

令和 3 年 5 月 8 日現在

機関番号：32665

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16813

研究課題名(和文) 子宮頸癌特異的のステムセルメモリーT細胞の同定と選択的増殖による新規免疫療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel immunotherapy by identification and proliferation of cervical cancer-specific stem cell memory T cells

研究代表者

加藤 侑希 (KATOH, Yuki)

日本大学・医学部・助教

研究者番号：60733649

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：最近発見された、新たなT細胞サブセットであるStem cell memory T(Tscm)細胞は、既知のメモリーT細胞より未感作で長命、且つ、抗原刺激にตอบสนองして急速に増殖し、多数のエフェクターT細胞を産生することから、がん免疫療法への応用が期待されている。我々は、腫瘍抗原特異的なCD8陽性Tscmの増殖、およびエフェクターT細胞への分化メカニズムを解析した。更に、腫瘍抗原特異的なCD8陽性Tscmの増殖を増強する複数の候補薬剤を同定し、それら薬剤が、担癌マウスモデルにおいて、抗PD-1抗体の治療効果を増強することも明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Tscm細胞の発生・増殖・分化のメカニズムは未だ不明な点が多いことから、本研究により得られた知見は、その理解に役立つものと考えている。さらに、抗PD-1抗体などの免疫チェックポイント阻害薬単独での奏効率は、効果を示すががん種においても20%程度であり、不応例に対する併用療法の開発が重要な課題となっているが、我々の同定した標的分子の阻害剤を併用することにより、より効果的な複合がん免疫療法の提供が可能となる。

研究成果の概要(英文)：Stem cell memory T (Tscm) cells are a novel subset of memory T cells. Compared with other memory T cells (e.g., central memory/ effector memory T cell), Tscm cells are less sensitive, long-lived, and proliferate quickly in response to antigenic stimulation to produce large numbers of effector T cells, which is expected to be applied to cancer immunotherapy. We investigated the mechanism of tumor antigen-specific CD8+ Tscm cells proliferation and the differentiation into effector T cells. Furthermore, we evaluated several candidates that might promote the proliferation of antigen-specific CD8+ Tscm cells, and found that these drugs enhanced the therapeutic effect of anti-PD-1 antibody in a tumor-bearing mouse model.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：ステムセルメモリーT細胞 免疫チェックポイント阻害薬 抗PD-1抗体療法

1. 研究開始当初の背景

メモリーT細胞には、細胞表面マーカーにより、主に血中や末梢組織に存在するエフェクターメモリーT細胞と、リンパ節内に存在するセントラルメモリーT細胞の、2つの集団が存在することが知られていた。このメモリーT細胞の中に、近年、最もナイーブT細胞に近い未感作のメモリーT細胞が存在することが明らかとなり、その細胞集団は、ステムセルメモリーT細胞(T_{SCM})と名付けられた(Gattinoni et al. *Nat Med*, 2009, 2011)。T_{SCM}細胞は、既知のメモリーT細胞より未感作で長命、且つ、抗原刺激に応答して急速に増殖し、多数のエフェクターT細胞を産生することから、がん免疫療法への応用が期待されていた。

2. 研究の目的

申請者は、上述の背景から、腫瘍抗原特異的なCD8陽性T_{SCM}細胞を選択的に増殖できれば、抗腫瘍能を有するエフェクターT細胞を効率よく増殖でき、結果として、免疫チェックポイント阻害薬(抗PD-1/PD-L1抗体)の奏効率を改善できると考えた。そこで本研究では、まだ明らかになっていない、T_{SCM}細胞の分化・増殖のメカニズムを解明し、その機序に基づき、所属リンパ節、あるいは腫瘍組織内でT_{SCM}細胞の増殖を誘導する薬剤のスクリーニングを行うことを目的とする。最終的には、同定した薬剤とがん免疫療法(免疫チェックポイント阻害薬やCAR-T細胞療法)の併用臨床試験を行うための基盤を構築したい。

3. 研究の方法

T_{SCM}細胞は、CD44^{low}, CD62L^{high}, Sca-1^{high}のフェノタイプを有する細胞であると報告されている(Gattinoni et al. *Nat Med* 2009)。本研究では、人工抗原(SIY)を導入したマウスがん細胞株(Braf-SIY)を移植した担癌マウスモデルを用いて、どこの組織(脾臓、リンパ節、腫瘍内)に、どのタイミング(腫瘍移植後日数)で、最も腫瘍抗原特異的なCD8陽性T_{SCM}細胞が高発現となるのか評価した。また、腫瘍を移植したGFPマウスのリンパ節、あるいは、腫瘍から単離したナイーブT細胞、および、各種メモリーT細胞を野生型担癌マウスに移植し、CD8陽性T_{SCM}細胞の分化・増殖の機序の検討を行った。

続いて、腫瘍抗原特異的なCD8陽性T_{SCM}細胞の発現を増強する薬剤のスクリーニングをin vivoでおこなった。さらに、効果が確認された薬剤に関しては、抗PD-1抗体との併用効果の評価を行った。

4. 研究成果

予備実験より、腫瘍抗原特異的なCD8陽性T_{SCM}細胞は、非常に数の少ない細胞集団(CD8T細胞1万個に2~3細胞程度)であることが示唆されていたため、まずは、担癌マウスモデルにおいて、高頻度に腫瘍抗原特異的なCD8陽性T_{SCM}細胞を検出するための実験系の構築を行った。その結果、腫瘍移植後8日後の所属リンパ節において、腫瘍抗原特異的なCD8陽性T_{SCM}細胞が高発現していることが明らかとなった。

続いて、所属研究室が保有する薬剤ライブラリーを用いて、CD8陽性T_{SCM}細胞の増殖を誘導する薬剤のスクリーニングを行った。その結果、分子Xの阻害剤投与により、所属リンパ節および腫瘍内において、著明にCD8陽性T_{SCM}細胞が増加することが明らかとなった(図1)。しかしながら、興味深いことに、T_{SCM}細胞には、分子Xの発現が殆どないことも分かった。T_{SCM}細胞以外のメモリーT細胞、およびエフェクターT細胞には分子Xの発現が認められたことから、それら細胞が放出するサイトカインやケモカインなどの作用により、間接的にCD8陽性T_{SCM}細胞の増殖を誘導している可能性が示唆された。

次に我々は、分子X阻害剤が、CD8陽性T_{SCM}細胞の増殖を機序の一つとして、抗PD-1抗体の治療

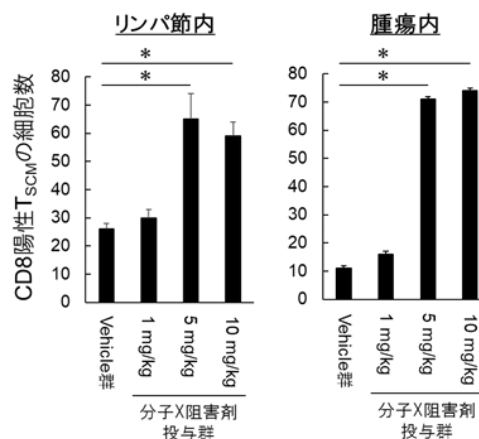


図1, Braf-SIYを移植した担癌マウスに分子X阻害剤を投与し、8日後の、リンパ節および腫瘍内のCD8陽性T細胞1 x 10⁵個中の腫瘍抗原特異的T_{SCM}細胞の数を評価した。分子X阻害剤投与により、T_{SCM}細胞が著明に増加した。P<0.01

効果を増強しうるかを、担癌マウスモデルで評価した。その結果、相乗的な抗腫瘍効果が認められ、抗 PD-1 抗体単独治療ではほとんど効果がないがん種においても、完全に腫瘍が消失する例も確認できた(図 2)。

今後は、CD8 陽性 T_{SCM} 細胞が増殖する機序の更なる解析を行い、我々が同定した分子 X 阻害剤とがん免疫療法(免疫チェックポイント阻害薬や CAR-T 細胞療法)の併用臨床試験の実施を目指したい。

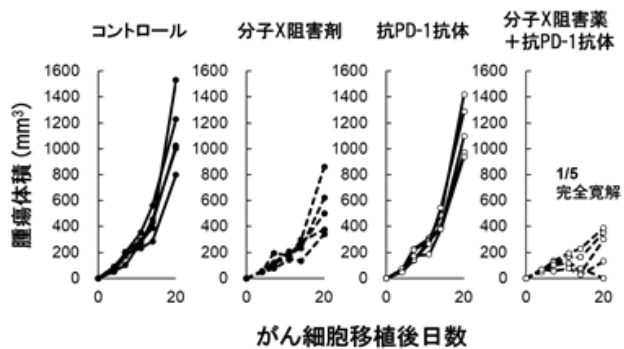


図 2, 担癌マウスモデルで分子 X 阻害剤と抗 PD-1 抗体の併用効果を評価した。両剤併用群では、著明な腫瘍の退縮が認められた。P<0.01

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 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kato D, Yaguchi T, Iwata T, Katoh Y, Morii K, Tsubota K, Takise Y, Tamiya M, Kamada H, Akiba H, Tsumoto K, Serada S, Naka T, Nishimura R, Nakagawa T, Kawakami Y.	4. 巻 9
2. 論文標題 GPC1 specific CAR-T cells eradicate established solid tumor without adverse effects and synergize with anti-PD-1 Ab.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Elife.	6. 最初と最後の頁 e49392
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7554/eLife.49392.	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 Hirao N, Iwata T, Tanaka K, Nishio H, Nakamura M, Morisada T, Morii K, Maruyama N, Katoh Y, Yaguchi T, Ohta S, Kukimoto I, Aoki D, Kawakami Y.	4. 巻 155(2)
2. 論文標題 Transcription factor homeobox D9 is involved in the malignant phenotype of cervical cancer through direct binding to the human papillomavirus oncogene promoter.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Gynecol Oncol.	6. 最初と最後の頁 340-348
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygyno.2019.08.026.	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 Akiko, Iwata Takashi, Katoh Yuki, Taniguchi Shiho, Tanaka Kohsei, Nishio Hiroshi, Nakamura Masaru, Morisada Tohru, Chen Guanliang, Saito Miyuki, Yaguchi Tomonori, Kawakami Yutaka, Aoki Daisuke	4. 巻 159
2. 論文標題 Tumor-infiltrating lymphocytes predict survival outcomes in patients with cervical cancer treated with concurrent chemoradiotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gynecologic Oncology	6. 最初と最後の頁 329 ~ 334
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ygyno.2020.07.106	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 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yutaka Kawakami, Yuki Katoh, Tomonori Yaguchi
2. 発表標題 Enhancement of anti-tumor effects of PD-1/PD-L1 inhibitors by modulation of signaling and metabolism in tumor microenvironment.
3. 学会等名 The 48th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 加藤侑希, 岩田卓, 今川遼太郎, 谷口智慧, 河上裕
2. 発表標題 脂肪酸不飽和化酵素Stearoyl-CoA desaturase-1 (SCD-1)の阻害は抗腫瘍免疫応答を増強させ、抗PD-1抗体の効果を増強する
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 村山直之, 岩田卓, 堀江和史, 村上諒典, 加藤侑希, 斎藤深雪, 飯島朋子, 田中恒成, 西尾浩, 仲村勝, 林茂徳, 森定徹, 青木大輔
2. 発表標題 CIN2病変部のCD4陽性細胞の浸潤密度およびP16発現率はCIN2の予後予測に有用である
3. 学会等名 第61回日本婦人科腫瘍学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 T. Iwata, H. Nishio, K. Tanaka, M. Nakamura, T. Morisada, G. Chen, Y. Katoh, D. Aoki
2. 発表標題 Tumor-infiltrating lymphocytes predict survival outcomes in patients with cervical cancer treated with concurrent chemoradiotherapy
3. 学会等名 SGO 2021 Annual Meeting on Women's Cancer (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 癌患者への癌免疫療法を含む癌治療法の適応の有効性を判定するマーカー及びその使用	発明者 谷口智慧、加藤侑希、久保亜紀子、河上裕	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2019-106533	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------	---------