

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03804

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント阻害剤における共刺激分子遺伝子導入および放射線治療の併用効果

研究課題名(英文) Combined effects of co-stimulatory molecule gene transfer and radiotherapy on immune checkpoint inhibitors

研究代表者

丹生 健一 (Ken-ichi, Nibu)

神戸大学・医学研究科・教授

研究者番号：20251283

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々はこれまでの研究において、B7分子(CD80)の遺伝子をマウス扁平上皮癌モデルに導入し、腫瘍特異的CTLが効率的に増幅され、B7分子(CD80)を発現した腫瘍細胞のみならず、導入されていない腫瘍細胞にも増殖抑制効果を示すことを報告した。本研究では、マウス扁平上皮癌モデルを用いて、免疫チェックポイント阻害剤と共刺激分子B7分子(CD80)の遺伝子導入の併用効果を検討した。両者の併用により、マウスに移植された腫瘍はほぼ完全に消失し有意な併用効果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

マウスに移植した扁平上皮がん腫瘍細胞にアデノウイルスベクターを用いて共刺激分子B7(CD80)を導入することにより免疫チェックポイント阻害剤の効果を有意に増強することを示すことができた。免疫チェックポイント阻害剤と共刺激分子の併用という新たな治療法の開発につながる成果が得られた。本治療法が実用化されることが望まれる。

研究成果の概要(英文)：In our previous study, we reported that gene transfer of the B7 molecule (CD80) into a mouse squamous cell carcinoma model efficiently amplified tumor-specific CTLs and had a growth inhibitory effect not only on tumor cells expressing the B7 molecule (CD80) but also on non-transfected tumor cells.

In this study, we examined the combined effects of immune checkpoint inhibitors and gene transfer of the co-stimulatory molecule B7 molecule (CD80) using a mouse squamous cell carcinoma model. The combination of both treatment strategies resulted in almost complete disappearance of tumors transplanted into mice and a significant combined effect.

研究分野：耳鼻咽喉科 頭頸部外科

キーワード：扁平上皮癌 免疫チェックポイント阻害剤 共刺激因子 B7 CD90

## 1. 研究開始当初の背景

頭頸部は視覚・聴覚・平衡覚・嗅覚・味覚などの感覚、音声言語によるコミュニケーション、呼吸・摂食・嚥下など様々な役割を担っており、頭頸部に発生した悪性腫瘍に対しては、癌の根治とともにこれら機能(Quality of Life)の維持が求められる。この命題を両立させるため、長年に亘り手術・放射線療法・化学療法を組み合わせた様々な集学的治療が開発され、QOLの観点からは大きな進歩がみられた。しかし、依然として進行癌の生存率に有意な改善はみられていない。

近年、がんの免疫逃避機構が解明され、PD-1/PD-L1 や CTLA-4/CD80(B7)などの抑制性免疫補助シグナルをブロックすることにより、がん免疫逃避機構を抑制する免疫チェックポイント阻害剤の臨床開発が進んでいるが、頭頸部癌に対して現在承認されている抗 PD-1 抗体の再発・転移頭頸部癌に対する奏効率は20%程度に留まっている<sup>1)</sup>。また、放射線治療や従来の化学療法との併用療法など様々な治験が進行し、その成果が期待されているが、併用療法の有効性の根拠となる機序については未だ十分に解明されておらず、画期的な成果は報告されていない。

## 2. 研究の目的

本研究は、切除不能局所進行ならびに再発転移頭頸部扁平上皮癌の治療成績向上を目的として計画した。現在、切除不能局所進行癌に対しては放射線治療(RT)とシスプラチン(CDDP)の併用療法(RT+CDDP)が標準治療として行われ、これに免疫チェックポイント阻害剤(ICI)を加えた治療(RT+CDDP+ICI)の有効性が治験で検討されている。一方、CDDP抵抗性切除不能再発転移頭頸部癌に対しては免疫チェックポイント阻害剤の単独療法が用いられている。本研究では、再発転移頭頸部癌に対するICI単独治療をコントロール群とし、腫瘍免疫を活性化させる共刺激分子を組み込んだ非増殖型アデノウイルスベクター(Ad-B7)を、マウス扁平上皮癌モデルの腫瘍内に投与して、併用による局所制御の効果の向上を検討する。

## 3. 研究の方法

### 【実験材料の入手】

- ・マウス: 6-8週齢のC57BL/6マウスを(Jackson laboratory)より、その都度購入
- ・マウス扁平上皮癌細胞株(KLN205)・Ad-B7 (B7遺伝子が組みこられたアデノウイルスベクター)・Ad-LacZ (レポーター遺伝子LacZが組み込まれたアデノウイルスベクター): 理化学研究所BRCより購入
- ・抗PD-1抗体: Bio X Cell社より購入

### 【実験方法】

- ・6週齢のマウス各5匹にKLN205を背部皮下に注射してマウス扁平上皮癌モデルを作成
- ・5匹ずつ以下の5群に分けて検討する。

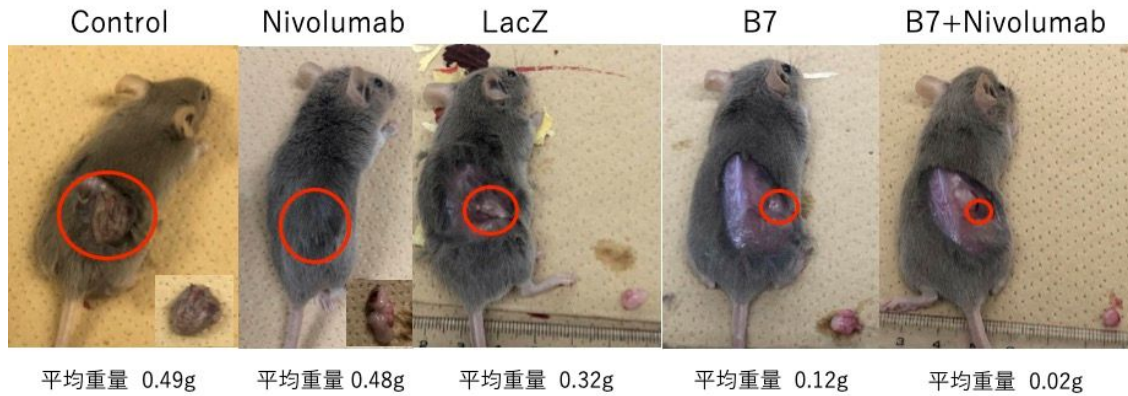
1) コントロール群

2) 抗PD-1抗体群

- 3 ) Ad-LacZ 遺伝子導入群
- 4 ) Ad-B 7 遺伝子導入群
- 5 ) 抗 PD-1 抗体 + Ad-B 7 遺伝子導入群

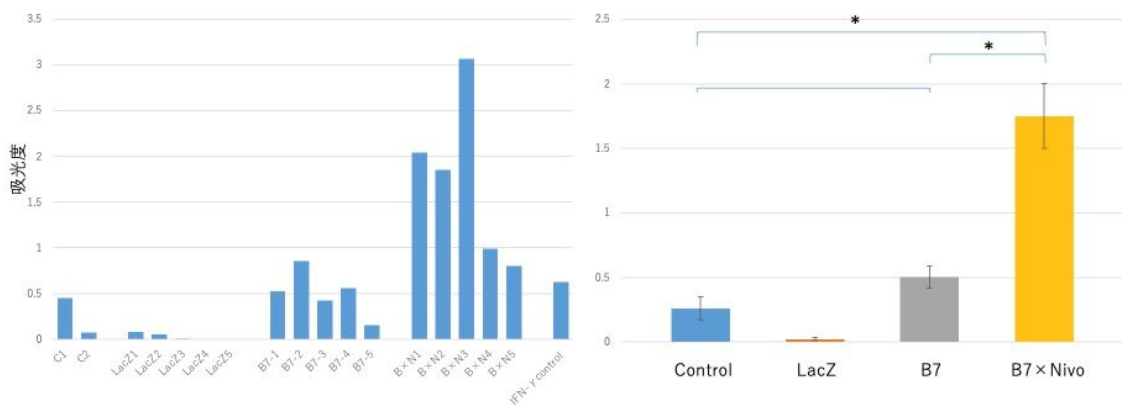
#### 4 . 研究成果

抗 PD-1 抗体 + Ad-B 7 遺伝子導入群において、有意に腫瘍縮小効果が得られほぼ CR となった。抗 PD-1 抗体と Ad-B 7 遺伝子による相乗効果が確認された。



更に各群のマウス脾臓から T 細胞を抽出し IFN- $\gamma$  の濃度を検討したところ、B7 遺伝子の導入と Nivolumab の併用により、有意に IFN- $\gamma$  の濃度が上昇しており、T 細胞のがんに対する免疫応答が活性化されていることが確認された。

これらの結果より、B7 遺伝子の導入と Nivolumab の併用により、T 細胞のがん細胞に対する免疫応答が活性化され顕著な抗腫瘍効果が得られ、再発・転移頭頸部扁平上皮癌に対する新たな治療戦略の可能性が示された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Sano Daisuke, Shimizu Akira, Tateya Ichiro, Fujiwara Kazunori, Mori Terushige, Miyamoto Shunsuke, Nishikawa Daisuke, Terada Tomonori, Yasumatsu Ryuji, Ueda Tsutomu, Matsumoto Fumihiko, Kishimoto Yo, Maruo Takashi, Fujimoto Yasushi, Tsukahara Kiyooki, Yoshimoto Seiichi, Nibu Ken-ichi, Oridate Nobuhiko	4. 巻 48
2. 論文標題 Treatment outcomes of transoral robotic and non-robotic surgeries to treat oropharyngeal, hypopharyngeal, and supraglottic squamous cell carcinoma: A multi-center retrospective observational study in Japan	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 502 ~ 510
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2021.01.024	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 Uehara Natsumi, Otsuki Naoki, Kubo Mie, Kitamoto Junko, Kojima Yasutaka, Teshima Masanori, Shinomiya Hiroataka, Shirakawa Toshiro, Nibu Ken ichi	4. 巻 3
2. 論文標題 Oncolytic effect of Midkine promoter?based conditionally replicating adenoviruses expressing EGFR siRNA in head and neck squamous cancer cell line T891	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Reports	6. 最初と最後の頁 e1231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cnr2.1231	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 Saito Yuki, Hayashi Ryuichi, Iida Yoshiyuki, Mizumachi Takatsugu, Nibu Ken ichi, Yane Katsunari	4. 巻 126
2. 論文標題 Optimization of therapeutic strategy for p16 positive oropharyngeal squamous cell carcinoma: Multi institutional observational study based on the national Head and Neck Cancer Registry of Japan	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer	6. 最初と最後の頁 4177 ~ 4187
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cncr.33062	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 Suzuki C., Kiyota N., Imamura Y., Rikitake J., Sai S., Koyama T., Hyogo Y., Nagatani Y., Funakoshi Y., Toyoda M., Otsuki N., Nibu KI., Minami H.	4. 巻 25
2. 論文標題 Effect of tumor burden and growth rate on treatment outcomes of nivolumab in head and neck cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1270 ~ 1277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-020-01669-y	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 Uehara Natsumi, Otsuki Naoki, Kubo Mie, Kitamoto Junko, Kojima Yasutaka, Teshima Masanori, Shinomiya Hirotaka, Shirakawa Toshiro, Nibu Ken-ichi	4. 巻 2
2. 論文標題 Oncolytic effect of Midkine promoter-based conditionally replicating adenoviruses expressing EGFR siRNA in head and neck squamous cancer cell line T891	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Reports	6. 最初と最後の頁 e1231 ~ e1231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cnr2.1231	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	井之口 豪 (Inokuci Go) (10457046)	神戸大学・医学部附属病院・准教授  (14501)	
研究分担者	上原 奈津美 (Uehara Natsumi) (40570502)	神戸大学・医学部附属病院・助教  (14501)	
研究分担者	大月 直樹 (Otsuki Naoki) (40343264)	神戸大学・医学研究科・客員教授  (14501)	

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
---------	---------