

令和元年5月31日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15637

研究課題名(和文)2型糖尿病治療薬メトホルミンと抗PD-1抗体を併用した新しい肺癌免疫療法の開発

研究課題名(英文)Development of new immunotherapy for lung cancer by combined application of diabetes drug metformin and anti-PD-1 antibody

研究代表者

三好 新一郎(Miyoshi, Shinichiro)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・特命教授

研究者番号：00190827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：肺癌において、メトホルミンによる腫瘍免疫担当細胞の機能増強作用と抗PD-1抗体による免疫寛容状態の解除作用に着目し、肺癌における両者の併用治療の確立を目指す研究を行った。癌患者における末梢血ならびに腫瘍組織中のリンパ球の機能評価を行い末梢血単核球および腫瘍浸潤性T細胞をメトホルミンの存在・非存在下で培養しT細胞に非特異的な刺激を与えたところ、メトホルミン存在下ではサイトカイン産生能が増加したことを確認した。また、初代培養肺癌細胞に対するメトホルミン処理T細胞+抗PD-1抗体の抗腫瘍効果の検討と、メトホルミン処理T細胞+抗PD-1抗体の抗腫瘍効果を予測するバイオマーカーの探索・同定を進めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

難治性疾患の一つである肺癌において、腫瘍免疫担当細胞の機能増強作用を有するメトホルミンと、近年免疫療法として注目されている抗PD-1抗体を組み合わせることによる新規治療法の開発に繋がる成果と考えられ、悪性腫瘍の中でも日本をはじめ世界の多くの国で死亡者数が多い肺癌の治療成績を改善するために、社会的意義が大きい成果と考えられる。

研究成果の概要(英文)：We performed the research to develop new immunotherapy for lung cancer by combined application of diabetes drug metformin and anti-PD-1 antibody, as we focused on the effect of functional augmentation of immunocompetent cells by metformin, and the effect of canceling the immune tolerance by anti-PD-1 antibody. We evaluated the function of lymphocytes in peripheral blood and tumor tissue in cancer patients. We cultured peripheral monocytes and tumor-infiltrating T cells with or without metformin, and stimulated T cells in a non-specific manner. We confirmed the increase of the production of cytokines by T cells. We also evaluated the anti-tumor effect by metformin-treated T cells plus anti-PD-1 antibody, and biomarkers that predict the anti-tumor effect by metformin-treated T cells plus anti-PD-1 antibody.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：肺癌 メトホルミン 抗PD-1抗体

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

肺癌は本邦の癌死因の第一位であり、新しい治療法の開発が待たれる。近年、肺癌・悪性黒色腫などにおいてPD-1/PD-L1やCTLA-4をはじめとする免疫チェックポイント分子の阻害抗体による免疫療法の有用性が報告されている(N Engl J Med. 366:2443-54)(N Engl J Med. 369:122-33)。その機序は、癌細胞がPD-L1(PD-1のリガンド)を発現し、リンパ球などに発現しているPD-1分子と結合して免疫寛容状態を生じ、CD8+T細胞の攻撃を受けない免疫逃避が起きているが、抗PD-1抗体によってPD-1/PD-L1経路を遮断し抗腫瘍効果を回復させることである。さらに、腫瘍組織内ではT細胞が持続的な癌細胞との抗原反応の結果、疲弊状態(本来備えている攻撃能が機能不全に陥っている)を来していると考えられているが、連携研究者の鶴殿らは、免疫疲弊を起こしているCD8+T細胞の機能が、2型糖尿病治療薬であるメトホルミンによって劇的に向上することをマウスで突き止めた(PNAS. 112(6):1809-14)。また、申請者らは糖尿病非合併の健常者ならびに担癌患者において、メトホルミン服用前後のCD8陽性T細胞の機能を殺腫瘍性サイトカイン産生能として検討したところ、担癌患者においてCD8+T細胞の機能の顕著な向上を認めた(図1)(UMIN000014337)(UMIN000014689)。また、抗PD-1抗体はPD-L1を発現する腫瘍に対して効果が高いことが言われていたが(N Engl J Med. 369:122-33)、近年PD-L1を発現しない腫瘍に対しても抗PD-1抗体が抗腫瘍効果を発揮することも報告されており(N Engl J Med. 372:320-30)、PD-L1は、抗PD-1抗体の効果予測因子と考えられるものの、投与を行うか否かのバイオマーカーとしては不適である。

図1. a. 健常者におけるメトホルミン内服によるCD8陽性T細胞のサイトカイン産生能の回復

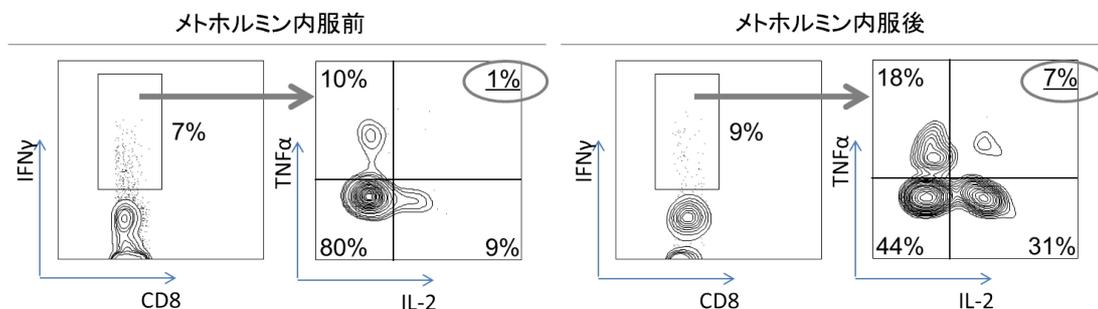


図1. b. 担癌患者におけるメトホルミン内服によるCD8陽性T細胞のサイトカイン産生能の回復

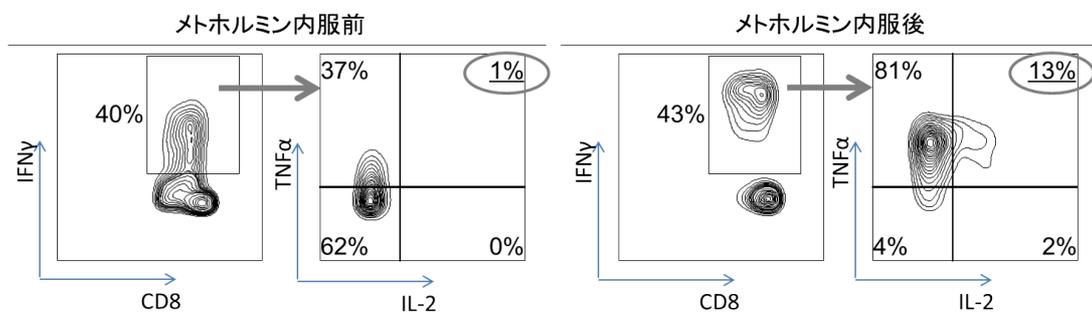


図1の説明

健常者、担癌患者ともメトホルミンの服用により、IFN γ ・TNF α ・IL-2の3種類のサイトカインを同時に産生するCD8陽性T細胞が著明に増加している(健常者:1%から7%、担癌患者:1%から13%)

2. 研究の目的

これらを元 to 本研究では、①免疫チェックポイント分子抑制抗体による癌細胞の免疫逃避の解除およびメトホルミンによるCD8+T細胞の機能向上、②患者本人の腫瘍細胞を用いた模擬治療による効果判定の2点に着目した肺癌に対する新しい免疫療法の可能性を検討する。

図2. 初代培養癌細胞に対する抗PD-1抗体+メトホルミン処理T細胞併用療法のシエマ

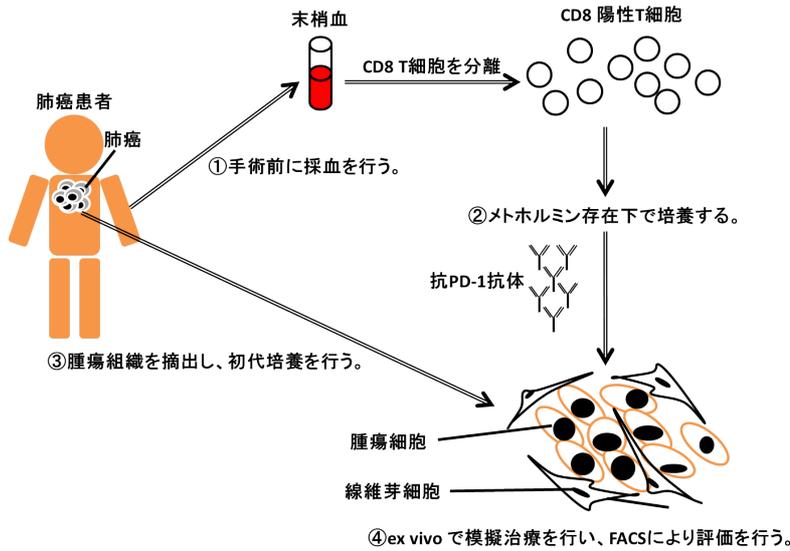


図2の説明

- ① 担癌患者末梢血より CD8⁺T 細胞を分離。
- ② メトホルミン存在下で T 細胞を培養。
- ③ 患者の腫瘍組織から癌細胞を初代培養。
- ④ メトホルミン処理 T 細胞および抗 PD-1 抗体による *ex vivo* での模擬治療を行い、抗腫瘍効果を検討。

3. 研究の方法

癌患者における末梢血ならびに腫瘍組織中のリンパ球の機能評価を行う。初代培養肺癌細胞に対するメトホルミン処理 T 細胞+PD-1 抗体の抗腫瘍効果を検討する。その抗腫瘍効果を予測するバイオマーカーの探索・同定を行う。

4. 研究成果

癌患者における末梢血ならびに腫瘍組織中のリンパ球の機能評価を行い末梢血単核球および腫瘍浸潤性 T 細胞をメトホルミンの存在・非存在下で培養し T 細胞に非特異的な刺激を与えたところ、メトホルミン存在下ではサイトカイン産生能が増加したことを確認した (図 3)。また、癌患者と健常者の細胞内 Ca²⁺の推移は異なる傾向があるが、メトホルミンの投与により、癌患者の細胞内 Ca²⁺の推移が改善する可能性があることが明らかとなった (図 4)。さらに、初代培養肺癌細胞に対するメトホルミン処理 T 細胞+抗 PD-1 抗体の抗腫瘍効果の検討と、メトホルミン処理 T 細胞+抗 PD-1 抗体の抗腫瘍効果を予測するバイオマーカーの探索・同定を進めた。

図3. 健常者・癌患者のメトホルミン投与によるリンパ球のサイトカイン産生能の変化

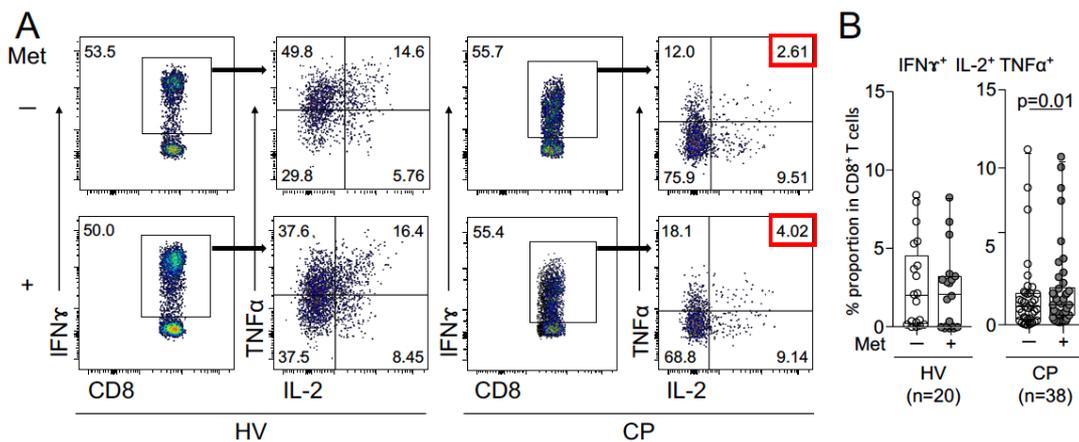
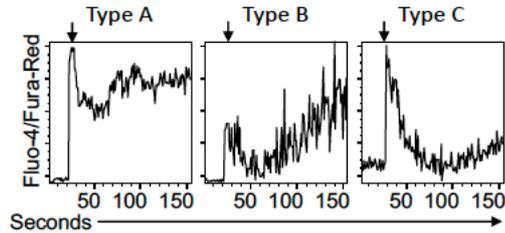


図3の説明

癌患者において、メトホルミン処理した末梢血のCD8⁺T細胞のサイトカイン産生能は上昇傾向であった (HV: 健常人、CP: 癌患者、Met: メトホルミン)。

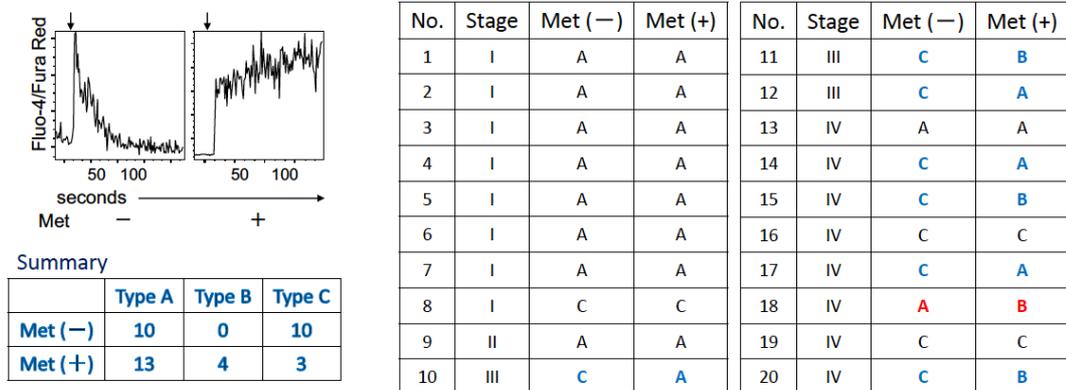
図4. 癌患者の細胞内Ca²⁺の推移

A



B

T細胞を10μMのメトホルミンと6時間共培養する前後で細胞内のCa²⁺を比較した結果



C

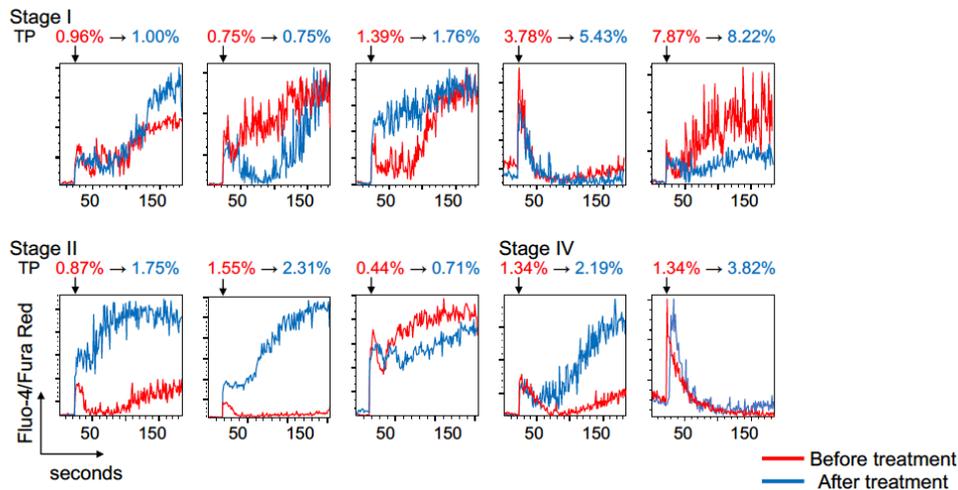


図4の説明

CD8⁺T細胞に刺激を加えると細胞内のカルシウム濃度が上昇することが分かっている。刺激を加えてから、そのまま細胞内のカルシウム濃度の維持が出来るものを type A、一旦濃度が下がっても、再度上昇してくるものを type B、カルシウムの濃度をほとんど維持できないものを type C と分類した場合、がん患者では type C に分類される頻度が高かった。その末梢血 CD8⁺T細胞のカルシウム濃度の維持が、メトホルミン投与によって改善する可能性が示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

1. 渡邊元嗣、榮川伸吾、豊岡伸一、鵜殿平一郎 2 型糖尿病治療薬メトホルミンのヒト末梢血 CD8 T 細胞への影響 第 22 回日本がん免疫学会総会 (岡山)、2018 年
2. Watanabe M, Eikawa S, Shien K, Yamamoto H, Shien T, Soh J, Doihara H, Toyooka S, Miyoshi S, Uono H. Metformin improves immune function of exhausted peripheral CD8+ T cells derived from cancer patients. AACR Annual Meeting 2017 (Washington, DC, USA), 2017 年
3. 渡邊元嗣、榮川伸吾、友信奈保子、野島一郎、木村裕司、上原健敬、國定勇希、豊岡伸一、鵜殿平一郎 2 型糖尿病治療薬メトホルミンのヒト末梢血 CD8 T 細胞への影響 第 20 回日本がん免疫学会総会 (大阪)、2016 年
4. Watanabe M, Eikawa S, Takenori U, Kunisada Y, Toyooka S, Miyoshi S, Uono H. Metformin improves multiple cytokine producing ability of exhausted peripheral CD8+ T cells of cancer patients. AACR Annual Meeting 2016 (New Orleans, USA), 2016 年

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：豊岡 伸一

ローマ字氏名：(TOYOOKA, Shinichi)

所属研究機関名：岡山大学

部局名：医歯薬学総合研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁)：30397880

研究分担者氏名：山本 寛斉

ローマ字氏名：(YAMAMOTO, Hiromasa)

所属研究機関名：岡山大学

部局名：大学病院

職名：助教

研究者番号 (8 桁)：40467733

研究分担者氏名：阪口 政清
ローマ字氏名：(SAKAGUCHI, Masakiyo)
所属研究機関名：岡山大学
部局名：医歯薬学総合研究科
職名：教授
研究者番号 (8 桁)：70379840

研究分担者氏名：宗 淳一
ローマ字氏名：(SOH, Junichi)
所属研究機関名：岡山大学
部局名：大学病院
職名：講師
研究者番号 (8 桁)：90559890

(2)研究協力者
なし

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。