

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15327

研究課題名(和文) 隠蔽自己抗原を用いた新規がん免疫療法の開発

研究課題名(英文) Development of new cancer immunotherapy using cryptic-self peptides

研究代表者

高木 理英 (TAKAGI, Rie)

埼玉医科大学・医学部・助手

研究者番号：00569080

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ロドデノールを用いた本研究(免疫療法)において、腫瘍の「予防的効果」は確認しているものの、「治療効果」については複数回の実験を行っても確認する事は出来なかった。そこで腫瘍の微小環境を確認すべく組織学的に検討した結果、その主要炎症細胞は好中球であった。我々はドーパミンD1様受容体アンタゴニストならびにD2様受容体アゴニストが、Th17細胞の分化・活性化を抑制することにより好中球性炎症を抑制することを明らかにしており、この事を鑑みて今回薬剤Xを用いた実験を行ったところ動物実験において腫瘍に特徴的である血管の増殖(腫瘍血管新生)や腫瘍内および腫瘍の周囲への細胞集積を薬剤X群が抑制する事を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

好酸球性炎症の特効薬としてはコルチコステロイドが知られている一方で、好中球性炎症に対する低分子特効薬は未だに知られていない。Th17に起因した好中球性炎症は、自己免疫性好中球性炎症、および非自己免疫性好中球性炎症など多岐に渡るが、ドーパミン受容体アンタゴニスト/アゴニストの関与によって自己免疫性の脳脊髄炎、好中球性気道炎症、糖尿病における炎症反応などが抑制され病態が改善する事は公知の事実である。疾患の枠を超え、メラノーマのみならずあらゆる腫瘍においてもこのシステムが有効であるならば医学医療に与える影響は大である。

研究成果の概要(英文)：In this study using rhododenol, the "preventive effect" of the tumor was confirmed, but the "therapeutic effect" could not be confirmed even after multiple experiments. Therefore, as a result of histological examination to confirm the microenvironment of the tumor, the main inflammatory cells were neutrophils. In our previous studies, we clarified that dopamine D1-like receptor antagonists and D2-like receptor agonists suppress neutrophilic inflammation by suppressing the differentiation and activation of Th17 cells. When experiments using X were performed, it was confirmed in animal experiments that the drug X group suppressed the growth of blood vessels (tumor angiogenesis) and cell accumulation in and around the tumor, which are characteristic of tumors.

研究分野：腫瘍学

キーワード：隠蔽自己抗原ペプチド チロシナーゼ メラノーマ D1様受容体アンタゴニスト D2様受容体アゴニスト

1. 研究開始当初の背景

ロドデノールは皮膚の白斑症を誘発するため社会的問題になった。ロドデノールはチロシナーゼと結合しその働きを抑制するだけでなくヒドロキシロドデノール(ロドデノール自体より有毒)に変化しメラノサイトのアポトーシスを誘発するという報告がされたが、このアポトーシス誘導に必要なロドデノールの濃度は実際の皮膚局所で生じうる濃度の100倍以上と推測されていたり、さらに化粧品利用者のわずか2%しか影響を受けていない事や免疫抑制剤(例えばタクロリムス)がロドデノール誘発性白斑に効果がある事など、当初考えられていた機序だけでは白斑症発症を説明することは難しかった。結合する基質の構造によっては酵素のコンフォメーションが変化することがあり、これによってプロテアーゼのアクセシビリティも変化し得る。そこで我々は、ロドデノールはチロシナーゼと結合する事により生理的には存在しないチロシナーゼ由来ペプチド断片(免疫学的非自己)を産生させ、T細胞の活性化が起こったという作業仮説のもと研究を行った。

隠蔽自己抗原ペプチドの基礎的見地となる発見は、1994年にその分子機構を明らかにした自己免疫病(インスリン自己免疫症候群)を端緒とする。インスリン分子はS-S結合が3箇所存在するペプチドダイマーだが、ここにバセドウ病の治療に用いられるメチマゾールのような還元剤が作用すると一部のS-S結合が切断されて、鎖のモノマーが出現する。この分子はHLA-DRB1*04:06に高親和性で結合する構造モチーフを持っているため、生理的には存在しないHLA-ペプチド複合体が多数出現する。生体はこれを「免疫学的非自己」と勘違いしてT細胞を活性化し、インスリンに対する抗体が産生されて低血糖のような症状を引き起す。

我々はロドデノール誘発性白斑症がインスリン自己免疫症候群と同様「隠蔽自己抗原ペプチド」を介した自己免疫病であることおよびHLA-DR4が遺伝要因であることを明らかにした。さらにこのような免疫応答がロドデノールで誘発されるのであれば、ロドデノールはメラノーマに対する抗腫瘍免疫応答を誘導できるはずであると考えた。

2. 研究の目的

メラノーマに対する抗原特異的免疫応答誘導による免疫療法の主流はペプチド療法である。特定のペプチドを投与することにより、そのペプチドに特異的な免疫応答を誘導することができるが、同時にこれは抗原提示分子を限定する(HLA対立遺伝子産物を限定する)ことになる。それに対して、ロドデノールを用いたメラノーマの免疫療法においては、特定のペプチドに限定されることはなく、抗原提示分子のスペクトルが広がる。

本研究が成功した場合には、メラノーマに限定せず、様々な腫瘍における既知の腫瘍抗原蛋白に結合する低分子のスクリーニングシステム(チロシナーゼとロドデノールのような関係をハイスループットで同定するシステム)の有用性が証明される。これにより、現在世界中で進行中のがんのペプチド療法の開発に代わる、「次世代のがん免疫療法の確立」という卓越した成果が期待できる。最近話題になっているPD-1シグナル阻害によるメラノーマ治療は抗原非特異的な抑制機構の阻害であるが、本治療は抗原特異的応答の促進であるため、相乗効果が期待できる。

3. 研究の方法

- 1) ロドデノール誘発性白斑研究において用いたチロシナーゼ由来のペプチド(ヒト)と同様に、対応するマウスチロシナーゼペプチドおよび、すでに報告されているマウスチロシナーゼ由来のT細胞エピトープペプチド合成を検討した。
- 2) マウスにメラノーマを移植して腫瘍塊が成長したあと、ロドデノール処理 X 線照射B16細胞を免疫し続けると治療効果があるかどうかを検討した。
- 3) マウスのメラノーマ移植局所にロドデノールを塗布/皮下注した場合にも腫瘍抑制効果があるか否かを検討した。
- 4) 化合物とチロシナーゼ蛋白を結合させた後、Native PAGE(電気泳動)し高次構造の変化が推測される化合物を検討した。
- 5) ヒト由来のメラノーマ細胞を用いた研究(病院 IRB で承認済み)を検討した。

4. 研究成果

チロシナーゼ由来のペプチド(ヒト)に対応するマウスチロシナーゼ、およびマウスチロシナーゼ由来のT細胞エピトープの合成はヒトとマウスでは類似するペプチドの配列が少なく、我々がヒトで行った実験をマウスを用いて行う事は不可能であった。また、チロシナーゼタンパクの高次構造変化を確認するためのNative PAGEでは「熱処理」「ロドデノール処理」に加えて「エタノール処理」等、複数の薬剤の検討を行ったが目的のタンパク質の高次構造変化の違いを確認する事は出来なかった。さらに、ヒト細胞を用いた研究(病院 IRB で承認済み)についても検討し、外来で切除した足の裏のメラノーマから細胞分離を試みたが、培養に持ち込むためには細胞精製方法など、さらに検討が必要である。

ロドデノールを用いた本研究において「予防的効果」は確認出来ているものの、メラノーマを移植して腫瘍塊が成長した後に「ロドデノール処理X線照射B16細胞」もしくは「ロドデノール」を複数回免疫し続けた際の「治療効果」については、複数回の実験を行っても効果を確認する事は出来なかった。そこで、C57/BL6Jマウスを用いて細胞周辺の微小環境を組織学的に確認すべく、種々の条件下でメラノーマ細胞を移植し、薬剤治療効果を検証した。採取したがん組織周囲の組織を病理組織標本作製して確認したところ、腫瘍内への炎症細胞浸潤のみならず真皮への細胞浸潤とその表皮内への浸潤を確認した。その主要炎症細胞はリンパ球・好中球・好酸球であると考えられるが、我々は過去の研究により、ドーパミンD1様受容体アンタゴニストならびにD2様受容体アゴニストがTh17細胞の分化、活性化を抑制することにより好中球性炎症を抑制することを明らかにしており、この事を鑑みて薬剤Xを用いた実験を行ったところ、薬剤Xを用いた動物実験において腫瘍に特徴的である血管の増殖(腫瘍血管新生)や腫瘍内および腫瘍の周囲への細胞集積を薬剤X群が抑制する事が確認できた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 高木 理英、松下 祥	4. 巻 10月号
2. 論文標題 ロドデノールによって誘発された白斑発症のメカニズムと今後の化粧品開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 COSMETIC STAGE	6. 最初と最後の頁 54-58
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 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計0件

〔取得〕 計1件

産業財産権の名称 免疫応答を誘導するための薬剤	発明者 松下 祥	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特許第6432114号	取得年 2018年	国内・外国の別 国内

〔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

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