

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：15201

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15592

研究課題名(和文)他家移植を目指した新規がん免疫細胞療法の確立

研究課題名(英文)A novel cell therapy using allogeneic CCL19-expressing mesenchymal stem cells

研究代表者

飯田 雄一 (Iida, Yuichi)

島根大学・学術研究院医学・看護学系・助教

研究者番号：50734985

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本実験において我々は、アロMSC/CCL19を用いた抗腫瘍効果の検討およびメカニズム解析を行った。CT26担がんマウスにB6由来MSC/CCL19を局所投与した実験では、全ての個体で腫瘍を拒絶した。アロMSC/CCL19局所投与の抗腫瘍効果は抗CD4抗体または抗CD8抗体によって減弱することから、T細胞依存性であると考えられた。また、リアルタイムPCR解析結果から、IL-12を構成するp35とp40のmRNA発現が腫瘍内で亢進していることが確認された。この抗腫瘍効果は、アロ反応性T細胞によるbystander効果とIL-12産生による細胞性免疫応答が関与している可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々は、効率よく抗原提示細胞やT細胞を腫瘍に集積させ、免疫チェックポイント阻害療法の奏効率を改善する新規細胞治療法(MSC/CCL19局所投与)をマウスモデルで確立してきた。自家移植では、時間と費用が必要であるため、本研究では他家移植を目指した非自己(アロ)MSC/CCL19による腫瘍抑制効果の検討およびメカニズムの解明を行った。アロMSC/CCL19は高い抗腫瘍効果を示し、抗がん応答メカニズムの一部が明らかとなった。アロMSC/CCL19の抗がん治療への応用は新規がん免疫療法となる可能性を秘めている。

研究成果の概要(英文)：We previously reported that local injection of syngeneic iMSC/CCL19 can suppress the tumor growth by promoting infiltration of T cells and CD45+ F4/80- CD11c+ CCR7+ cells (Iida et al., J of ImmunoTher Cancer 2020). To expand this strategy, we determined whether allogeneic iMSC/CCL19 could suppress the tumor growth. We founded that iMSC/CCL19 remained longer than iFib/CCL19. In therapeutic models using CT26, RENCA-OVA and B16-OVA-bearing mice, local injection of Allo-iMSC/CCL19 exerted drastic anti-tumor effect but not RENCA-bearing mice. Quantitative RT-PCR revealed that Allo-iMSC/CCL19 upregulated relative mRNA expression of p35, p40, CD11c, CD4, CD8, IFN and granzyme B. Since anti-asialoGM1 antibody and anti-IL12p40 antibody attenuated the anti-tumor effect of Allo-iMSC/CCL19, innate immune response are important. These results suggest that Allo-iMSC/CCL19 stimulated allo-reactive innate immune response not only T cells.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：細胞医薬 CCL19 間葉系幹細胞 樹状細胞

## 1 . 研究開始当初の背景

エフェクターT 細胞ががん細胞を攻撃するためには、多段階のステップ(抗がん免疫応答サイクル)を必要とする。抗原提示細胞のがん抗原取り込み、T 細胞へのがん抗原提示、T 細胞の腫瘍浸潤、T 細胞のがん細胞認識・破壊の全てのステップが成立して初めてがん細胞を攻撃できる。近年非常に注目されている免疫チェックポイント阻害療法は、上述した最終ステップにおける問題点を解決した革新的な治療法である一方、他のステップで機能低下が起きているとその効果は減弱してしまうことが報告されている。

我々はこれまでに、高い抗原提示能を持つ樹状細胞および T 細胞の遊走に關与するケモカイン分子 CCL19 を産生する間葉系幹細胞(MSC)をマウスより単離・樹立し、MSC/CCL19 の局所投与が上述したステップの問題点を解決し、顕著に腫瘍増殖の抑制に働くことをマウスモデルで報告してきた ( Iida Y. et al., *J Immunother Cancer* 2020 )。MSC は腫瘍集積および残存性の高さに加えて、HLA 不適合レシピエントでも拒絶を受けにくいことが知られており、実際に移植片対宿主病(GVHD)の予防治療として第三者由来の MSC が使用されている。つまり、MSC/CCL19 は患者由来である必要はなく、HLA の制約を受けることなくレディーメイド細胞治療としての可能性を秘めている。

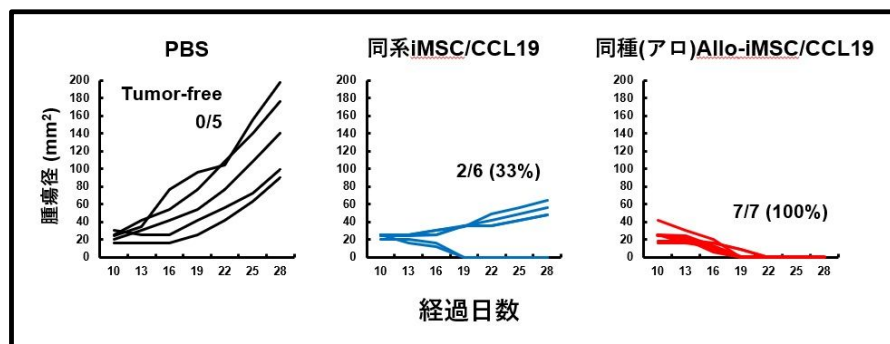
## 2 . 研究の目的

アロ MSC/CCL19 の腫瘍残存性を検討した事前研究では、C57BL/6 マウス由来 MSC/CCL19 はCT26 担がん BALB/c マウスモデルにおいて、投与後 8 日以上腫瘍残存が観察され、コントロールである線維芽細胞よりも長期的に残存していた。本研究は、アロ MSC/CCL19 の抗腫瘍効果の検討およびそのメカニズムを解明することを目的とする。

## 3 . 研究の方法

アロ MSC/CCL19 の抗腫瘍効果の検討は異なる 4 つのがん細胞株(メラノーマ細胞株 B16-OVA, 腎がん細胞株 RENCA, OVA 発現 RENCA, 大腸がん細胞株 CT26)を用いて行った。B16-OVA 担がんマウスにおいて、アロ MSC/CCL19 の局所投与は、腫瘍抑制効果および生存率の増加が認められた。同様に RENCA-OVA 担がんモデルマウスにおいても、アロ MSC/CCL19 は同系 MSC/CCL19 と同等の抗腫瘍効果が確認された。しかしながら、親株である RENCA 担がんモデルマウスにおいて、MSC/CCL19 の抗腫瘍効果は認められなかった。CT26 担がんモデルマウスにおいて、アロ MSC/CCL19 局所投与は、7 匹中すべてのマウスで腫瘍拒絶が観察され、その抗腫瘍効果は同系 MSC/CCL19 療法に比べて顕著に高いものであった(図)。アロ MSC/CCL19 投与がアジュバント効果を持ち、免疫応答を惹起していると仮説をたて、上記実験に用いた MSC/CCL19 (C57BL/6 マウス由来)を CT26 担がん CB6F1 マウス (BALB/c x C57BL/6 マウス)を用いて検討を行った。MSC/CCL19 に対するアロ反応が起こらない本実験において、抗腫瘍効果が減弱したことから、アロ MSC/CCL19 はアジュバント作用を持ち抗腫瘍効果に寄与していることが示唆された。さらに、最も高い抗腫瘍効果を認めた CT26 腫瘍に関して、アロ MSC/CCL19 投与後の腫瘍 RNA を用いて RNA シークエンシング法により解析したところ、コ

ントロール群と比較して conventional type 1 dendritic cells (cDC1) 関連遺伝子、炎症性サイトカイン、T 細胞関連遺伝子の発現が亢進していることが確認された。



#### 4. 研究成果

本研究により、抗がん免疫 MSC/CCL19 細胞療法の他家移植の可能性が示唆された。アロ MSC/CCL19 はアジュバント作用を持ち、残存している腫瘍内において cDC1 の活性化を促進し、抗腫瘍効果に寄与していることが確認された。がん治療モデルにおいて、RENCA-OVA 担がんモデルマウスでは抗腫瘍効果が確認されたが、親株である RENCA 担がんモデルマウスでは認められなかったことから、本治療法は、免疫原性が高い腫瘍に関して有効であると考えられる。本研究で得られた結果をさらに検討・展開し、新規がん免疫療法の開発および臨床応用を計画している。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4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 KAZUNARI ISHITOBI, HITOSHI KOTANI, YUICHI IIDA, TAKAHITO TANIURA, YOSHITOMO NOTSU, YOSHITSUGU TAJIMA, MAMORU HARADA	4. 巻 113
2. 論文標題 A modulatory effect of L-arginine supplementation on anticancer effects of chemoimmunotherapy in colon cancer-bearing aged mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Immunopharmacology	6. 最初と最後の頁 109423-109436
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 -
1. 著者名 HOQUE MOHAMMAD MAHBUBUL, IIDA YUICHI, KOTANI HITOSHI, KARTIKA IRNA DIYANA, HARADA MAMORU	4. 巻 42
2. 論文標題 Hydroxychloroquine Promotes Bcl-xL Inhibition-induced Apoptosis in BxPC-3 Human Pancreatic Cancer Cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3495 ~ 3506
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancer.15836	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 -
1. 著者名 Uehara Shotaro, Iida Yuichi, Ida-Tanaka Miyuki, Goto Motohito, Kawai Kenji, Yamamoto Masafumi, Higuchi Yuichiro, Ito Satoshi, Takahashi Riichi, Kamimura Hidetaka, Ito Mamoru, Yamazaki Hiroshi, Oshimura Mitsuo, Kazuki Yasuhiro, Suemizu Hiroshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Humanized liver TK-NOG mice with functional deletion of hepatic murine cytochrome P450s as a model for studying human drug metabolism	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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） 10.1038/s41598-022-19242-0	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 -
1. 著者名 Koyanagi Akira, Kotani Hitoshi, Iida Yuichi, Tanino Ryosuke, Kartika Irna D., Kishimoto Koji, Harada Mamoru	4. 巻 55
2. 論文標題 Protective roles of cytoplasmic <sup>p21</sup> in senolysis and ferroptosis of lung cancer cells	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Proliferation	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） 10.1111/cpr.13326	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5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuichi Iida and Mamoru Harada
2. 発表標題 A novel immunotherapy using CCL19-expressing allogeneic mesenchymal stromal cells exert anti-tumor effect by increasing CD103+ CD8+ T cells
3. 学会等名 第51回日本免疫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯田 雄一、原田 守
2. 発表標題 ア口CCL19発現同種間葉系細胞の抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第26回日本がん免疫学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 飯田雄一、原田守
2. 発表標題 ア口CCL19発現間葉系細胞の腫瘍残存および抗腫瘍効果の検討
3. 学会等名 第25回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuichi Iida and Mamoru Harada
2. 発表標題 Anti-tumor immunotherapy using CCL19-expressing allogeneic mesenchymal stromal cells
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yuichi Iida and Mamoru Harada
2. 発表標題 Cell therapy using CCL19-expressing syngeneic or allogeneic mesenchymal stromal cells
3. 学会等名 第1回日本がん免疫学会国際がん免疫シンポジウム（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2024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

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