学療法 (0385-0684)41 巻 9 号
Page1071-1076(2014.09). 査読なし

濱西 潤三*
【がん免疫療法の進歩】Immune-checkpoint 阻害によるがん免疫療法(解説/特集)
細胞 (1346-7557)46 巻 9 号
Page405-408(2014.08). 査読なし

濱西 潤三*
免疫学的視点から見た卵巣癌(解説)
産婦人科の進歩 (0370-8446)66 巻 2 号
Page177-181(2014.05). 査読なし

[学会発表](計22件)
“Evaluating the Potential of Immune Checkpoint Inhibitors in Ovarian Cancer”
Hamanishi J.
ESMO Asia 2015. Emerging Research in Immuno-Oncology: Hepatocellular, Ovarian, and Esophageal Cancers – Expert Panel (Invited Oral)
Dec.20, 2015. Singapore.

“The challenges and opportunities on the novel anti-tumor treatment with PD-1 signal blockade -Investigator initiated clinical trial of Nivolumab for platinum-resistant ovarian cancer -“

Hamanishi J.
Japan Sarcoma Association Symposium
SYMPOSIUM (招請講演)
December 3, 2015. Kyoto.

「卵巣がんに対する新しい治療戦略：PD-1/PD-L1 経路阻害薬」
瀧西 潤三
第 30 回 日本生殖免疫学会 学術集会 ワークショップ指定演題 (招請講演)
2015 年 11 月 22 日 熊本

“Clinical impact of anti-PD-1 antibody (Nivolumab) for platinum-resistant ovarian cancer; Investigator initiated phase II clinical trial”
Hamanishi J, Mandai M, Matsumura N, Abiko K, Yamaguchi K, Baba T, Konishi I
The 4th Biennial Meeting of Asian Society of Gynecologic Oncology (Oral presentation)
Nov. 13, 2015. Seoul, Korea.

「卵巣癌の微小免疫環境解析と抗 PD-1 抗体療法の展望」
瀧西 潤三、万代 昌紀、松村 謙臣、安彦 郁、村上 隆介、馬場 長、山口 建、小西 郁生
第 53 回日本癌治療学会学術集会 臓器別シンポジウム
2015 年 10 月 30 日 京都

“Chemoimmunotherapy with PD-1 blockade and paclitaxel induce a potent antitumor immunity in ovarian cancers”
Hamanishi J, Peng J, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Hosoe Y, Konishi I, Mandai M,
AACR-Advances in Ovarian Cancer Research: Exploiting Vulnerabilities
October 17- 20, 2015. Orlando, USA

“Survival and Durable Tumor Remission for platinum-resistant Ovarian Cancer receiving Nivolumab (anti-PD-1 antibody).”
Hamanishi J, Mandai M, Matsumura N, Abiko K, Peng J, Horikawa N, Baba T, Yamaguchi K, Hosoe Y, Konishi I.
The 74rd Annual Meeting of Japan Cancer Association, International Session
Oct. 8, 2015. Nagoya

「卵巣癌に対する免疫チェックポイント阻害薬 抗 PD-1 抗体の臨床応用」
瀧西 潤三
第 57 回日本婦人科腫瘍学会学術集会 「教育シンポジウム 3」Immuno Oncology (招待講演)
2015 年 8 月 8 日 盛岡

“Durable Tumor Remission in Patients with Platinum-Resistant Ovarian Cancer Receiving Nivolumab”
Hamanishi J, Mandai M, Ikeda T, Minami M, Kawaguchi A, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Ueda A, Hosoe Y, Morita S, Shimizu A, Honjo T, Konishi I.
The 51th Annual meeting of American Society of Clinical Oncology (ASCO)
May30, 2015, Chicago USA.

「抗 PD 1 抗体 (Nivolumab) を用いた卵巣癌に対する第 II 相医師主導治験」
瀧西潤三、万代昌紀、松村謙臣、安彦郁、馬場長、山口建、植田彰彦、小西郁生
第 67 回 日本産科婦人科学会学術集会 (優秀演題賞受賞講演)
2015 年 4 月 10 日 横浜

“Durable anti-tumor response of Nivolumab (anti-PD-1 antibody) for platinum-resistant ovarian cancer; phase II clinical trial”
Hamanishi J, Mandai M, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Konishi I
Annual Meeting on Woman's Cancer. (Scientific Plenary)
Mar 31. 2015. Chicago.

「府民公開講座 京都府内の専門医によるがん診療の最前線」
『新しいがん免疫療法の展開 (PD-1 抗体療法)』
瀧西潤三
府民公開講座 2015 年 2 月 22 日 京都

「卵巣癌に対する抗 PD-1 抗体を用いた医師主導第 II 相治験」
瀧西潤三
がんプロフェッショナル養成基盤推進プラン
第 3 回 トランスレーショナルリサーチシンポジウム「がん免疫療法の最前線」
2015 年 2 月 14 日 東京

Immunotherapy with anti-PD-1 antibody (Nivolumab) is promising: Phase II trial for platinum-resistant ovarian cancer
Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Noriomi Matsumura, Kaoru Abiko, Jin Peng, Naoki Horikawa, Kumuruz Murat, Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi, Ikuo Konishi
The 43rd Japan Society of Immunology (Workshop) 第 43 回日本免疫学会学術集会 口演
2014 年 12 月 11 日 京都

“A Phase II Clinical Trial of Immunotherapy with Anti-PD-1 Antibody (Nivolumab) in Advanced/Relapsed,

Platinum-resistant Ovarian Cancer ”
Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Noriomi
Matsumura, Kaoru Abiko, Jin Peng, Naoki
Horikawa, Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi,
Ikuo Konishi
15th Biennial Meeting of the International
Gynecological Cancer Society
Nov, 8, 2014. Melbourne Australia.

市民公開講座『がんへの挑戦～京都大学の取
組み～』世界が注目！
卵巢癌に対する革新的治療法の開発 ～
PD-1 抗体薬(ニボルマブ)の医師主導治験～
濱西潤三
市民公開講座 京都大学臨床研究総合セン
ター(iACT)
2014年10月19日 京都

“ Immune checkpoint PD-1 signal: the
metastatic promotion of ovarian cancer and
the target of new treatment strategy ”
Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Noriomi
Matsumura, Kaoru Abiko, Jin Peng, Naoki
Horikawa, Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi,
Ikuo Konishi
The 73rd Japan Cancer Association
(Symposia)(第73回日本癌学会学術集会 シ
ンポジウム)
Sep. 27, 2014. Yokohama.

「抗 PD-1 抗体 (Nivolumab) を用いた卵巢癌
に対する第 II 相医師主導治験」
濱西潤三、万代昌紀、池田隆文、南 学、森
由紀子、松本繁巳、竹馬俊介、村山 敏典、
松村謙臣、安彦郁、山口建、植田彰彦、森田
智視、清水章、本庶佑、小西郁生
第 52 回 日本癌治療学会学術集会 (最優
秀演題賞受賞講演)
2014年8月29日 横浜

“ Efficacy and safety of anti-PD-1
antibody (Nivolumab: BMS-936558,
ONO-4538) in patients with
platinum-resistant ovarian cancer ”
Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Takafumi
Ikeda, Manabu Minami, Atsushi Kawaguchi, ,
Masashi Kanai, Yukiko Mori, Shigemi
Matsumoto, Toshinori Murayama, Shunsuke
Chikuma, Noriomi Matsumura, Kaoru Abiko,
Tsukasa Baba, Ken Yamaguchi, Akihiko Ueda,
Satoshi Morita, Masayuki Yokode, Akira
Shimizu, Tasuku Honjo, Ikuo Konishi
The 50th Annual meeting of American
Society of Clinical Oncology (ASCO)
Clinical Science Symposium
June 1, 2015 Chicago USA.

「化学療法抵抗性卵巢癌の局所免疫の解析
に基づいたがん免疫逃避を標的とした新規
治療戦略」

濱西潤三
第 66 回 日本産科婦人科学会学術講演会 シ
ンポジウム：腫瘍 難治性卵巢癌の克服を
目指して(シンポジウム口演)
2014年4月19日 東京

「がん免疫抑制・免疫疲弊の克服」シンポジ
ウム 卵巢癌におけるがん免疫逃避機構を
標的にした新しい治療戦略 ～PD-1 / PD-L1
経路を標的とした新規免疫療法～
第 26 回日本バイオセラピー学会学術集会総
会
日本バイオセラピー学会・日本癌免疫学会合
同シンポジウム (シンポジウム口演)
濱西潤三
2013年12月6日 岩手

〔図書〕(計1件)
濱西潤三、万代昌紀、小西郁生
卵巢癌におけるがん免疫療法 -
Immuno-Oncology Up to date -
メディカルレビュー社 がん免疫療法ハン
ドブック 第1版2016年 in press

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.kuhp.kyoto-u.ac.jp/~obgy/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者
濱西潤三 (HAMANISHI Junzo)
京都大学・大学院医学研究科・助教
研究者番号：80378736

(2) 研究分担者
小西郁生 (KONISHI Ikuo)
京都大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：90192062

松村 謙臣 (MATSUMURA Noriomi)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：20452336

安彦 郁 (ABIKO Kaoru)
京都大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：20508246