

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26870237

研究課題名(和文)悪性グリオーマによる免疫回避機構の解明

研究課題名(英文)Tumoral immune escape mechanism in malignant glioma

研究代表者

三塚 健太郎(MITSUKA, Kentaro)

山梨大学・総合研究部・医学研究員

研究者番号：70402071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：必須アミノ酸であるトリプトファンの代謝亢進は、リンパ球の活性化を抑制し腫瘍免疫を阻害する機能を有する可能性があり、トリプトファンの代謝酵素であるインドールアミン2,3ジオキシゲナーゼ(IDO)の阻害により、腫瘍免疫の賦活化が報告されている。我々は、ヒトグリオーマ摘出組織におけるIDO発現と組織学的悪性度及び予後との相関を明らかにした。そこで今回、IDO阻害による抗腫瘍効果とテモゾロミド(TMZ)との併用効果についてマウスグリオーマモデルを用い検討した。IDO阻害は腫瘍体積を抑制し、生存率を延長させた。さらにTMZとの併用により相乗的な抗腫瘍効果を有することが明らかになった。

研究成果の概要(英文)：Indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), a key enzyme of tryptophan (Trp) metabolism, is involved in tumor-derived immune suppression by depleting Trp and accumulating the metabolite. We have recently shown that IDO expression was markedly increased in human glioblastoma and secondary glioblastoma with malignant change. The aim of this study is to investigate anti-tumor effect of IDO inhibition and to search the synergistic function of IDO inhibitor (1-MT) and temozolomide in a murine glioma model. In subcutaneous model, oral administration of 1-MT significantly suppressed tumor growth and synergistic anti-tumor effects of 1-MT and temozolomide were observed ($P<0.01$). The mice intracranially inoculated IDO knockdown cells had a significantly longer survival compared to the control mice ($P<0.01$). The mice intracranially inoculated IDO knockdown cells had a significantly longer survival compared to the control mice ($P<0.01$).

研究分野：悪性脳腫瘍

キーワード：グリオーマ 免疫療法 トリプトファン キヌレニン インドールアミン2,3ジオキシゲナーゼ

1. 研究開始当初の背景

悪性グリオーマは、成人に発生する最も悪性度の高い脳実質内腫瘍である。現在の標準治療は最大限の腫瘍摘出後に化学放射線療法を行うものであるが、生命予後は1-2年程度である。近年、各種がん種に対する分子標的薬が多岐に開発され、一定の治療効果を挙げているものの、中枢神経系の解剖学的な特殊性から悪性グリオーマの生命予後を改善できる有効な新規治療薬は見つかっていない。一方、脳腫瘍に対する免疫療法の発展は、1980年代の活性化リンパ球(LAK)療法やナチュラルキラー(NK)細胞療法に代表される自然免疫療法に始まり、90年代には樹状細胞(DC)ワクチンや細胞障害性Tリンパ球(CTL)療法といった特異的細胞免疫療法の開発が進んできた。しかし、これらの治療効果は限定的であり、実用臨床レベルのエビデンスは乏しい。この原因としては、本腫瘍が有する頑強な免疫抑制機構の存在が示唆されている。免疫抑制のメカニズムとしては、1. 抑制性免疫細胞の誘導 2. 免疫抑制物質の産生 3. 免疫抑制性共シグナル分子(免疫チェックポイント)の発現などの多因子の要素が複合的に関与していると考えられている。我々は、悪性グリオーマにおける免疫回避機構の観点から、強力な免疫抑制作用を有するトリプトファンの代謝酵素であるIndoleamine 2,3-dioxygenase (IDO)に着目して研究を進めている。その結果、ヒトグリオーマ組織におけるIDO発現と組織学的悪性度との相関、二次性膠芽腫の悪性転化に伴うIDO発現亢進及び予後との関連性を報告した。IDO阻害剤は今後、有望な治療法になる可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、悪性グリオーマにおけるIDO阻害の抗腫瘍効果を検証し、またIDOによる免疫回避機構を解明することを目的とす

る。実臨床への治療応用を期待した抗がん剤との併用効果についても検証する。

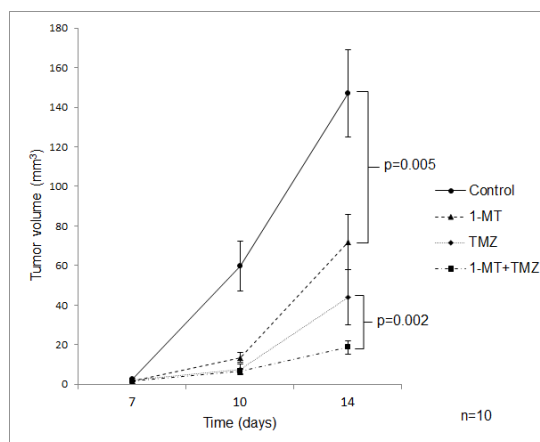
3. 研究の方法

マウスグリオーマGL261細胞とヒトグリオーマU87細胞を用いて皮下異種移植モデルと頭蓋内同種移植モデルを作成した。shRNAを導入しIDOノックダウン(KD)GL261細胞を樹立した。IDO阻害剤である1-methyl-L-tryptophan(1-MT)は1mg/mlの濃度で自由飲水投与とした。TMZは移植後7日目から隔日ごと800 μ gを腹腔内投与した。皮下移植モデルでは腫瘍の平均体積を、頭蓋内移植モデルでは生存率を比較した。またIDO阻害によるT細胞への影響を解析するため、マウスの脾臓を摘出しT細胞に占めるCD4とCD8陽性細胞の比率をフローサイトメトリーにて比較した。

4. 研究成果

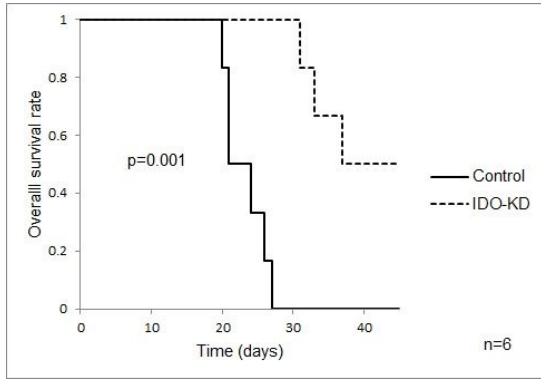
皮下異種移植モデルにおける平均腫瘍体積は、コントロールに比べ1-MT投与群で49%($P=0.005$)、1-MTとTMZの併用群で13%($P=0.002$)に減少した(図1)。

図1



頭蓋内同種移植モデルではIDO-KD細胞移植群はコントロール群に比し、有意に生存率の改善を認めた(移植後40日生存率50% vs 0%、 $P=0.001$)(図2)。

図 2



IDO 阻害群において T 細胞に占める CD4 陽性および CD8 陽性細胞の比率は、有意に上昇していた (P<0.005)(図 3-1, 2, 3, 4)

図 3-1

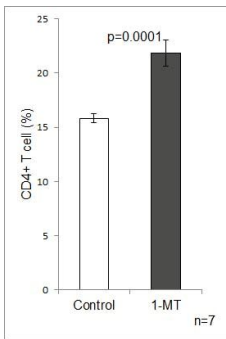


図 3-2

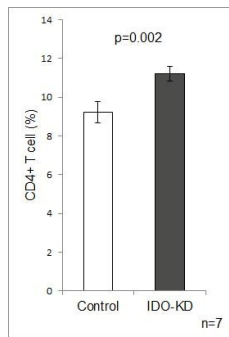


図 3-3

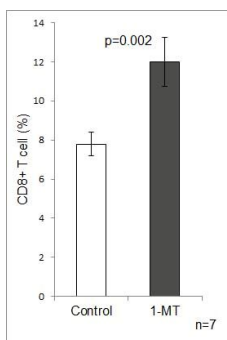
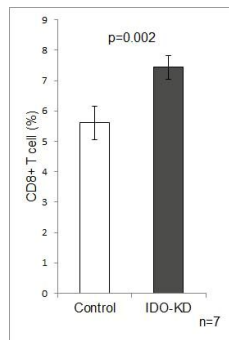


図 3-4



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 1 件)

Synergistic anti-tumor effect with indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition and temozolomide in a murine glioma model.

Mitsuto HANIHARA, Tomoyuki KAWATAKI, Kyoko OH-OKA, Kentaro MITSUKA, Atsuhito NAKAO, Hiroyuki KINOUCHI.

Journal of Neurosurgery (査読あり)

2016 Jun;124(6):1594-601.

[学会発表] (計 5 件)

Mitsuto Hanihara, MD, PhD, Tomoyuki Kawataki, MD, PhD, Hiroyuki Kinouchi, MD, PhD

Synergistic anti-tumor effect with Indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition and Temozolomide in a murine glioma model
Tumor section satellite symposium, CNS Annual Meeting 2016, SAN DIEGO CONVENTION CENTER (San Diego), USA, 24 September 2016, Oral presentation

埴原光人、川瀧智之、大岡杏子、中尾篤人、木内博之

悪性グリオーマと免疫療法：トリプトファン代謝酵素 Indoleamine 2, 3- dioxygenase (IDO)の抑制とテモゾロミドの併用効果

第 11 回 脳腫瘍の基礎シンポジウム、日本大学病院 (東京) 2016 年 5 月 14 日、一般口演

Mitsuto Hanihara, Tomoyuki Kawataki, Kyoko Oh-oka, Kentaro Mitsuka, Atsuhito Nakao, Hiroyuki Kinouchi

Synergistic anti-tumor effect with indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition and temozolomide in a murine glioma model
15th Interim Meeting of the World Federation of Neurosurgical Societies, Rome Marriott Park Hotel (Rome), Italy, 8-12 September, Poster presentation

埴原光人、川瀧智之、大岡杏子、鈴木景子、荻原雅和、中尾篤人、木内博之

悪性グリオーマと免疫療法トリプトファン代謝酵素 IDO の抑制と TMZ の相乗効果 (Immunotherapy for malignant glioma: Anti-tumor effect with indoleamine 2,3-dioxygenase inhibition and Temozolomide)

日本脳神経外科学会第 74 回学術総会、ロイトン札幌 (札幌)、2015 年 10 月 15 日、一般口演

埴原光人、川瀧智之、大岡杏子、鈴木景子、荻原雅和、中尾篤人、木内博之

マウスグリオーマモデルにおけるインドールアミン 2,3 ジオキシゲナーゼの抑制とテモゾロミドの相乗効果

第 16 回日本分子脳神経外科学会、アクトシティ浜松コンgresセンター (浜松)、2015 年 8 月 28 日、Key note lecture

〔その他〕

ホームページ等

山梨大学医学部附属病院 脳神経外科

講座紹介

<http://www.med.yamanashi.ac.jp/clinical/neurosurg/html/course-info/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

三塚 健太郎 (MITSUKA, Kentaro)

山梨大学・総合研究部・医学研究員

研究者番号：70402071