

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：34533
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2018～2020
課題番号：18K07305
研究課題名（和文）IL-18による免疫チェックポイントの制御とその癌免疫治療への応用

研究課題名（英文）Regulation of immune-checkpoint by IL-18 and its application to cancer immunotherapy

研究代表者
田中 稔之（TANAKA, Toshiyuki）
兵庫医療大学・薬学部・教授

研究者番号：30217054
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：IL-18は免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果を増強する。本研究では以下の成果を得た。1) IL-18の併用により誘導される活性化NK細胞がI型樹状細胞の局所への動員を通じて抗腫瘍効果の増強に重要な役割を果たすこと。2) 癌免疫治療に対する抵抗性の克服に腫瘍ネオ抗原の誘導が重要であること。および3) IL-18は抗腫瘍免疫を損なうことなく、肝臓における自己免疫性組織障害に対する保護作用を示すこと。

研究成果の学術的意義や社会的意義
免疫チェックポイント阻害薬は担癌宿主のT細胞を抑制状態から解放し、強い抗腫瘍効果を発揮する。しかし、半数以上の患者には未だ十分な腫瘍縮小効果が見られない。また、克服すべき副作用として免疫関連有害事象が残されている。現在、免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果を増強し、治療抵抗性を克服する新しい戦略の開発が強く望まれている。本邦で発見されたIL-18を、癌免疫応答を増強する医薬品として実用化することの臨床医学的な意義はきわめて大きい。

研究成果の概要（英文）：IL-18 potentiates antitumor activity of immune-checkpoint blockade. In this study, we found followings; 1) NK cells recruited cDC1 cells into tumor sites in mice treated with IL-18 + anti-PD-1 mAb. 2) Accumulation of tumor neoantigen appeared crucial to overcome resistance to immunotherapy. 3) IL-18 reduced autoimmune liver toxicity while maintaining efficacy of tumor immunotherapy.

研究分野：免疫学

キーワード：癌免疫治療 IL-18 免疫チェックポイント NK細胞 バイオマーカー

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害薬の導入により、がん免疫治療法の有効性に関する情報が飛躍的に蓄積されている。しかし、その治療効果は未だ限定的で、抗腫瘍効果を増強する新しい戦略の開発が強く望まれている。また自己免疫性機序で誘発される免疫関連有害事象 (irAE) や対費用効果の改善が克服すべき課題として残されている。免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を増強するためには、担癌宿主の免疫抑制環境を是正して、IFN- γ を基軸とする I 型免疫応答を積極的に惹起し、抗腫瘍エフェクター T 細胞の効率的な誘導とその活性を最大に発揮させる必要がある。免疫チェックポイント阻害薬は抗腫瘍免疫の誘導相と効果相に働いて治療効果を発揮することから、IFN- γ 産生を促進して I 型免疫応答を惹起できるサイトカインとの併用が有効であると考えられる。IL-18 は岡村(研究分担者)により同定された自然免疫を制御するサイトカインで、IFN- γ 産生の促進と NK 細胞、CD8⁺ キラー T 細胞および、 γ δ T 細胞の増殖を誘導して I 型免疫応答を増強する。我々はこのような特性をもつ IL-18 を免疫チェックポイント阻害薬と併用することでその治療効果を増強することを見いだした。また IL-18 は、ミトコンドリアの機能保持を通じて、正常組織の保護作用を発揮する。本研究は、このような独自の知見に基づき、本邦で発見された IL-18 を癌免疫治療へ応用することを目的として立案された。

2. 研究の目的

免疫チェックポイントは、CTLA-4 や PD-1 を中心とした抑制性受容体が発する「抑制性シグナル」による免疫応答の負の制御機構である。近年、免疫チェックポイントの阻害が担癌個体の T 細胞を抑制状態から解放して抗腫瘍免疫を強く惹起することが示され、免疫チェックポイント阻害薬である抗 CTLA4 抗体や抗 PD-1 抗体が強い抗腫瘍効果を発揮する革新的な医薬品として開発されている。しかし、免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果は強力であるものの、半数以上の患者には未だ十分な治療効果が認められず、治療に対する抵抗性や自己免疫性の組織傷害が克服すべき重要な課題として残されている。また、対費用的な観点から、免疫チェックポイント阻害薬の効果を最大化しつつ、用量を減ずる治療プロトコルの開発が望まれる。

免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果を増強するためには、癌をとりまく免疫抑制環境を是正して IFN- γ 産生を基軸とした I 型免疫反応を効率的に誘導し、抗腫瘍エフェクター細胞を積極的に腫瘍局所に動員する必要がある。また、免疫チェックポイント阻害薬が誘発する免疫関連有害事象 (irAE) を克服するためには、自己免疫性組織傷害に対する保護機構を誘導する必要がある。本研究では「IL-18 による免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果の増強機構の解明」「IL-18 と免疫チェックポイント阻害薬の併用効果を予測するバイオマーカーの探索」および「IL-18 による自己免疫性組織傷害に対する保護作用の解明」について、以下の解析を行った。

3. 研究の方法

(1) IL-18 による免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果の増強機構の解明

これまでの解析から、IL-18 により新たに誘導される特徴的な NK 様細胞は、IFN- γ 産生能が高く強い抗腫瘍活性をもつ pre-mNK 細胞と類似の表現型をもち、抗腫瘍免疫の発動に重要な役割を有することが示唆されている。そこで、pre-mNK 様細胞の役割を明らかにするために、特異抗体投与により NK 細胞を除去し、pre-mNK 様細胞の IL-18 併用療法における意義を明らかにする。また、pre-mNK 様細胞の腫瘍局所への動員やサイトカイン産生および抗原提示細胞・リンパ球との機能的な相互作用を解析し、最終エフェクターである CD8⁺ キラー T 細胞の誘導における役割を明らかにする。さらに、IL-18 併用で誘導される pre-mNK 様細胞をマウスに移入し、IL-18 と免疫チェックポイント阻害薬の併用による抗腫瘍効果増強機構の本態としての役割を明らかにする。

(2) IL-18 と免疫チェックポイント阻害薬の併用効果を予測するバイオマーカーの探索

IL-18 併用治療に対して、マウス大腸癌 CT26 は治療感受性を示すが、マウス乳癌 4T1 は抵抗性であることを経験している。そこで、IL-18 と免疫チェックポイント阻害薬の併用治療の過程で、治療に対する「感受性腫瘍」と「抵抗性腫瘍」に誘導される免疫細胞や癌細胞および癌微小環境に出現する差違を特定し、IL-18 の併用効果と相関する変化の特定を試みる。また、腫瘍細胞におけるネオ抗原の創出に関わる DNA 修復酵素群などの候補遺伝子の変異の影響などを解析し、IL-18 併用効果を予測するバイオマーカーとしての意義を追求する。

(3) IL-18 による自己免疫性組織傷害に対する保護作用の解明

予備的な解析から、IL-18 が免疫チェックポイント阻害薬による肝傷害に対して、防御的に働くことが示唆されている。そこで、IL-18 の自己免疫性組織傷害に対する保護効果を明らかにするため、IL-18 併用群と対照群における自己免疫性組織傷害の有無を、免疫組織学的な解析および血清マーカー変動(トランスアミナーゼなどの逸脱酵素)を指標に解析する。またヒトには顕著であるが、マウス系では観察が困難な免疫チェックポイント阻害薬による自己組織傷害を検出できるモデルを作製し、IL-18 による正常組織の保護作用を解析する。

4. 研究成果

(1) IL-18による免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果の増強機構の解明

マウス大腸癌細胞 CT26 を用いた腹膜播種モデルにおける IL-18 による免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果の増強機構について解析した。その結果、IL-18 併用投与により治療早期に B220 を発現する pre-NK 細胞に類似した特徴的な活性化 NK 細胞が腫瘍部位に集積し、特異抗体による NK 細胞の除去により IL-18 による抗腫瘍活性の増強作用が消失することが示された。次に抗腫瘍免疫エフェクター細胞の腫瘍組織への集積を経時的に解析した結果、活性化 NK 細胞は XCR1 を発現する I 型樹状細胞を腫瘍部位に動員し、続いて CD8⁺ T 細胞が集積することが示された。またこの連続的な過程には、活性化 NK 細胞が発現する XCL1 や動員される樹状細胞などに発現する CXCL9 および CXCL10 などのケモカインが関与することが示唆された。さらに、IL-18 投与したマウスから採取した活性化 NK 細胞をマウスに投与し、投与部位への I 型樹状細胞の集積を解析したところ、活性化 NK 細胞は、投与局所へ I 型樹状細胞を直接動員できる能力を持つことが示された。これは、活性化 NK 細胞が XCL1 などの I 型樹状細胞動員に関わるケモカインを発現することと一致した (図 1)。また、マウス大腸癌細胞 CT26 を用いた腹腔播種モデルにおいて、活性化 NK 細胞は IL-18 による免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果の増強作用を少なくとも部分的に代替できることも示された。

(2) IL-18 と免疫チェックポイント阻害薬の併用効果を予測するバイオマーカーの探索

IL-18 併用治療に対して、マウス大腸癌 CT26 は治療感受性を示すが、マウス乳癌 4T1 は抵抗性を示す。免疫チェックポイント阻害薬に対する治療感受性を規定する因子として、腫瘍細胞における免疫チェックポイント分子や腫瘍ネオ抗原の発現に加えて、制御性 T 細胞や腫瘍関連マクロファージなどの関与が示唆されているが、本研究における解析で両細胞の治療感受性を規定する因子を特定するには至らなかった。そこで、免疫チェックポイント阻害薬による抗腫瘍効果を規定する分子基盤をさらに追求することを目的とし、腫瘍細胞に発現する PD-L1 および腫瘍ネオ抗原の形成に関与する DNA 修復系に注目し、ゲノム編集法での PD-L1 および MLH1 を欠損させ、免疫応答に及ぼす影響を解析した。その結果、PD-L1 欠損と DNA 修復欠損を同時に導入した 4T1 に対して抗腫瘍免疫応答が発動することが見出され、免疫チェックポイント阻害を機軸とする癌免疫治療においても治療抵抗性腫瘍に治療感受性を賦与するためには DNA 修復阻害による腫瘍ネオ抗原の蓄積が重要であることが示唆された。

(3) IL-18 による自己免疫性組織傷害に対する保護作用の解明

マウス系においては免疫チェックポイント阻害のみでは自己免疫性組織傷害の検出が困難であった。このため、免疫チェックポイントの阻害に加えて、共刺激分子に対するアゴニスト抗体を用いて、抗腫瘍効果とともに肝臓を標的とする自己免疫性組織傷害を併発するモデルを樹立した。新たに作製した自己免疫性組織傷害モデルでは、免疫学組織学的な解析から、肝臓におけるリンパ球の浸潤と組織破壊による出血が観察され、血清中のトランスアミナーゼなどの逸脱酵素の上昇が認められる。本モデルにおいて、IL-18 は抗腫瘍効果を維持しつつ、自己免疫性肝障害を軽減し、組織学的な肝臓の傷害や血清中の逸脱酵素の上昇を抑制することが示された。

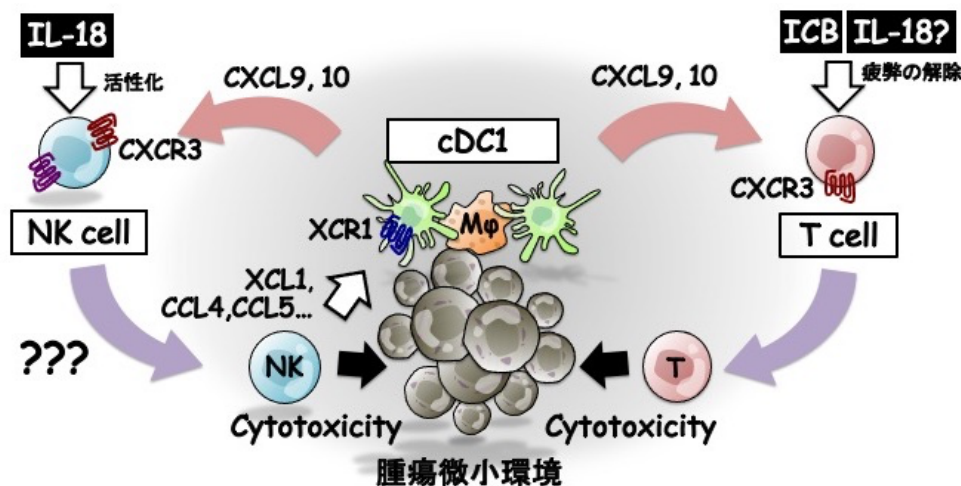


図 1 IL-18 による免疫チェックポイント阻害薬の抗腫瘍効果の増強機構

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Manabe Eri, Ito Satoyasu, Ohno Yoshiya, Tanaka Toshiyuki, Naito Yoshiro, Sasaki Naoko, Asakura Masanori, Masuyama Tohru, Ishihara Masaharu, Tsujino Takeshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Reduced lifespan of erythrocytes in Dahl/Salt sensitive rats is the cause of the renal proximal tubule damage	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 22023
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-79146-9	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 -
1. 著者名 Ito Satoyasu, Ohno Yoshiya, Tanaka Toshiyuki, Kobuchi Shuhei, Ayajiki Kazuhide, Manabe Eri, Masuyama Tohru, Jun-Ichi Sakamoto, Tsujino Takeshi	4. 巻 41
2. 論文標題 Neutrophil/lymphocyte ratio elevation in renal dysfunction is caused by distortion of leukocyte hematopoiesis in bone marrow	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Renal Failure	6. 最初と最後の頁 284 ~ 293
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/0886022X.2019.1597736	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 -
1. 著者名 Ohno Yoshiya, Shingyoku Serina, Miyake Sakina, Tanaka Aya, Fudesaka Sena, Shimizu Yuta, Yoshifuji Ai, Yamawaki Yuki, Yoshida Sachiyo, Tanaka Saya, Sakura Kazuma, Tanaka Toshiyuki	4. 巻 37
2. 論文標題 Differential regulation of the sphere formation and maintenance of cancer-initiating cells of malignant mesothelioma via CD44 and ALK4 signaling pathways	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 6357 ~ 6367
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41388-018-0405-y	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 -
1. 著者名 Hara Yuta, Torii Ryota, Ueda Shiho, Kurimoto Erina, Ueda Eri, Okura Hiroshi, Tatano Yutaka, Yagi Hideki, Ohno Yoshiya, Tanaka Toshiyuki, Masuko Kazue, Masuko Takashi	4. 巻 109
2. 論文標題 Inhibition of tumor formation and metastasis by a monoclonal antibody against lymphatic vessel endothelial hyaluronan receptor 1	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3171 ~ 3182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13755	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 -

[学会発表] 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 大野喜也、新玉紗理奈、三宅咲奈、田中亜弥、筆坂世奈、清水雄太、吉藤愛、山脇優輝、佐倉千萬、田中稔之
2. 発表標題 Activin-AシグナルとCD44シグナルによる悪性中皮腫癌幹細胞の制御機構
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ohno Y, Okamura H, Tanaka T.
2. 発表標題 Anti-tumor immune cell dynamics during immunotherapy with anti-PD-1 antibody and IL-18.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大野喜也、西村嘉泰、河野真己、加戸祥揮、有本奈緒子、岡村春樹、田中稔之
2. 発表標題 IL-18と抗PD-1抗体が誘導する抗腫瘍免疫における免疫細胞動態
3. 学会等名 第22回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大野喜也、西村嘉泰、河野真己、加戸祥揮、有本奈緒子、岡村春樹、田中稔之
2. 発表標題 IL-18と免疫チェックポイント阻害薬によって誘導される抗腫瘍免疫における免疫細胞のダイナミクス
3. 学会等名 第27回日本がん転移学会学術集会・総会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 熊ノ郷 淳、田中 稔之、加納 規資、織 大祐、河合 太郎、松本 功、渡辺 充、岡田 正人、西出 真之、目黒 和行、中島 裕史、岩部 真人、山内 敏正、岩部 美紀、門脇 孝、福原 淳範、下村 伊一郎、佐藤 正大、西岡 安彦、武田 吉人	4. 発行年 2019年
2. 出版社 南山堂	5. 総ページ数 252
3. 書名 免疫・炎症病態×治療Update	

1. 著者名 本間 研一、大森治紀、大橋俊夫、河合康明、黒澤美枝子、鯉淵典之、伊佐 正、田中稔之	4. 発行年 2019年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 1172
3. 書名 標準生理学 第9版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

薬学部大野喜也助教・田中稔之薬学部長らの研究成果が医学雑誌「Oncogene」誌に掲載
<https://www.huhs.ac.jp/12520>

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	大野 喜也 (OHNO Yoshiya) (40509155)	兵庫医療大学・薬学部・講師 (34533)	

6. 研究組織（つづき）

	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	岡村 春樹 (OKAMURA Haruki) (60111043)	兵庫医科大学・医学部・教授 (34519)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関