

令和元年6月6日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K19949

研究課題名(和文) がん免疫機構を複合した革新的コンセプトによる膵癌治療戦略の設計と導入

研究課題名(英文) Design and introduction of the strategy of pancreatic cancer therapy by the innovative concept that compounded the cancer immune system

研究代表者

北畑 裕司 (Kitahata, Yuji)

和歌山県立医科大学・医学部・学内助教

研究者番号：00535338

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究において、CpG-ODNを腫瘍内投与することで、皮下担癌マウスモデルにおいて、自然免疫の活性化およびそれに引き続く獲得免疫の活性化の可能性が示された。この結果から、CpG-ODN単独での治療効果における免疫学的メカニズムを解明できた。この成果をpreclinical studyとしての研究を行う計画を立案中である。また、複合免疫療法として、免疫チェックポイント抗体等との併用による相乗効果が期待できる新たな治療法の確立に向けてその可能性を探るべく研究計画をすすめている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵癌は未だ難治癌として位置づけられ、その治療成績は、他の消化器癌と比較しても著しく悪い。この治療成績を少しでも改善するために、診断、治療の双方からアプローチしてきたが、未だに膵癌克服にむけたブレイクスルーには至っていない。近年、免疫チェックポイント阻害剤の開発が進みさまざまな癌種において適応が広がっているが、膵癌への適応は開発途上である。こうした背景のなか、本研究の成果が膵癌治療にとって、少しでも前進できる足がかりと期待できる。

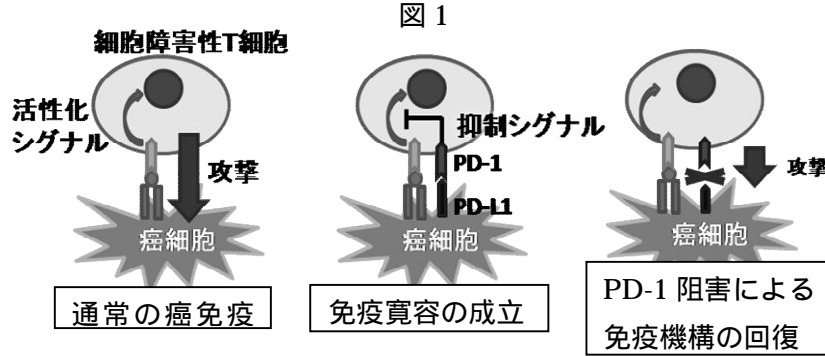
研究成果の概要(英文)：In this study, the activated possibility of the adaptive immune system to follow activation and that of innate immune system was shown in this mouse tumor models by giving CpG-ODN intratumorally. From this result, I was able to elucidate immunologic mechanism in the curative effect in CpG-ODN alone. I am drawing up a plan studying as preclinical study along this result. In addition, I push forward a study plan in order to investigate the possibility for the establishment of the new concept therapy that synergy by the combination with immuno-checkpoint antibodies can expect as a compound therapy of cancer immune system.

研究分野：膵癌

キーワード：膵癌 免疫療法

1. 研究開始当初の背景

近年、免疫チェックポイント分子に着目した創薬をはじめ、癌に対する免疫療法がその良好な臨床効果から注目されている。その中心を担っているのが、PD-1 阻害薬(PD-1 抗体)である。細胞障害性 T 細胞[cytotoxic T lymphocyte(CTL)]は抗原特異的に腫瘍を認識することで腫瘍細胞への抗腫瘍作用を発揮する。しかし、CTL に発現する PD-1 分子と腫瘍細胞に発現する PD-L1 分子が結合することで CTL の腫瘍攻撃能が損なわれ、抗腫瘍効果が発揮できなくなる。PD-1 抗体は、PD-1 の発現により活性が抑制された CTL の抗原特異的な腫瘍攻撃能を回復させることによって抗腫瘍効果を再度もたらすが明らかとなっている。PD-1 抗体は、このメカニズムに着目して臨床開発され、2014 年には本邦でも保険適応となった。悪性黒色腫に対して目覚ましい臨床効果



臨床効果を確認したことで創薬されたのに引き続き、様々な癌種に対しても開発がすすめられている。しかし、一方で、報告されている奏効率は16%~32%と決して高くはない。特に膵癌をはじめとした消化器癌に

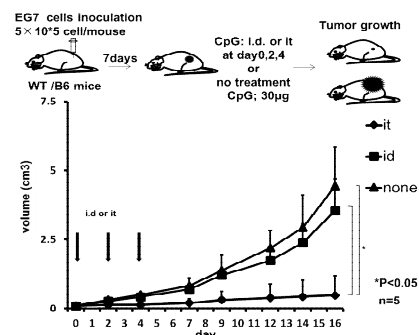
対する有効性の報告はない。その原因として免疫逃避機構、つまり腫瘍細胞の heterogeneity がいわれているが、我々はその一つである腫瘍細胞の MHC class I 分子の発現低下に注目した (M. DuPage et al. Nature 2012;482:405-409)。CTL が腫瘍細胞を攻撃するためには、腫瘍細胞の表面に発現する抗原ペプチド-MHC class I 複合体を認識することが必要である。しかし、腫瘍細胞は免疫逃避機構作用を有し、少なからず MHC class I 分子の発現が消失または低下していることが知られている。このような腫瘍環境においては、PD-1 抗体で CTL の細胞傷害活性を回復させたとしても腫瘍細胞を標的と捉える事ができない (図 1)。そこで我々は、免疫逃避機構により MHC class I 分子の発現が消失または低下した腫瘍細胞の MHC class I 分子の発現を再増強させることにより、PD-1 抗体で活性化された CTL に腫瘍を標的とできること考えた。このメカニズムにより PD-1 抗体の抗腫瘍効果を画期的に増強できると考える。

2. 研究の目的

自然免疫受容体 TLR-9 の agonist である CpG-ODN に注目し、そのアジュバント効果について報告してきた (Katsuda M. Int J Oncol. 2011;39(5):1295-302)。TLR9 は形質細胞様樹状細胞(plasmacytoid DC)や B 細胞に発現し、大量のインターフェロンを産生する。また、MHC class I 分子の発現は、I 型インターフェロン (IFN) およびインターフェロン (IFN) により増強することが明らかとなっている (Palmer KJ Clin Exp Immunol 2000、Zhou F Int Rev Immunol. 2009)。そこで、我々は CpG-ODN 投与により、腫瘍局所におけるインターフェロン産生を引き起こすことができれば、免疫逃避機構を形成した腫瘍細胞の MHC Class I 発現を再増強させ、画期的な効果を発揮するとされる PD-1 抗体の弱点を克服できると考えた。以上より、PD-1 抗体と CpG-ODN 併用による画期的な新規抗癌複合免疫治療戦略を設計した。

3. 研究の方法

CpG-ODN に関する研究は、マウス実験において、皮下投与 (intra dermal [i.d.]) よりも腫瘍内投与 (intra tumor [i.t.]) でその抗腫瘍効果が顕著となることを確認した。さらに、本研究では、CpG-ODN を腫瘍内投与することで腫瘍局所における IFN 産生を誘導し、腫瘍細胞における MHC-class I の発現増強を促し、さらに PD-1 抗体を併用することでこの両者による抗腫瘍効果の相乗効果を検討した。CpG-ODN 単独療法において、自然免疫の活性化のみならず獲得免疫が誘導されるかを検討した。mouse cell line を皮下接種し、皮下担癌マウスモデルを作成し、CpG-ODN を用いて、全身投与群、腫瘍内投与群、または非治療群における抗腫瘍効果の検討を行った。いずれの cell line においても、腫瘍内投与群でのみ、有意に抗腫瘍効果を認めた。次に、両鼠径部に cell line

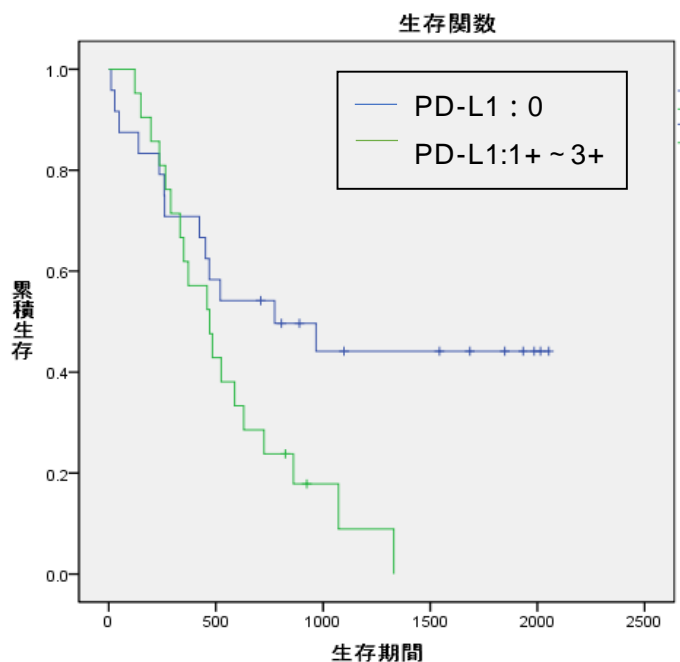


を皮下接種し、両側鼠径部の担癌マウスモデルを作成し、CpG-ODN を用いて、全身投与群、片側腫瘍(右鼠径部腫瘍のみ)への腫瘍内投与群、または非治療群における抗腫瘍効果の検討を行った。片側腫瘍への腫瘍内投与群において、両側腫瘍での抗腫瘍効果が認められた。その他の2群では抗腫瘍効果は得られなかった。

当科にて、膵癌に対する手術検体を対象として、原発巣をホルマリン固定、パラフィン包装処理を行った標本を用いて、抗 PD-L1 抗体を用いて免疫組織染色を行った。結果、腫瘍組織内に抗 PD-L1 陽性細胞を認めた症例では、認めなかった症例と比較して、有意に予後不良であることがわかったこの結果から、膵癌患者に対して、複合免疫療法を行う場合には、PD-1 抗体を用いることは、理論的にも有用であることが実証された。

4 . 研究成果

本研究において、CpG-ODN を腫瘍内投与することで、皮下担癌マウスモデルにおいて、自然免疫の活性化およびそれに引き続く獲得免疫の活性化の可能性が示された。この結果から、CpG-ODN 単独での治療効果における免疫学的メカニズムを解明できた。この成果を preclinical study としての研究を行う計画を立案中である。また、膵癌標本を用いて施行した免疫染色結果から、PD-1 をターゲットとした複合免疫療法として、免疫チェックポイント抗体等との併用による相乗効果が期待できる新たな治療法の確立に向けてその可能性を探るべく研究計画をすすめている。



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 0 件)

〔学会発表〕(計 0 件)

〔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：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

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。