

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11137

研究課題名(和文)新規のチェックポイント阻害薬による腫瘍内免疫疲弊解除機構の解明

研究課題名(英文)The mechanism of release from immune exhaustion in tumor by a novel checkpoint inhibitor

研究代表者

定平 卓也 (Sadahira, Takuya)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：20733322

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：がん治療において免疫機能調節は非常に重要である。近年、免疫チェックポイント阻害薬の登場により、投与患者において劇的な抗腫瘍効果が報告された。しかしながら、免疫チェックポイント阻害薬のみでは癌を根絶することはできず、効果があったとしても副作用が懸念されている。将来的には、副作用が軽微で同様の治療効果がある免疫機能制御法が求められる。これまでに我々のグループは、2型糖尿病薬メトホルミンが上記抗体と同様の作用を示すことをマウス腫瘍移植モデルにおいて実証している。本申請研究では、新規のチェックポイント阻害薬による腫瘍内免疫疲弊解除機構を解明し、複合免疫療法としての免疫学的基盤の確立を目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本申請研究では、既に臨床に応用されている免疫チェックポイント阻害薬とメトホルミン併用することにより、従来の免疫治療では想像もできなかったレベルでの抗癌治療効果が期待できる。すなわち本研究を推進することで、様々な癌腫に応用可能な新規の複合免疫療法が確立されることが期待される。次世代の免疫治療にチャレンジするという点で、本研究の重要性、意義は計り知れない。

研究成果の概要(英文)：The regulation of immune system is very important for cancer treatment. Recently, dramatic anti-tumor effects have been reported in the patients receiving immune checkpoint inhibitors. However, they alone do not eradicate cancer. Even if they are effective, there are concerns about side effects. In the future, there is a need for a method of controlling immune function that has a similar therapeutic effect with fewer side effects. To date, our group has demonstrated that the type 2 diabetes drug metformin has similar effects to the above antibodies. In this study, we aim to elucidate the mechanism of immune exhaustion release by a novel checkpoint inhibitor and to establish new approach for the combined immunotherapy.

研究分野：尿路性器癌

キーワード：癌免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、癌免疫療法においてT細胞疲弊(T-cell exhaustion)という抗原特異的な細胞障害性T細胞の機能喪失及び細胞死という現象が注目されている。T細胞疲弊の分子メカニズムには、抑制性サイトカイン(TGF- β 、IL-10など)の関与や負の制御因子(CTLA-4、PD-1、TIM-3、LAG-3など)発現が関与しており、臨床的にはメラノーマ、腎癌、肺小細胞癌を中心に、抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体による抗体療法により劇的な腫瘍縮小効果があることが報告された。我々のグループは、2型糖尿病薬メトホルミンが腫瘍微小環境におけるT細胞疲弊を解除し、T細胞のもつ本来の能力を回復させることで抗腫瘍効果を発揮することを実証している。さらに、2型糖尿病薬メトホルミンの投与により、腫瘍浸潤細胞(Tumor-infiltrating Lymphocyte:TIL)中のCD8(+)T細胞が増加すること、腫瘍浸潤CD8(+)T細胞がエフェクターメモリー(effector memory:T_{EM})を示すこと、同細胞集団のサイトカイン産生能が維持されることを明らかにしている。一方で、我々のグループにより同定された癌抑制・治療遺伝子REIC/Dkk-3は、ヒトの前立腺癌、腎細胞癌、膀胱癌、肝細胞癌、非小細胞肺癌などの癌細胞で高頻度に発現が低下していること、発現低下の主たる要因はプロモーター領域のメチル化によること、前立腺癌では、検討した52症例全ての癌組織でタンパク質の発現が低下しており、アデノウイルスを用いて強制発現させると小胞体ストレス応答に基づき癌特異的アポトーシスが誘導されること、

REIC/Dkk-3タンパク質が、樹状様細胞を分化誘導し、マウス生体内での抗癌免疫賦活化に加え、癌抗原特異的細胞障害性T細胞(CTL)の誘導も実証している。さらに最近の我々の研究においてREICタンパク質がエフェクターT細胞(エフェクターCD8陽性T細胞)を活性化し、高い抗腫瘍作用を有することが明らかとなっている。

2. 研究の目的

がん治療において免疫担当細胞の機能調節は非常に重要である。近年、疲弊T細胞に発現する疲弊分子(免疫チェックポイント分子)に対する阻害抗体の投与患者において劇的な抗腫瘍効果が報告された。この報告から患者自身の免疫応答によりがん治療が可能であることが示された。しかしながら、疲弊分子すべてを抗体のみで阻害することは難しく、また抗体併用投与による全身的な免疫活性化に起因した副作用も懸念されている。将来的には、これら副作用が軽微で同様の抗腫瘍効果を示す免疫担当細胞の機能制御法が求められる。これまでに我々のグループは、2型糖尿病薬メトホルミンとREICタンパク質が上記抗体と同様の作用を示すことをマウス腫瘍移植モデルにおいて実証している。本申請研究では、これら新規のチェックポイント阻害薬である2型糖尿病薬メトホルミンとREIC/Dkk-3タンパク質による腫瘍内免疫疲弊解除機構を解明し、複合免疫療法としての免疫学的基盤の確立を目指した。

3. 研究の方法

新規の免疫チェックポイント阻害薬である2型糖尿病薬メトホルミンを用いたがん免疫治療において、従来の免疫チェックポイント阻害薬と同等もしくはそれ以上の治療効果を確認し、腫瘍内免疫疲弊解除機構を解明することを目的とした。腎癌、膀胱癌、前立腺癌を中心とした尿路性器癌において、このメトホルミンを用いたがん免疫治療の有用性ならびに抗腫瘍効果を検証し、当該免疫治療の基盤を確立した。免疫チェックポイント阻害薬(抗PD-1抗体、抗CTLA-4抗体)とメトホルミンの併用し、in vivoでの抗腫瘍効果を検証した。さらに、併用した場合の免疫担当細胞に対する免疫疲弊解除および制御メカニズムも同時に解析した。一方で、申請者らはこれまでに、岡山大学グループによって同定された癌抑制・治療遺伝子REIC/Dkk-3を臨床応用しており、REIC/Dkk-3遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad-REIC)を用いた前立腺癌での臨床研究において、癌細胞のアポトーシスによる組織破壊に加え、当該腫瘍局所において長期に渡りリンパ球・樹状細胞浸潤が認められ抗腫瘍免疫が活性化することを見出している。外因性REIC/Dkk-3タンパク質が、樹状様細胞を分化誘導し、マウス生体内で抗がん免疫を賦活化させることも実証しており、REIC/Dkk-3タンパク質をアジュバントとして併用することで、難治性癌において当該治療効果を検証し、どのようなメカニズムで抗腫瘍効果を発揮しているかを検討した。

4. 研究成果

(1) メトホルミン

前立腺癌株(RM-9)をC57/BL6に皮下投与し、マウス腫瘍移植モデルを作成した。メトホルミン+aCTLA-4:day5でメトホルミンの自由飲水を開始した。未治療群、単剤群、併用群に分け、day13におけるMDSC、エフェクターT細胞を比較した。併用群において有意にMDSCの上昇を認めた。一方で、エフェクターT細胞は併用群にて増加傾向にあった。併用療法において、腫瘍の増大が抑えられていることが確認された。メトホルミンとaCTLA-4の併用においては、疲弊解除に関して相乗効果がある可能性があることが確認された。将来的には、疲弊分子の検出による解析、サイトカイン産生能、アポトーシス、疲弊分子の検出によるTILの解析を行う必要があることが明らかとなった。

(2) REIC/Dkk-3

本邦では抗PD-1抗体に続いて抗CTLA-4抗体が承認され、免疫チェックポイント阻害抗体を用

いたがん免疫治療はすでに有効な治療法の1つとして広く認識されている。現在、これら免疫チェックポイント分子阻害薬の対象となる癌腫の適応は年を追うごとに広がりを見せている。免疫チェックポイント分子阻害薬は、T細胞を活性化することで効果を発揮する。このことは抗腫瘍免疫応答の中でも、エフェクターT細胞の活性が重要であることを示唆している。近年では同治療のさらなる進展のため、バイオマーカーや他の治療との併用が注目されており、REIC/Dkk-3 遺伝子治療による抗腫瘍効果のメカニズムは、REIC 遺伝子強制発現により癌細胞特異的アポトーシスが誘導され癌抗原が放出されることと、分泌された REIC タンパク質の作用により抗原提示細胞が誘導され放出された癌抗原を T 細胞に提示し、抗原提示を受けた T 細胞が活性化され抗原特異的 CTL に分化し、抗腫瘍効果を発揮するものであった。しかし、REIC タンパク質がどうして CD8 陽性 T 細胞のエフェクターとしての機能を活性化するかは不明であったが、CD8 陽性 T 細胞に発現するケモカインレセプター X が REIC タンパク質のリガンドであることを確認していた。さらに、REIC タンパク質の刺激を受けた CD8 陽性 T 細胞がある特定の代謝制御分子機構を介してエフェクター T 細胞に分化し、抗腫瘍作用活性を亢進させることを実験により見出した。がん細胞との代謝競合や多様な免疫抑制機序によって、エフェクター機能を発揮できない免疫疲弊状態に陥っている可能性もあり、代謝制御による抗腫瘍免疫応答増強が非常に重要であり、REIC タンパク質がどのような代謝制御分子機構に基づいて抗腫瘍エフェクター T 細胞を活性化させているのかということに対する研究を推進していく必要があることが確認された。

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〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	那須 保友 (Nasu Yasutomo) (20237572)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授 (15301)	
研究分担者	荒木 元朗 (Araki Motoo) (90467746)	岡山大学・大学病院・講師 (15301)	
研究分担者	植木 英雄 (Ueki Hideo) (90537218)	岡山大学・医学部・技術専門職員 (15301)	