

令和 2 年 6 月 15 日現在

機関番号：34417

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09963

研究課題名(和文) 骨髄腫最適化治療に向けたIMiDsと抗体医薬の免疫賦活機序の解明

研究課題名(英文) Elucidation of immunostimulatory mechanism of IMiDs and antibody-drugs for optimized myeloma treatment

研究代表者

伊藤 量基 (ITO, Tomoki)

関西医科大学・医学部・准教授

研究者番号：70434826

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：レナリドミドは、plasmacytoid dendritic cells (DCs)からのIFN- α 生産を維持増強し、一方、myeloid DCsに対して、Th1応答を抑えTh2応答へシフトさせ、液性免疫・アレルギー応答の増強を惹起する能力が示された。すなわち、IMiDsは、樹状細胞関連免疫応答を増強することで免疫の賦活化に寄与する。多発性骨髄腫は免疫不全が特徴であり、その免疫不全が予後に関与するが、我々の結果は、IMiDsの有する免疫賦活能の新たなターゲット細胞を同定したとともに骨髄腫治療でIMiDsが有用であるその機序の一端を解明出来たと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫調節薬IMiDsという薬剤が、なぜ多発性骨髄腫に対し効くのか？その免疫学的解析を樹状細胞という免疫システムの司令官をターゲットとして解明し得たことが学術的意義と言える。また、この薬剤を使用した場合、有害事象の皮疹が出ると、実は潜在的に治療効果が高い可能性があることが示された。この結果は、実臨床で非常に有益な情報と考えられ社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：We demonstrated that lenalidomide could sustain and potentially enhance IFN- α production from plasmacytoid dendritic cells (DCs). In addition, IMiDs suppressed the Th1-inducing capacity of myeloid DCs, instead promoting a Th2 response. The lenalidomide-associated rashes might be a result of an allergic response driven by Th2-axis activation. Our findings suggest clinical efficacy and rashes as a side effect of IMiDs are inextricably linked through immunostimulation. Thus, IMiDs enhances the DC-mediated IFN- α response and Th2 immune response, contributing to immune activation. As multiple myeloma is characterized by immune dysfunction involved in prognosis, our findings unveiled a novel target of IMiDs. IMiDs have the DC-mediated immunostimulatory activities, leading to amplification of a positive immune axis able to eliminate MM cells.

研究分野：血液免疫学 樹状細胞 造血器腫瘍学

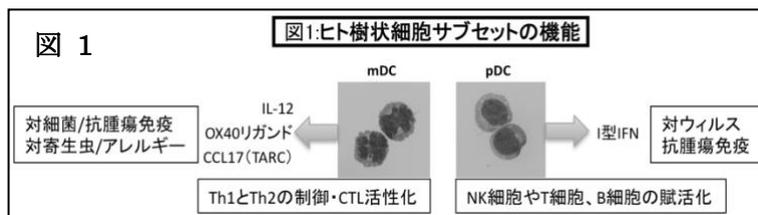
キーワード：IMiDs type I IFNs Th2 immune response allergy multiple myeloma antibody drugs dendritic cells CCL17

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。

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

多発性骨髄腫 (multiple myeloma; MM) の新規治療薬としてレナリドミドやポマリドミドといった免疫調節薬 (IMiDs) が非常に優れた治療成績をもたらしている。転写因子調節による直接の腫瘍増殖抑制作用に加え、免疫賦活化能による抗腫瘍効果を有している。プロテアソーム阻害薬ボルテゾミブとならんで、この IMiDs が現在の MM 治療のキードラッグであり、またエロツズマブ (抗 SLAMF7 抗体) やダラツムマブ (抗 CD38 抗体) といった抗体医薬との併用療法のバックボーンドラッグとなる。しかしながら、IMiDs の抗腫瘍免疫作用機序のみならず、組み合わせる抗体医薬の免疫修飾作用など未解明である。すなわち IMiDs の免疫賦活効果を理解し、抗体医薬との組み合わせで、その機能をいかに有効に活用するか、それらを理解して使用することが、今後の MM 治療の発展に重要と考えられる。これまで免疫エフェクター細胞である T 細胞や NK 細胞に対する IMiDs の賦活化効果は報告されているが、本申請では、エフェクター細胞の上位に位置し、自然免疫と獲得免疫いずれをも制御する「樹状細胞 (Dendritic cell: DC)」に対する作用機序の解明を目的とする。申請者はこれまで、ヒト樹



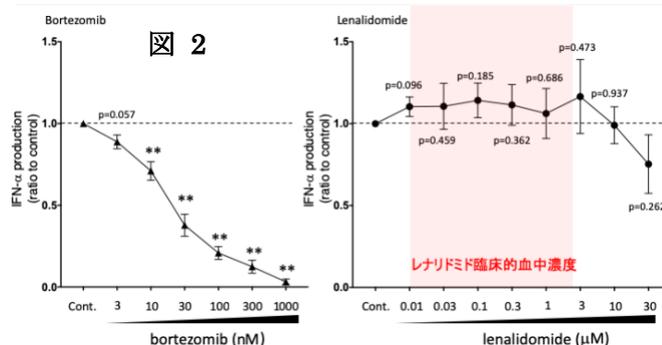
状細胞の機能解析を専門として研究を行ってきた。樹状細胞はミエロイド系 DC (mDC) とリンパ球系 DC (plasmacytoid DC: pDC) と 2 つ樹状細胞サブセットに大別され、それぞれ、産生するサイトカインと惹起する免疫反応が異なっている (図 1) ことを解明してきた。ヒト mDC は Th1 誘導と Th2 誘導の可塑性を有し、アレルギー関連上皮サイトカインである TSLP (thymic stromal lymphopoietin) 刺激によって、Th2 細胞誘導能を発揮し、アレルギー性疾患の病態に寄与する。pDC は I 型 IFN を大量産生し抗ウイルス免疫に寄与する。このように樹状細胞は様々な免疫応答に関与する免疫の司令官たる細胞と言える。

2. 研究の目的

本申請では、IMiDs の作用を「樹状細胞」を標的とした実験モデルを *in vitro* で構築し、2 つの樹状細胞サブセットそれぞれに対する作用機序を明らかにするとともに、それぞれに特有な免疫応答能にどのような影響を与えるのか? また IMiDs のみならず、抗体医薬添加時における樹状細胞機能の改変も検討する。さらに IMiDs 投与患者血球および血清での検討も行う。これらを検証し、IMiDs ベースの治療の MM における最適化治療確立のためのデータの蓄積を目的とする。

3. 研究の方法

A: *in vitro* における実験: IMiDs (レナリドミド・ポマリドミド) および抗体医薬 (抗 SLAMF7 抗体・抗 CD38 抗体) をヒト樹状細胞サブセットへ添加培養し、その作用を、樹状細胞の有する Th1/Th2 誘導能や IFN 産生に関連する分子・シグナルの解析と、T 細胞に対する効果検定を



を行う。さらに IMiDs と抗体医薬の相乗効果についても検証する。B: 患者血球・血清における実験: IMiDs 投与時患者における血中樹状細胞サブセットおよび血清解析で、樹状細胞関連因子・マーカーにどのように変化が起きているか解析する。

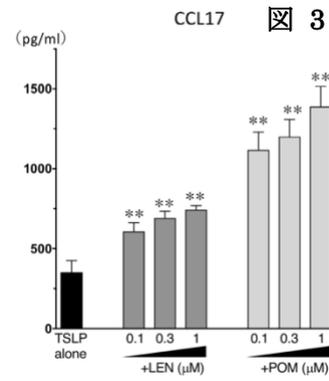
4. 研究成果

①ボルテゾミブは用量依存的に pDCs に対する細胞傷害性を示したが、レナリドミドの臨床的血中濃度である 0.1~3 μM では pDCs に対し細胞傷害性を示さず、また樹状細胞の成熟マーカーである CD86 発現に影響を及ぼさなかった。臨床的血中濃度のレナリドミドは pDC の生存性に CpG-刺激 pDC の持つ IFN-α 産生能を維持することを確認した (図 2)。前述の実験系において、3 μM CpG-ODN(1~0.1 μM) で刺激すると、1 μM のレナリドミド添加によって、有意に pDCs からの IFN-α 生産を増加させた。ボルテゾミブはむしろ IFN-α 産生能を根絶することから、この効果は IMiDs の特徴と考えられる。

②IMiDs(レナリドミド・ポマリドミド)が mDCs に対して、LPS 刺激時における Th1 反応 (IL-12、TNF) を抑制し、IL-10 産生を増強した。細胞内シグナルとして Th1 に関与する STAT4 mRNA レベルを抑制することも確認させた。一方、TSLP 刺激による Th2 応答において、mDC 由来の Th2 ケモカインである CCL17 産生に対して、IMiDs(レナリドミド・ポマリドミド)は増強効果を示した (図 3)。その細胞内シグナルである

IRF4 及び STAT6 の mRNA レベルを増強することも確認した。また IMiDs(レナリドミド・ポマリドミド)で刺激した mDC は memory Th2 細胞に対して、Th2 反応の増強作用を示した。③レナリドミド投与患者 46 名とボルテゾミブ投与患者 28 名の血清解析から、レナリドミド投与患者では、血清 CCL17 レベルの増加が認められ、一方、ボルテゾミブ投与患者では、血清 CCL17 値が低下した (図 4)。レナリドミド投与患者において、レナリドミドに特徴的な皮疹が出現した場合、その血清 CCL17 値が、皮疹の出現しなかった場合に比べて有意に高値であった。同様に、VGPR を達成した good responder では達成できなかった poor responder に比べてやはり血清 CCL17 が有意に高値であり、皮疹と治療効果の出現には相関が認められた。

【考察】



CCL17 図 3

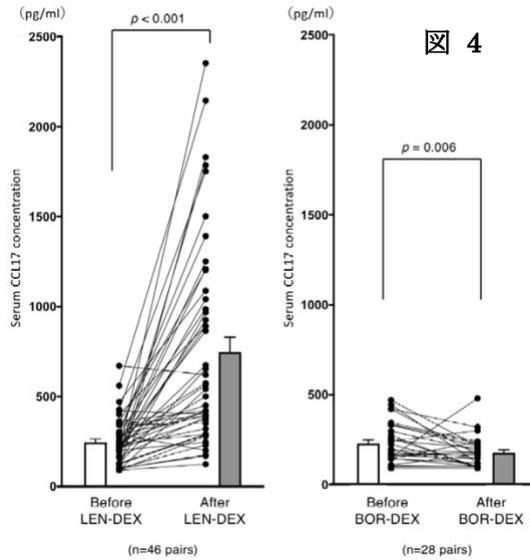


図 4

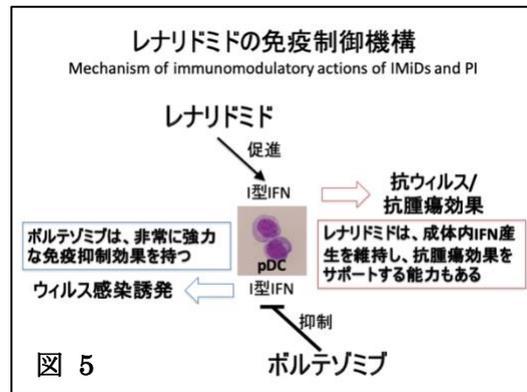
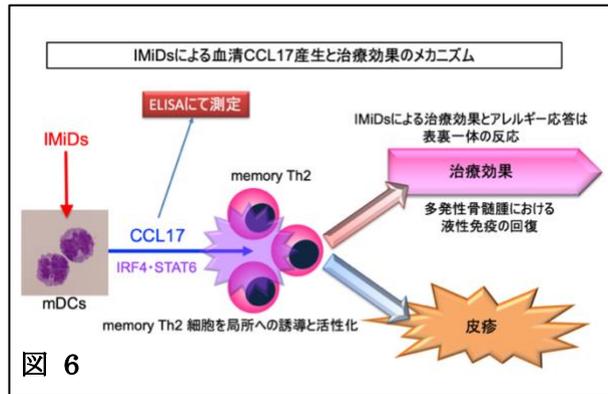


図 5

に比べてやはり血清 CCL17 が有意に高値であり、皮疹と治療効果の出現には相関が認められた。

レナリドミドが pDCs からの IFN- α 生産を潜在的に維持強化することができることを証明した。I 型 IFN は T 細胞、NK 細胞、単球、好中球などの免疫イフェクター細胞を活性化することが知られているが、レナリドミドの有するこの I 型 IFN 産生増強能は、骨髄腫治療において、直接の殺腫瘍作用のみならず、免疫イフェクターを活性化することによる効果も重要と考えられる (図 5)。



さらにボルテゾミブ治療と比較してレナリドミド治療では、帯状疱疹ウイルス感染の発症率が低いことが知られており、今回のデータはその一因を解明し得た可能性がある。また、mDCs に対する作用から、IMiDs は Th1 応答を抑え、Th2 応答へシフトさせるポテンシャルを有すると考えられた。これは、多発性骨髄腫は形質細胞の腫瘍であるため液性免疫不全が特徴であり、この免疫不全が予後に関与するが、IMiDs により樹状細胞関連 Th2 免疫応答が増強され、結果的に液性免疫の賦活化に繋がる可能性が示唆された。これはレナリドミド投与時に皮疹が出現すると治療効果が良いという結果からもレナリドミドにより樹状細胞関連 Th2 免疫の賦活化が、結果としてアトピー様皮疹の出現にも寄与するが、治療効果にも貢献するという、表裏一体の反応であると考えられた (図 6)。我々の結果は、IMiDs の有する免疫賦活能の新たなターゲット細胞を同定し得たと言える。残念ながら、抗体薬と IMiDs との相互作用解析は、現時点でまだ結果が出ておらず今後の課題となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 3件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kayoko Kibata, Tomoki Ito, Muneo Inaba, Akihiro Tanaka, Ryoichi Iwata, Noriko Inagaki-Katashiba, Vien Phan, Atsushi Satake, Shosaku Nomura	4. 巻 10
2. 論文標題 immunomodulatory-drug, lenalidomide, sustains and enhances interferon- α ; production by human plasmacytoid dendritic cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Blood Med	6. 最初と最後の頁 217-226
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2147/JBM.S206459	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Tomoki Ito	4. 巻 3
2. 論文標題 Immunomodulatory Drugs and Plasmacytoid Dendritic Cells: Cooperation in Multiple Myeloma Treatment.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Blood Transfusions and Diseases	6. 最初と最後の頁 136-143
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Vien Phan, Tomoki Ito, Muneo Inaba, Yoshiko Azuma, Kayoko Kibata, Noriko Inagaki-Katashiba, Akihiro Tanaka, Atsushi Satake, Shosaku Nomura.	4. 巻 In press
2. 論文標題 Immunomodulatory drugs suppress Th1-inducing ability of dendritic cells but enhance Th2-mediated allergic responses	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Blood advances	6. 最初と最後の頁 In press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Yoshiko Azuma
2. 発表標題 e: Myeloma cells have the ability to suppress Th1-inducing capacity but enhance Th2-mediated response of dendritic cells by producing factors other than soluble SLAMF7
3. 学会等名 The 60th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting(国際学会) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yuta Yamanaka
2. 発表標題 Short-term exposure to a high concentration of carfilzomib stimulates plasmacytoid dendritic cells
3. 学会等名 日本血液学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yusuke Sawai
2. 発表標題 Clinical trough concentration of ixazomib does not suppress function of human dendritic cell subsets
3. 学会等名 日本血液学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tomoki Ito
2. 発表標題 Lenalidomide Acts As a Positive Immunomodulator through Modulating the Functions of Human Plasmacytoid Dendritic Cells
3. 学会等名 The 59th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Yoshiko Azuma
2. 発表標題 Elotuzumab enhances the Th2-mediated immune response of dendritic cell induced by Immunomodulatory Drugs (IMiDs)
3. 学会等名 The 61th American Society of Hematology (ASH) Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ
関西医科大学内科学第一講座 研究業績
<http://imed1.kmu-ac.jp/index.html>

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	山中 裕太 (YAMANAKA Yuta)		
研究協力者	澤井 裕介 (SAWAI Yusuke)		
研究協力者	東 由子 (AZUMA Yoshi ko)		
連携研究者	松田 達志 (MATSUDA Satoshi) (00286444)	関西医科大学・医学部・准教授 (34417)	