

令和 5 年 6 月 16 日現在

機関番号：81303

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19748

研究課題名（和文）栄養学的アプローチによる腫瘍免疫の賦活メカニズムと治療応用

研究課題名（英文）Nutritional approach for activation of tumor immunity: mechanisms and therapeutic applications

研究代表者

伊藤 しげみ（Ito, Shigemi）

地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター（研究所）・がん薬物療法研究部・特任研究員

研究者番号：80600006

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：最近、食事と腫瘍免疫とのクロストークに注目が集まっている。本研究では、ナイアシン摂取制限が腫瘍免疫を賦活する作用について、そのメカニズムを解明することを目的とした。マウス用エサや遺伝子改変マウスを用いた解析の結果、食餌中のニコチン酸がニコチン酸リボシドに変換されて血中を循環していることを見出した。ナイアシン制限は、血中ニコチン酸リボシド濃度を著しく低下させた。一方、ナイアシン制限が、速やかな腸内細菌叢の変化をもたらすことも明らかになった。以上より、これら2つのどちらか、あるいは両方を介して、ナイアシン制限が腫瘍免疫を賦活するものと考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年のがん免疫療法の発展は目覚ましいが、耐性症例の多さなど、課題も多い。その一部は、例えば腫瘍ごとに異なる腫瘍ネオ抗原の多寡などで説明されるようになったが、未だ不明の点が多い。本研究では、食事が腫瘍免疫の活性に影響し得ることを実験的に示した。さらにその作用メカニズムの一端として、血中栄養素レベルの変動と腸内細菌叢の変化を同定した。さらなるメカニズム解明や、新規イムノセラピーへの発展が期待される。

研究成果の概要（英文）：Recently, much attention has been paid to the crosstalk between diet and tumor immunity. The aim of this study was to elucidate the mechanism where the restriction of dietary niacin upregulates tumor immunity. By modifying diet and genetically engineered models in mice, we found that dietary nicotinic acid is converted to nicotinic acid riboside, which circulates in the blood. Niacin restriction markedly reduced blood nicotinic acid riboside concentrations. On the other hand, niacin restriction also resulted in rapid changes in the gut microbiota. These findings suggest that niacin restriction stimulates tumor immunity via either or both of these two mechanisms.

研究分野：腫瘍学、栄養学

キーワード：腫瘍免疫 ビタミン ナイアシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

“がん”と診断された患者やその家族等にとり、食事は、非常に関心の高い事柄の1つである。食習慣が「がん罹患リスク」に影響を及ぼすことは、多くの疫学研究から、疑いない。しかし、一端できてしまった“がん”に対し、その進行を遅らせたり、治療(他治療との併用を含む)効果が科学的に確立された“がん食事療法”は存在しない。

一方、近年、がんの代謝研究が進むにつれ、適切な「がん種・治療方法・食事介入」の組み合わせが揃えば(プレジジョン食事介入)、「食事介入による治療効果の向上を望める」ことが、動物実験にて分かってきた(総説: Kanarek N. Nature '20, Morita M. Cancer Sci '20等)。ケトン食・絶食模倣食、アミノ酸制限食などの例である。

我々グループは、ある難治肺がんの代謝特性を狙い撃つため、ビタミンの一種、ナイアシン類の摂取制限が新たな治療とならないか、模索してきた。そのような動物飼料を作れるか?という問からスタートしたが、存外に上手くいった。そして、当該がんに対する低分子阻害剤によるNAD合成阻害とナイアシン制限の相乗効果は、目を見張るものがあった。その先に、「ナイアシン制限が発揮する、免疫依存的な抗腫瘍効果」を発見し、本研究を着想した。

2. 研究の目的

近年のがん免疫療法の発展は目覚ましいが、耐性症例の多さなど、課題も多い。その一部は、例えば腫瘍ごとに異なる腫瘍ネオ抗原の多寡などで説明されるようになったが、未だ不明の点が多い。一方、最近、食事と免疫系との相互作用が、分子レベルで明らかになりつつある。典型的には腸内細菌叢を介したルートで、食事が腸内細菌組成を変化させ、さまざまな作用によって免疫系に働きかけるメカニズムである。そのような作用は腫瘍免疫においても存在すると考えられることから、食事と腫瘍免疫とのクロストークに対する注目が集まっている。本研究では、申請者らが最近発見した、「ナイアシン摂取制限が腫瘍免疫を賦活する作用」について、そのメカニズムを解明することを目的とした。

3. 研究の方法

実験は、マウスでの syngenic allograft モデルを中心に行った。マウスでのナイアシン制限では、ビタミンフリー処理したカゼインをタンパク源とする合成エサ(NFD, niacin-free diet)を作製し、マウスに供した。

免疫チェックポイント阻害実験では、担がんマウスに抗 PD-1 抗体、あるいは抗 PD-L1 抗体を定期的に投与した。

Naprt 欠損マウスは、ES 細胞での相同組換えを用いた定法によって作製した Naprtflox マウスを、生殖系列にて Cre リコンビナーゼを発現する CAG-Cre マウスを交配し、作製した。得られたマウスが特段の異常表現型を示さなかったため、全身性に Naprt を欠損するマウス(Naprt-KO マウス)として実験に供した。Nmrk1 欠損マウスは、マウス受精卵における CRISPR-Cas9 ゲノム編集により、当該遺伝子座の重要領域を大きく欠損させることで作製した。

腸内細菌叢解析は、マウス糞便を採取後に速やかに凍結保存し、それらから抽出・精製した DNA について、18S rRNA の配列分布を次世代シーケンスによって決定することにより行った。

4. 研究成果

(1) ナイアシン制限による腫瘍抑制効果が免疫システムに依存することを確認するため、MC38 マウス腫瘍を野生型および免疫不全マウス (Rag-1 欠損マウス) の同系マウス (C57/BL6) に移植し、通常食あるいはナイアシン制限食 (NFD) を与えて腫瘍増殖をモニターした。野生型マウス (正常な免疫系) でみとめられる NFD の腫瘍抑制効果が、Rag-1 欠損マウス (機能的 T 細胞、B 細胞を欠損) では全く見られなかった。従い、ナイアシン制限の抗腫瘍効果には、獲得免疫が重要であることが示唆された。

(2) ナイアシン摂取制限の結果、血中ナイアシンがどのように影響を受けるのかを検討した。ナイアシンとして機能すると報告されている 10 分子について質量分析によって検討した結果、マウス血清中に検出可能なレベルで存在するのは、ニコチンアミド (Nam)・ニコチン酸 (NA)・ニコチン酸リボシド (NAR)・ニコチンアミドリボシド (NR) の 4 種のみだった。他の NAMN・NMN・cADPR・ADPR・NAAD・NAD は、検出できなかった。上記 4 種のナイアシン分子種のうち、ナイアシン摂取制限の影響が有意だったのは、NAR のみだった (図 1 中)。これら結果から、ナイアシン摂取制限が、血中 NAR の低下を介して作用している可能性が出てきた。血中 NAR の由来を検討することとした。実験に供しているマウス通常エサについても同様に分析したところ、驚いたことに、エサ中には NAR が一切含まれていないことが分かった (図 1 右)。

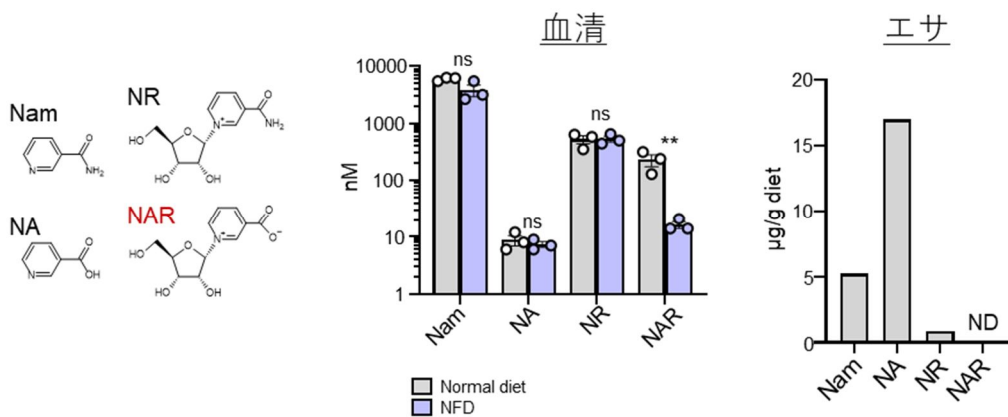


図 1 マウス血中および食餌中のナイアシン分析

通常エサに含まれる各ナイアシン分子種の量、また、種々の予備的な検討の結果等から、食餌中に含まれる NA が、宿主代謝系のはたらきによって NAR へと変換され、血中を循環していると予測を立てた。その場合、NA 代謝に関わる酵素、Naprt が重要な役割を果たしている可能性があった。この仮説を検証するため、Naprt 欠損マウスから血清を単離し、野生型マウスのものと比較しつつ、ナイアシン分析を行った。その結果、Naprt 欠損マウスでは、NAR の血中濃度が激減し、一方で NA の濃度が著しく高まっていることが分かった (図 2)。これら結果から、血中 NAR の栄養ソースは、食餌に含まれる NA であり、NA から NAR の変換には Naprt が重要であることが示唆された。

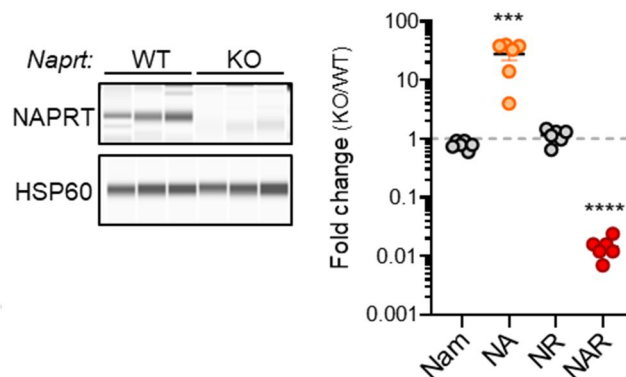


図 2 Naprt-KO マウス血清のナイアシン分析

(3) ナイアシン摂取制限が、腸内細菌叢の組成に影響するか否かを調べた。通常食にて飼育したマウスを NFD 食へと切り替え、経時的に便を採取して腸内細菌叢解析を行った。驚いたことに、NFD の効果はかなり早く、食事制限開始後 4 日の時点で明らかな細菌叢変化がみとめられた。これら結果から、NFD の作用が、腸内細菌叢の変化を介して発現している可能性も出てきた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1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 Fukui K, Nomura M, Kishimoto K, Tanuma N, Kurosawa K, Kanazawa K, Kato H, Sato T, Miura S, Miura K, Sato I, Tsuji H, Yamashita Y, Tamai K, Watanabe T, Yasuda J, Tanaka T, Satoh K, Furukawa T, Jingu K, Shima H	4. 巻 113(5)
2. 論文標題 PP6 deficiency in mice with KRAS mutation and Trp53 loss promotes early death by PDAC with cachexia like features	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1613-1624
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.15315	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 Kishimoto K, Kanazawa K, Nomura M, Tanaka T, Shigemoto-Kuroda T, Fukui K, Miura K, Kurosawa K, Kawai M, Kato H, Terasaki K, Sakamoto Y, Yamashita Y, Sato I, Tanuma N, Tamai K, Kitabayashi I, Matsuura K, Watanabe T, Yasuda J, Tsuji H, Shima H	4. 巻 10(13)
2. 論文標題 Ppp6c deficiency accelerates K-ras(G12D)-induced tongue carcinogenesis.ppp6c deficiency accelerates K-ras(G12D)-induced tongue carcinogenesis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med.	6. 最初と最後の頁 4451-4464
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/cam4.3962	査読の有無 無
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13件（うち招待講演 4件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Targeting NAD metabolism in cancer.
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会 JCA-AACR Joint Symposia “Cancer Metabolism”（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tanuma N
2. 発表標題 Metabolism-targeting therapy and precision nutrition in cancer
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術集会 モーニングレクチャー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Katsuya Fukui, Miyuki Nomura, Koh Miura, Keiichi Tamai, Jun Yasuda, Toshio Watanabe, Toru Furukawa, Takuji Tanaka, Kennichi Satoh, Nobuhiro Tanuma, Hiroshi Shima
2. 発表標題 PP6 deficiency in mice with pancreatic K-ras mutation and Trp53 loss promotes early death by PDAC formation with cachexia-like features
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 伊藤 信、望月 麻衣、山口 壹範、玉井 恵一、湊 敬道、田沼 延公、島 礼、安田純
2. 発表標題 がん遺伝子パネル検査に対するホルマリン固定パラフィン包埋腫瘍標本の頑健性
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福井勝哉、野村美有樹、田沼延公、渡邊利雄、島礼
2. 発表標題 K-ras変異陽性でTrp53欠損マウス膵細胞では、Ppp6c欠損により早期に悪液質を伴う浸潤性膵管癌が発生する
3. 学会等名 第 10 回日本プロテインホスファターゼ研究会 学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 食事中的NAD前駆体が、NAD標的治療の効果を限定するメカニズム
3. 学会等名 第8回 がん代謝研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nobuhiro Tanuma, Shuko Miya-hara, Miyuki Nomura, Tomoyoshi Soga, Shusuke Akamatsu, Mami Morita, Yoji Yamashita, Hiroshi Shima, Hidekazu Yamada, Taku Sato,
2. 発表標題 NAD dependence of small-cell lung and prostate cancers
3. 学会等名 第81回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Miyuki Nomura, Tomoyoshi Soga, Shusuke Akamatsu, Mami Morita, Yoji Yamashita, Hiroshi Shima, Hidekazu Yamada, Taku Sato, Nobuhiro Tanuma
2. 発表標題 Restriction of the dietary niacin enhances NAD-targeting therapy in mice
3. 学会等名 第81回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大内麻衣、宮原周子、野村美有樹、坂本良美、伊藤しげみ、盛田麻美、佐藤卓、菊池直彦、田沼延公
2. 発表標題 NAD biogenesis is a targetable vulnerability of small-cell lung and prostate cancers
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 野村美有樹、大内麻衣、伊藤しげみ、盛田麻美、菊池直彦、佐藤卓、中川崇、田沼延公
2. 発表標題 Systemic niacin metabolism that limits efficacy of NAD-targeted therapy in cancer
3. 学会等名 第95回 日本生化学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 食事介入を活用したNAD高依存がんに対する代謝標的治療
3. 学会等名 第45回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nobuhiro Tanuma.
2. 発表標題 Targeting NAD biogenesis in lung and prostate neuroendocrine carcinomas.
3. 学会等名 第12回 日米癌合同会議（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田沼延公
2. 発表標題 「がん治療に食事が及ぼす効果」
3. 学会等名 第26回日本病態栄養学会（招待講演）
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	田沼 延公 (Tanuma Nobuhiro) (40333645)	地方独立行政法人宮城県立病院機構宮城県立がんセンター (研究所)・がん薬物療法研究部・部長 (81303)	

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