

令和 2 年 6 月 30 日現在

機関番号：32620

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2018～2019

課題番号：18K19483

研究課題名(和文)抗腫瘍免疫による癌増殖制御における癌微小環境の変化の解析

研究課題名(英文) Analysis of cancer microenvironment under the growth control by anti-tumor immune response

研究代表者

竹田 和由 (TAKEDA, Kazuyoshi)

順天堂大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80272821

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：癌の進展・退縮および転移には、癌組織内の種々の細胞により構成される癌微小環境や免疫環境の変化が深く関与する。本申請研究は、癌の進展・退縮および転移に伴い変化する癌組織の生体反応の解明を目的とし、その実態を明らかにすることで、癌を拒絶へと導く革新的な治療法を開発することを最終目標とする。本申請研究により、1) 転移臓器の肺で産生されるIL-23は、IFN- γ を産生するNK細胞の誘導を阻害することで肺転移を増強していること、2) 癌組織内では癌細胞を傷害するCD8T細胞に活性を阻害するPD-1, TIGIT, CD96が発現し、これらを戦略的に抑制する治療が有効な抗腫瘍免疫療法となることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌細胞と宿主細胞の網羅的遺伝子発現とクロストークの解析により、癌増殖と拒絶の場である癌組織内の総合的な生体反応を定量的かつ網羅的に明らかにする。これにより癌増殖の理解に新たな視点を与え、革新的な治療法の開発につながると考えられる。さらに、本申請研究に得られるマウス癌モデルでの網羅的遺伝子解析情報は、現在世界中で行われているヒトサンプルを用いた網羅的遺伝子解析の結果を理解する助けとなると共に、より早く革新的な治療ターゲットを提言する手助けとなるものと期待される。

研究成果の概要(英文)：Cancer microenvironment, including immune environment, are composed of various cells and deeply involved in the progression, regression, and metastasis of cancer. The purpose of this study is to elucidate the biological reactions in cancer tissues changing with the progression, regression, and metastasis of the cancer. And, the ultimate goal is to develop innovative treatments that lead to the rejection of cancer by clarifying the biological condition of cancer tissue. In this study, I have reported the following findings. 1) IL-23 produced in metastatic lungs augments lung metastasis by inhibition of IFN- γ -producing NK cell induction. 2) PD-1, TIGIT, and CD96, that inhibit the immune activity, were expressed on cytotoxic CD8 T cells in cancer tissues. And, strategic suppression of these molecule-mediate signals is an effective antitumor immunotherapy.

研究分野：免疫学

キーワード：IL-23p19 IL-23レセプター 肺転移 NK細胞 IFN- γ CD96 CD8T細胞 PD-1

1. 研究開始当初の背景

申請者は、細胞死を誘導する TRAIL (TNF 関連アポトーシス誘導リガンド) に関して、発癌や転移に対する免疫学的監視機構であることと、細胞死の誘導と免疫活性化の併用が化学発癌により誘導された癌をも完全に拒絶しうる強力な免疫的治療法であることを報告し (Nature Med. 2001:7:94-100, J. Exp. Med. 2002:195:161-169, 2001:193:661-670, Nature Med. 2006:12:693-698)、その後、免疫チェックポイントの解除による癌組織内の免疫環境の改善が癌拒絶に重要であることを報告した (J. Immunol. 2010:184:5493-5501)。しかし、それでも癌の拒絶率は 100%には至らず、それが癌微小環境において癌特異的 CTL の産生する IFN- γ に応答した癌細胞の染色体の不安定性の増強に起因することを報告した (cancer genome immunoediting) (Nature Comm. 2017:8:14607)。さらに、平成 27~28 年度の挑戦的萌芽的研究で、遺伝子発現の網羅的・定量的解析を行い、T 細胞の活性化による免疫治療により癌組織に浸潤する B 細胞の特異性が変化することを見出すとともに、癌の増殖と退縮に伴い癌微小環境に存在する免疫細胞以外の細胞にも多くの遺伝子の発現変化が起こることを確認した。これらの研究により申請者は、癌増殖と抗腫瘍免疫反応に癌組織を形成する多くの細胞が反応することで癌微小環境は常に変化し、この微小環境の変化が癌の増殖か拒絶かを決定する重要な要因であり、これを標的とすることが新たな効果的な癌治療法となることに気づいた。

2. 研究の目的

癌は自らの増殖能のみに依存して増大するのではない。抗腫瘍免疫反応を回避しつつ、増殖に適した環境を形成すべく種々の間質細胞や免疫細胞を変化させ、初めて生体内での増殖が可能となる。また、免疫による癌の拒絶においても、癌微小環境を形成する種々の細胞の変化による免疫環境の変化が重要である。従って、癌の進展と退縮には間質細胞のコンディショニングが深く関与する。本申請研究では、この癌の増殖と退縮に伴い変化する癌組織内の生体反応の解明を目的とする。これまでの癌研究は、癌細胞・癌間質細胞・抗腫瘍免疫反応等、独立して行われてきたが、これを統合的に解析し相互作用を解明することで、癌組織の実態を明らかにし、癌を拒絶へと導く革新的な治療法を開発することを最終目標とする。

3. 研究の方法

癌抗原を発現しながら増殖し、抗腫瘍免疫治療により増殖抑制される 4T1-HA 癌細胞を移植した後に、免疫チェックポイント阻害抗体 (抗 CTLA4 抗体や抗 PD-L1/PD-1 抗体) や申請者の樹立した trimAb による免疫治療を施し、増殖、退縮、再増殖の過程で経時的に癌組織を採取する。この癌組織から、各細胞の細胞表面マーカーにより、4T1-HA 癌細胞、リンパ球、血管内皮細胞および癌関連線維芽細胞を分離し、それぞれから遺伝子を抽出する。抽出した遺伝子 (RNA) を用いて、各細胞における遺伝子発現の変化を定量的かつ網羅的に解析し、癌の進展、免疫療法の効果発現、免疫抵抗性を獲得しての再増殖と、経時的に発現変化が起きる分子を探索する。癌増殖との相関が示唆された分子について、順次、免疫染色等による発現変化の確認を行う。また、それぞれの細胞での遺伝子発現の変化から、細胞間の変化を関連づける液性因子や細胞表面機能分子、その変化を誘導したシグナル経路を探索する。また、遺伝子操作マウスを用いた実験により、その分子機構の意義を検証する。並行して他の癌実験モデルを用いて、見出した分子の癌増殖や抗腫瘍免疫反応における重要性を確認し、その分子により引き起こされる反応が癌の増殖・転移・退縮または悪性度の増強に関与するメカニズムを明らかにする。

4. 研究成果

本課題研究により、肺転移巣の微小環境で IL-23 が産生されること、固形癌に浸潤する癌特異的 CD8T 細胞に CD96 の発現が経時的に増強することを見出し、その知見に基づく研究を進め主に以下の報告を行った。

1) 抗腫瘍免疫を抑制する IL-23 の作用機序を、IL-23 または IL-23 レセプターの阻害により解析した。IL-23 レセプターノックアウトマウスでは、IL-23 ノックアウトマウスより強い肺転移の抑制が見られた。同様に IL-23 レセプターの阻害抗体の投与は、IL-23 の中和抗体の投与よりも強い高転移作用を示し、これは IFN- γ を産生する NK 細胞の増加によるもので、CD8T 細胞や CD4T 細胞、活性化 Fc レセプター、IL-12 には非依存的であった。従って、IL-23 は転移臓器である肺において IFN- γ を産生する NK 細胞の誘導を阻害することで、癌の肺転移を増強しているものと考えられる。

2) CD96 は NK 細胞の活性を抑制し抗転移作用を抑制することが知られている。ヒトでもマウスでも固形癌に浸潤した CD8T 細胞は PD-1 と CD96 を同時に発現しており、アンタゴニスティック抗 CD96 抗体の投与は、Fc 部位による効果に依存せずに CD8T 細胞依存的に抗腫瘍効果を発揮した。この抗 CD96 抗体による抗腫瘍効果は、Batf3 陽性の樹状細胞、IL-12 および IFN- γ に依存的であった。さらに、抗 PD-1 抗体、抗 CTLA-4 抗体、抗 TIGIT 抗体の様な immune checkpoint blocking 抗体との 2 抗体併用療法は、より強い抗腫瘍効果を発揮した。特に抗 PD-1 抗体および抗 TIGIT 抗体との 3 抗体併用療法は、CD8T 細胞および IFN- γ 依存的に非常に強力な抗腫瘍効果を示した。これらの結果は、癌組織内では癌細胞を傷害する CD8T 細胞に対して活性を阻害する抑制系が幾重にも誘導されており、癌組織内において免疫抑制系を体系づけられた戦略的な治療により解除することが有効な抗腫瘍免疫療法となることを示唆している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Takeda, K., Kitaura, K., Suzuki, R., Owada, Y., Muto, S., Okabe, N., Hasegawa, T., Osugi, J., Hoshino, M., Tsunoda, T., Okumura, K., and Suzuki, H.	4. 巻 67
2. 論文標題 Quantitative T cell repertoire analysis of peripheral blood mononuclear cells from lung cancer patients following long-term cancer peptide vaccination.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Immunol. Immunother.	6. 最初と最後の頁 946-964
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00262-018-2152-x.	査読の有無 有
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 -
1. 著者名 Li, X. Y., Das, I., Lepletier, A., Addala, V., Bald, T., Stannard, K., Barkauskas, D, Liu, J., Aguilera A. R., Takeda, K., Braun, M., Nakamura, K., Jacquelin, S., Steven W. Lane, S. W., Teng, M. W. L., Dougal, W. C., and Smyth, M. J.	4. 巻 128
2. 論文標題 CD155 loss enhances tumor suppression via combined host and tumor-intrinsic mechanisms.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Clin. Invest.	6. 最初と最後の頁 2613-2625
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1172/JCI98769.	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Yan, J., Allen, S., Vijayan, D., Li, X. Y., Harjunpaa, H., Takeda, K., Liu, J., Cua, D. J., Smyth, M. J., and Teng, M. W. L.	4. 巻 6
2. 論文標題 Experimental lung metastases in mice are more effectively inhibited by blockade of IL-23R than IL-23.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Immunol. Res.	6. 最初と最後の頁 978-987
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/2326-6066.CIR-18-0011.	査読の有無 有
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 該当する
1. 著者名 Mittal, D., Lepletier, A., Madore, J., Aguilera, A. R., Stannard, K., Blake, S. J., Whitehall, V. J. L., Liu, C., Bettington, M. L., Takeda, K, Long, G. V., Scolyer, R. A., Lan, R., Siemers, N., Korman, A., Teng, M. W. L., Johnston, R. J., Dougal, W. C., and Smyth, M. J.	4. 巻 7
2. 論文標題 CD96 is immune checkpoint that regulated CD8+ T-cell antitumor function.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Immunol Res.	6. 最初と最後の頁 559-571
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 0.1158/2326-6066.CIR-18-0637.	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 Matsumura, Y., Ito, Y., Mezawa, Y., Sulidan, K., Daigo, Y., Hiraga, T., Mogushi, K., Wali, N., Polanska, U., Suzuki, H., Itoh, T., Miyagi, Y., Yokose, T., Shimizu, S., Takano, A., Terao, Y., Saeki, H., Ozawa, M., Abe, M., Takeda, S., Okumura, K., Habu, S., Hino, O., Takeda, K., Hamada, M., and Orimo, A.	4. 巻 2
2. 論文標題 Stromal fibroblasts induce metastatic tumor cell clusters via epithelial-mesenchymal plasticity.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Life Sci. Alliance	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.26508/lsa.201900425	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 Kojima, Y., Nishina, T., Nakano, H., Okumura, K., and Takeda, K.	4. 巻 19
2. 論文標題 Inhibition of Importin 1 Augments the Anticancer Effect of Agonistic Anti-Death Receptor 5 Antibody in TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand-Resistant Tumor Cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Mol. Cancer Ther.	6. 最初と最後の頁 1123-1133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1535-7163.MCT-19-0597	査読の有無 有
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 -

1. 著者名 Yasuda, T., Nishiki, K., Hiraki, Y., Kato, H., Iwama, M., Shiraishi, O., Yasuda, A., Shinkai, M., Kimura, Y., Sukegawa, Y., Chiba, Y., Imano, M., Takeda, K., Satou, T., Shiozaki, H., and Nakamura, Y.	4. 巻 -
2. 論文標題 Phase II adjuvant cancer-specific vaccine therapy for esophageal cancer patients curatively resected after preoperative therapy with pathologically positive nodes; possible significance of tumor immune microenvironment in its clinical effects.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 -
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6件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 川鍋 (松田) 啓誠、中村真梨枝、竹田和由、狩野宏、奥村康
2. 発表標題 大腸癌モデルにおいてL.bulgaricus OLL1073R-1の菌体外多糖がもたらすCTLA-4阻害治療の効果増強と腫瘍浸潤T細胞解析
3. 学会等名 第32回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 折茂彰、伊藤恭彦、目澤義弘、Kaidiliavi Sulidan、醍醐弥太郎、Nadia Wali、樋野興夫、竹田和由、浜田道昭、松村優子
2. 発表標題 CAFs induce formation of metastatic human breast tumor cell clusters with partial epithelial-mesenchymal transition
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 伊藤恭彦、松村優子、目澤義弘、ソリタン カディア、ワリ ナディラ、寺尾保久、竹田省、奥村康、竹田和由、樋野興夫、折茂彰
2. 発表標題 Activation of Src signaling mediates carcinoma-associated fibroblast-promoted metastasis in human breast cancers
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 鈴木正敏、竹田和由、Shek, P. N.、Shephard, R. J.、奥村康
2. 発表標題 Mobilization and Fcg-Receptor Expression of Six Cell Subsets, During and After Acute Exercise.
3. 学会等名 American College of Sports Medicine the 66th Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 折茂彰、伊藤恭彦、目澤義弘、醍醐弥太郎、樋野興夫、竹田和由、浜田道昭、松村優子
2. 発表標題 CAF-induced partial epithelial-mesenchymal transition mediated formation of metastatic human breast cancer clusters.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小島裕子、仁科隆史、中野裕康、奥村康、竹田和由
2. 発表標題 Importin 1 inhibition augments anticancer effect of anti-DR5 agonistic antibody in TRAIL resistant tumor cells.
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔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
連携研究者	鈴木 隆二 (SUZUKI Ryuji) (70373470)	独立行政法人国立病院機構（相模原病院臨床研究センター）・診断・治療研究室・室長 (82710)	高度網羅的遺伝子解析の実施