

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：82643

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08295

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害薬の耐性克服のための糞便移植の意義

研究課題名（英文）Significance of a fecal transplantation for immune checkpoint inhibitor

研究代表者

須河 恭敬（Sukawa, Yasutaka）

独立行政法人国立病院機構（東京医療センター臨床研究センター）・その他部局等・医長

研究者番号：80772566

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では腫瘍細胞と免疫細胞の関係に関する基礎実験レベルのモデルの構築に加え、実際に人で糞便移植をしたときにおける、免疫チェックポイント阻害剤の効果に対する影響について検討することを目的として計画されたが、残念ながら計画通りに研究を進めることができなかった。糞便移植につながるバイオマーカーの探索として臨床検体を集めて、腸内細菌と腫瘍組織、血中の免疫マーカーの関連についての解析は進めることができたが、糞便移植につながられるような成果は得られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では残念ながら当初予定したような成果は得られなかった。しかし、臨床検体を用いた検討の中で、血中のアミノ酸の発現状況と免疫チェックポイント阻害剤の効果の間に関連を示唆する所見を見つけることができた。免疫チェックポイント阻害剤は様々な癌種に対して適応が拡大しており、そのバイオマーカーの検討や、治療効果を上げるための方法を探索することはますます重要になってきている。今回は目的の成果は得られなかったが、今回収集したデータを活用して新たなバイオマーカーの探索を進めていきたい。

研究成果の概要（英文）：In this research, we tried to develop an experimental model to assess the association of tumor cells with immune cells. We also tried to assess the significance of a fecal transplantation for a therapy with an immune checkpoint inhibitor. Unfortunately, our research did not proceed as planned. We collected clinical specimens to search for biomarkers leading to fecal transplantation. Although we were able to proceed with the analysis of the relationship between intestinal bacteria, tumor tissue, and immune markers in the blood, we could not find any significant results in this research.

研究分野：がん薬物療法

キーワード：免疫チェックポイント阻害剤

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤のための実験モデル：近年、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）の有効性が様々な癌腫に対して証明され、適応が拡大されている。ICIの有効な症例では、従来の抗がん剤とくらべ長期間の奏効が期待されることが知られており、これまで根治不能と考えられていた対象に対しても長期生存が期待されるようになってきている。一方で、そのような著効症例は10-20%程度であり、多くの症例では効果を期待できないことが課題となっていた。

ICIの効果には、腫瘍自体の抗原性に加え、患者の免疫機能、腫瘍部への免疫細胞浸潤が重要と考えられている。しかしながら、ICIは従来の薬剤とは異なり、腫瘍細胞株を用いた実験ではその有効性を検証することは難しく、さらにマウスなどの動物を使った実験系においては免疫環境がヒトと異なるために、十分にヒトの体内における抗腫瘍免疫反応を再現することは困難である。申請者らはヒトのがん細胞を三次元培養技術（オルガノイド）を用い、ヒトのがん細胞の特性を維持したまま永続的に培養する実験系を確立しこれまでその成果を報告してきた。この技術を応用し、培養環境にヒト由来の免疫細胞を加えることで免疫環境を再現する試みもすすめられている。オルガノイドは癌腫、腫瘍の遺伝子変異プロファイル毎に樹立や培養条件が異なり、免疫環境再現に関しても最適化されているとは言えず適切な実験モデルが確立されていないことが問題となっていた、同モデルを確立し広く応用を可能にすることでICIのバイオマーカー研究の発展に寄与することが期待された。

糞便移植：*Clostridium difficile* 関連腸炎（CD 腸炎）に対する糞便移植の有効性が証明され、本邦においても一部の施設では、治療抵抗性のCD 腸炎に対して糞便移植が行われるようになっていた。我々の施設でも積極的に糞便移植を行いCD 腸炎に対する有効性が確認され、糞便移植はCD 腸炎以外に炎症性腸疾患にも有効性が期待されていたが、有効性は証明されなかった。さらに本研究計画時は、ICI無効例に対して糞便移植を行うことで感受性がみられたとする報告もでてきており、治療抵抗性を克服するための方法として注目されていた。

一方で、糞便移植には解決すべき課題が多いことも指摘されていた。糞便移植の成功には①レシピエントの選択、②ドナーの選択、③腸内細菌の投与方法が重要な要素となる。まず、①に関しては、ICI抵抗例を考えるときに腸内細菌の変化により治療効果が変わる対象がどのようなものかを解明する必要がある。次に②としてドナーの選択がある。これはもっとも重要な要素であり、どのような腸内細菌叢をもつ便が移植に適しているのかを明らかにしなければならない。いくつかの菌種の組み合わせがヒトのT細胞の活性化と関与することが報告されており、糞便を移植するという形ではなく、いくつかの菌種を抽出しカクテルしたものを製剤化しようとする動きもみられていた。一方で、糞便移植には投与菌種のDiversityが重要な可能性もあり、移植菌種を絞ることで有効性が損なわれる可能性が考えられる。最後に、③腸内細菌の投与方法の確立がある。腸内細菌を移植する投与経路として、下部消化管内視鏡を使用して深部結腸へ直接散布する方法や、経管チューブなどを用いて上部消化管から散布する方法、そしてカプセルのような製剤化をして内服させる方法がある。さらに、移植処置が何回必要なのか、繰り返す場合にはどのような間隔で繰り返すことがいいのかについての検討は十分されているとはいえず、特に一過性の病態であるCD 腸炎と異なり、担癌患者におけるICI治療における最適な方法は明らかになっていない。

2. 研究の目的

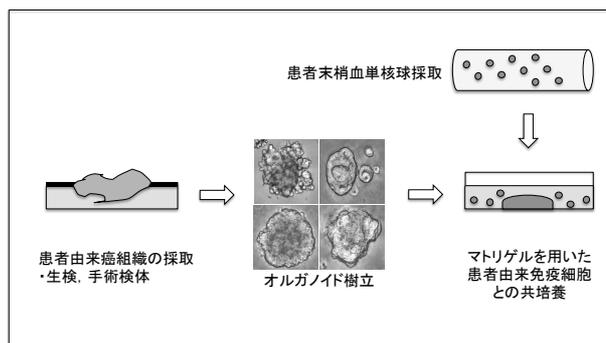
本研究には大きく二つの目的があった。

一つは新規の基礎実験モデルの構築である。従来の基礎実験モデルは、免疫反応を評価するには人体内での免疫反応とは乖離があり、できるだけ人体内での免疫反応を反映した実験モデルの構築が必要と考えた。オルガノイドモデルを用いることで、人由来のがん細胞の採取、培養、継代が可能となっており、このモデルをベースに新規の実験モデルの構築を目指した。

二つ目として、免疫チェックポイント阻害剤の耐性克服のための糞便移植の可能性について探索することであった。糞便移植を検討するために、まずは腸内細菌と免疫チェックポイント阻害剤の効果に関して検討を行い、どのような腸内細菌を移植すると治療効果に影響を与えることができるかを明らかにし、そのうえで、実際に糞便移植によって治療介入を行う方法を探索することを目的とした。

3. 研究の方法

- 1) ICI 投与症例の治療前の腫瘍組織、血液検体、糞便を収集し、腫瘍組織からオルガノイドを樹立、血液検体を用いて末梢血単核球を分離し、免疫関連マーカーの評価に加え、オルガノイドとの共培養により *in vitro* での ICI に対する反応を検討する。糞便検体を用いて 16S シークエンスを用いて腸内細菌を解析し、治療効果との関係、オルガノイド、血液検体を用いた解析結果との関係を検討する。



- 2) ICI が無効となった症例に対して、前向き介入研究として糞便移植を行う研究を計画していたが、糞便移植につなげるためのバイオマーカー研究が必要と考えて研究計画を変更した。免疫チェックポイント阻害剤で治療を受ける胃癌患者から血液、腫瘍組織、糞便検体を収集し、治療効果を前向きに収集し治療効果との関連を検討した。

4. 研究成果

本研究では残念ながら当初予定したような成果は得られなかった。

しかし、臨床検体を用いた検討の中で、血中のアミノ酸の発現状況と免疫チェックポイント阻害剤の効果の間に関連を示唆する所見を見つけることができた。免疫チェックポイント阻害剤は様々な癌種に対して適応が拡大しており、そのバイオマーカーの検討や、治療効果を上げるための方法を探索することはますます重要になってきている。今回は目的の成果は得られなかったが、今回収集したデータを活用して新たなバイオマーカーの探索を進めていきたい。

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 Shimozaki Keitaro, Sukawa Yasutaka, Beppu Noriko, Kurihara Isao, Suzuki Shigeaki, Mizuno Ryuichi, Funakoshi Takeru, Ikemura Shinnosuke, Tsugaru Kai, Togasaki Kazuhiro, Kawasaki Kenta, Hirata Kenro, Hayashi Hideyuki, Hamamoto Yasuo, Takaishi Hiromasa, Kanai Takanori	4. 巻 Volume 12
2. 論文標題 <p>Multiple Immune-Related Adverse Events and Anti-Tumor Efficacy: Real-World Data on Various Solid Tumors</p>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Management and Research	6. 最初と最後の頁 4585 ~ 4593
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2147/CMAR.S247554	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tsugaru Kai
2. 発表標題 Clinical significance of D-amino acid profile for cancer detection in early stage and prediction of efficacy of nivolumab in gastric cancer.
3. 学会等名 ASCO-GI 2023 (国際学会)
4. 発表年 2023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
研究分担者	浜本 康夫 (Hamamoto Yasuo) (10513921)	慶應義塾大学・医学部(信濃町)・准教授 (32612)	

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