

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19584

研究課題名(和文) IDO阻害薬による抗腫瘍免疫応答の増強と免疫療法への応用

研究課題名(英文) The enhancement of anti-tumor immune response and application to a therapy with the IDO inhibitor

研究代表者

正木 彩子(Masaki, Ayako)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：40648044

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)：Indoleamine 2,3-dioxygenase(IDO)はトリプトファンをキヌレニンに分解する経路の律速酵素で、がんの抗腫瘍免疫応答の抑制に関与する。我々は成人T細胞白血病/リンパ腫(ATL)のみならず、ホジキンリンパ腫や濾胞性リンパ腫など、種々の造血器悪性腫瘍においてIDO活性の上昇が独立した予後不良因子であることを見出した。これらの結果は、IDOがさまざまな造血器悪性腫瘍の予後予測因子として有用であるとともに、IDOが抗腫瘍免疫療法の治療標的として有望であることを示すものである。

研究成果の概要(英文)：Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 (IDO) is one of enzyme catabolizing tryptophan into the kynurenine pathway, and recognized as an important microenvironmental factor suppressing antitumor immune responses. Quantification of serum Kyn and Trp is useful for predicting prognosis of an individual patients with hematological malignancy, such as adult T-cell leukemia/lymphoma, Hodgkin lymphoma, and follicular lymphoma. Furthermore, it is thought that IDO is an attractive novel cancer immunotherapies target in various hematological malignancy.

研究分野：造血器悪性腫瘍

キーワード：IDO Malignant lymphoma Tumor immunity

### 1. 研究開始当初の背景

近年、多くの悪性腫瘍において、抗腫瘍免疫を利用した治療戦略が従来の化学療法では得られなかった成果を挙げている一方で、悪性腫瘍は様々なメカニズムにより抗腫瘍免疫を回避し、これが治療の妨げとなっていることも知られている。その免疫回避機構の一つとして、トリプトファンの代謝が注目されている。Indoleamine 2,3-dioxygenase 1(IDO)はトリプトファンをキヌレニンに分解する経路の律速酵素で、代謝産物の蓄積もしくは局所でのトリプトファンの枯渇がT細胞の増殖抑制やアポトーシスの誘導を引き起こす結果、免疫を抑制すると考えられている。IDOの高発現は種々の悪性腫瘍で予後不良と関連することが報告されており、腫瘍の免疫機構からの逃避に関与していることが示唆される。

難治性疾患である成人 T 細胞白血病/リンパ腫(ATL)患者において、同種造血幹細胞移植後寛解期に腫瘍特異的な細胞障害性T細胞(CTL)が高頻度に検出可能なことから、抗腫瘍免疫応答が ATL 再発の制御に寄与していることが示唆される。

我々は、ATL 患者、HTLV-1 無症候性キャリアの血清を用いて IDO 活性を評価した結果、IDO 活性は HTLV-1 AC において健常人と比較して有意に上昇し、さらに ATL 患者では HTLV-1 AC と比較して有意に上昇していることを見出した。さらに、ATL 患者において、年齢、IDO 活性、臨床病期、性別、PS、血清 sIL2R 濃度、血清 Alb 値、末梢血中好酸球数について多変量解析を行ったところ、高齢、高い IDO 活性、PS 不良が独立した予後不良因子であるとの結果を得た。

### 2. 研究の目的

これまでの検索の結果、ATL 患者において IDO 活性が上昇し、IDO 活性の上昇は ATL 患者の予後不良と関連していると考えられた。これらの結果をもとに、以下の目的で研究を行った。

他の造血器悪性腫瘍におけるトリプトファン代謝の意義の検証  
Hodgkin リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫といった、他の造血器悪性腫瘍についても、ATL と同様に、トリプトファン代謝が予後に与える影響を評価し、予後予測因子および治療標的としての有用性を検証することを目的とした。

IDO 活性の治療反応性予測マーカーとしての可能性の検証  
治療前後の血清を用いて、IDO 活性を比較し、治療反応性を予測する指標として有用であるか、検証することを目的とした。

IDO 阻害剤の ATL に対する抗腫瘍効果の検証

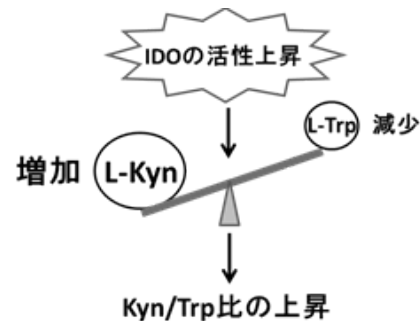
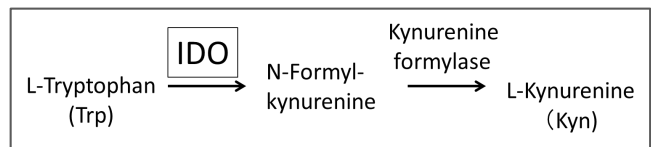
IDO 活性の上昇が、ATL において予後不良因子であるというこれまでの研究成果を踏まえて、IDO 阻害薬が ATL の新規治療薬と

して有用であるかを検証することを目的とした。

### 3. 研究の方法

他の造血器悪性腫瘍におけるトリプトファン代謝の意義の検証

未治療の Hodgkin リンパ腫、濾胞性リンパ腫、びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫の患者から、書面で同意を得て治療開始前に血清を採取し、血清中のトリプトファン、キヌレニンの濃度を高速液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析器 (HPLC/MS) を用いて測定した。前述のごとく、IDO はトリプトファンをキヌレニンに分解する経路の律速酵素で、IDO 活性の上昇により血清キヌレニンは増加、血清トリプトファンは減少し、この結果、Kyn/Trp 比が上昇することから IDO 活性を推定可能である。Kyn/Trp 比と、年齢、性別、臨床病期、血液検査所見などの臨床情報との関連や、全生存率(OS)など、予後との関連を調査した。



IDO 活性の治療反応性予測マーカーとしての可能性の検証

ATL 患者から、同意を得て治療前後に血清を採取し、と同様に HPLC/MS を用いて血清キヌレニンおよびトリプトファン濃度を測定し、Kyn/Trp 比を算出する。Kyn/Trp 比の治療前後での変化と、治療効果、全生存率など予後との関連を調査する。

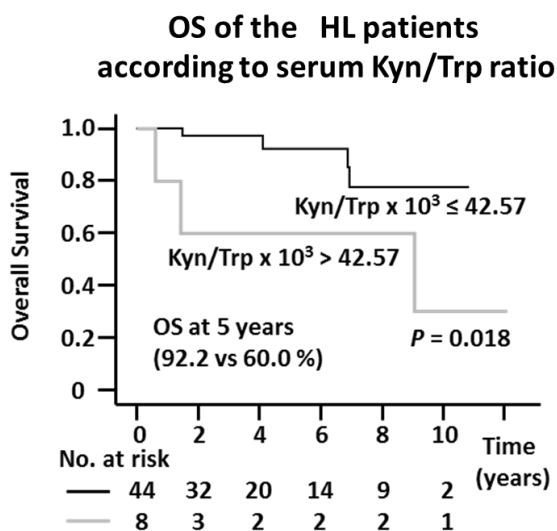
IDO 阻害剤の ATL に対する抗腫瘍効果の検証

治療前の ATL 患者から ATL 細胞を採取し凍結保存する。化学療法後、ATL 寛解時に同一の患者から末梢血単核球(PBMC)を採取し、凍結保存する。PBMC 中には少数の ATL 特異的 CTL が含まれる。保存しておいた ATL 細胞を解凍して NOG マウスに腹腔内投与し、ATL モデルマウスを作製する。これに ATL 寛解時の PBMC を腹腔内投与する。このマウスを治療群および対照群に分け、治療群には IDO 阻害剤を、対照群にはプラセボを経口投与する。マウスを解剖し、ATL 病変を病理組織検査、フローサイトメトリー法により評価し、腫瘍量を比較する。マウス血清中の腫瘍マーカー(ヒト可溶性 IL-2 受容体)濃度を ELISA 法により測

定し、比較する。マウス末梢血中のATL 特異的CTLをフローサイトメトリー法により検索し、ATL 特異的CTLのマウス体内での誘導効率を比較する。

#### 4. 研究成果

他の造血管悪性腫瘍におけるトリプトファン代謝の意義の検証  
未治療のHodgkinリンパ腫患者血清を用いてIDO活性を評価したところ、Hodgkinリンパ腫においてもIDO活性の上昇は独立した予後不良因子であることを見出した。Hodgkinリンパ腫患者由来リンパ組織を用いた検討では、IDO産生細胞は腫瘍細胞ではなく、腫瘍微小環境中に存在する組織球系の細胞であることを確認した。この結果をCancer Science誌に発表した(5. 主な発表論文等、雑誌論文 参照)。



Cancer Sci. 2018,109:74-83

濾胞性リンパ腫患者血清についてもIDO活性を評価し、IDO活性の上昇が予後不良因子となりうる可能性を見出した。これについては、現在、論文投稿中である。

これらの結果は、IDOがATLのみならず、他の造血管悪性腫瘍の予後因子として有用であるとともに、IDOががん免疫療法の治療標的として有望であることを示す。

IDO活性の治療反応性予測マーカーとしての可能性の検証

ATL患者の治療前後での血清を収集し、血清キヌレニンおよびトリプトファン濃度を測定している。この研究は、今後さらに症例数を増やして検討を継続する予定である。

IDO阻害剤のATLに対する抗腫瘍効果の検証

ATL患者から採取した、ATL細胞を用いて疾患モデルマウスを作成することに成功した。現在は、薬剤の投与経路、投与量、投与スケジュールの設定を行っており、さらに今後継続して研究を実施していく。

#### 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8件)

Masaki A, Ishida T, Maeda Y, 他14名(1番目). Clinical significance of tryptophan catabolism in Hodgkin lymphoma. *Cancer Sci.* 2018,109:74-83. doi: 10.1111/cas.13432.

Han S, Masaki A, Sakamoto Y, 他4名(2番目). Improved clonality detection in Hodgkin lymphoma using a semi-nested modification of the BIOMED-2 PCR assay for IGH and IGK rearrangements: A paraffin-embedded tissue study. *Pathol Int.* 2018,68:287-293. doi: 10.1111/pin.12660.

Aoyama S, Masaki A, Sakamoto Y, 他6名(2番目). *Achromobacter Infection Is Rare in Japanese Patients with Pulmonary B-cell Lymphoma.* *Intern Med.* 2018,15;57:789-794. doi: 10.2169/internalmedicine.9430-17

Sakamoto Y, Masaki A, Aoyama S, 他7名(2番目). Improved clonality detection in B-cell lymphoma using a semi-nested modification of the BIOMED-2 PCR assay for IGH rearrangement: A paraffin-embedded tissue study. *Pathol Int.* 2017 Sep;67(9):453-460. doi: 10.1111/pin.12566.

Narita T, Ishida T, Ito A, Masaki A, 他16名(4番目). Cyclin-dependent kinase 9 is a novel specific molecular target in adult T-cell

leukemia/lymphoma. *Blood.* 2017,130:1114-1124. doi: 10.1182/blood-2016-09-741983

Beppu S, Ito Y, Fujii K, 他13名(6番目). Expression of cancer/testis antigens in salivary gland carcinomas with reference to MAGE-A and NY-ESO-1 expression in adenoid cystic carcinoma. *Histopathology.* 2017,71:305-315. doi: 10.1111/his.13226

Kato J, Masaki A, Fujii K, 他7名(2番目). Quantitative PCR for HTLV-1 provirus in adult T-cell leukemia/lymphoma using paraffin tumor sections. *Pathol Int.* 2016 Nov;66(11):618-621. doi: 10.1111/pin.12462

Fujii K, Ishibashi KI, Kato J, 他7名(8番目). Cellular-level characterization of B cells infiltrating pulmonary MALT lymphoma tissues. *Virchows Arch.* 2016 Nov;469(5):575-580.

[学会発表](計5件)

Masaki A, Ishida T, Maeda Y, 他10名(1番目). Prognostic significance of tryptophan catabolism in newly diagnosed Hodgkin lymphoma. 第106回日本病理学会総

会. 2017 年

正木彩子、石田高司、前田康博、他 12 名  
(1 番目). 濾胞性リンパ腫の予後におけるトリプトファン代謝の意義. 第 79 回日本血液学会学術集会. 2017 年

Masaki A, Ishida T, Natrita T, 他 11 名  
(1 番目). Prognostic significance of tryptophan catabolism in newly diagnosed Hodgkin lymphoma. 第 75 回日本癌学会学術集会. 2016 年

Masaki A, Ishida T, Maeda Y, 他 17 名(1 番目). Prognostic significance of tryptophan catabolism in newly diagnosed Hodgkin lymphoma. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年.

Masaki A, Ishida T. T-cell receptor repertoire diversity in patients with ATL who receive mogamulizumab. 第 78 回日本血液学会学術集会. 2016 年

〔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〕

ホームページ等

<http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/patho2.dir/mysite1/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

正木 彩子 (MASAKI Ayako)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：40648044

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者

なし