

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26670579

研究課題名(和文) 癌吸入療法：肺内リンパ組織新生を利用した抗腫瘍ワクチンの新たなプラットフォーム

研究課題名(英文) Cancer inhalation therapy: a novel platform for cancer vaccine utilizing the mucosal immune system in the airways

研究代表者

佐藤 雅昭 (Sato, Masaaki)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：00623109

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は新たな癌免疫治療のプラットフォームとしての「がんワクチン吸入療法」の確立を目指した。マウス肺内腫瘍移植モデルを確立した。とくにB6 wild typeマウスに同系統マウス由来の腫瘍細胞を移植することで、腫瘍に対する免疫応答の観察を可能にした。Viabilityを失わせた腫瘍細胞をadjuvant (BCG)と混ぜて気道内投与することで、マウスの体重減少抑制効果と生存延長効果を確認した。この効果は、制御性T細胞を比較的選択的に減少させるcyclophosphamide少量投与と組み合わせることでさらに増強された。本研究の成果は現在、専門学術誌に投稿中である。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the present study was to establish a "cancer vaccine inhalation therapy" as a novel platform of cancer immunotherapy. Particularly, a novel animal model implanting a B6-mice-derived lung cancer cell line (Liewis cells) into the lung of immunocompetent wild-type B6 mice enabled observation of the hosts' immune response to cancer cells in vivo. Administration of dead cancer cells in combination with adjuvant BCG resulted in attenuation of cancer-related weight loss and improvement in survival. This effect was further enhanced by combining with systemic administration of low-dose cyclophosphamide, which reduces regulatory T cells in a relatively selective manner. The manuscript describing the outcomes of this study is under submission for a medical journal.

研究分野：癌免疫

キーワード：癌免疫 癌ワクチン 肺癌 制御性T細胞

1. 研究開始当初の背景

我々はこれまでの肺移植免疫研究を通じ、気管支・肺は進化の過程で高度に発達した、生体の first line defense を担う強固な免疫担当臓器であり、リンパ組織新生による強固な免疫バリアが、他臓器移植と比べて肺移植の成績を著しく低下させていることを見出した (Sato M, J Immunol 2009, Sato M, Transplantation 2011)。

リンパ組織新生は、自己免疫疾患、慢性感染等の慢性炎症性疾患でリンパ節類似構造を形成し局所の免疫反応を促進する現象だが、肺内でのリンパ組織新生は他臓器と比べ、抗原刺激によって3-5倍の速さで引き起こされ、強固な免疫反応を司ることが知られている (Moyron-Quiroz JE, Nat med 2004)。我々も移植動物実験において、同様のことを確認した (Wagnets D, Sato M, Transplantation 2012)。リンパ組織新生を中心とした強固な気管支・肺の免疫システムは、病原微生物に対する新たなワクチン投与のプラットフォームとして注目されつつある (Pabst R, Am J Respir Cell Mol Biol. 2010)。

癌組織においてもリンパ組織新生が確認されており、我々も多くのヒト肺癌組織においてリンパ組織新生を確認した。肺癌に伴うリンパ組織の役割については相反する意見があるが、我々は癌細胞を処理した抗原を含む適切な刺激を気道に与える (癌吸入療法) ことで、抗腫瘍的リンパ組織を肺癌組織周囲に誘導し抗腫瘍効果が得られる可能性があると考える。

図1

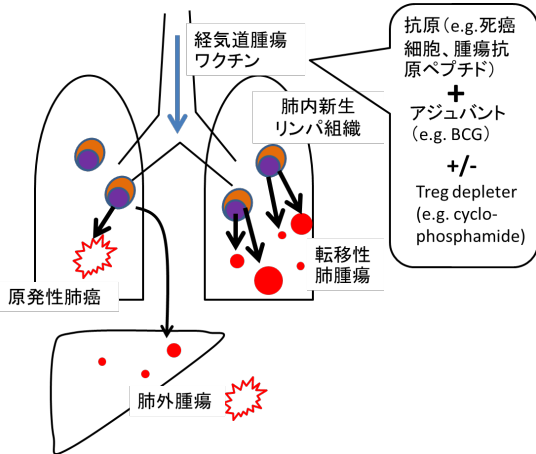


図1：癌吸入療法の概念図：原発性肺癌に対する経気道ワクチン投与を想定しているが、転移性肺腫瘍や肺外腫瘍にも効果がある可能性があり、成功した場合には広い応用範囲が期待できる新たな癌免疫治療のプラットフォームである

2. 研究の目的

本研究の目的は、新たな癌免疫療法として、

患者の癌組織を抗原として利用し、気管支・肺の強固な免疫系を介して抗腫瘍効果を発揮すると予想される癌吸入療法を研究・確立することである。免疫能正常な wild type マウス同所性肺癌モデルを用いてその有効性を研究するとともに、吸入癌ワクチンが気管支肺内で抗腫瘍免疫を活性化するメカニズムを解明することを目指す。

3. 研究の方法

1) 免疫能正常マウス同所性肺癌モデルにおける、有効な癌吸入療法レジメの探求・確立と肺組織の記述的研究

2) 癌吸入療法が有効な抗腫瘍免疫効果を発揮する機序の探求

a. 腫瘍特異的 effector T 細胞の活性化と肺内リンパ組織への homing

b. regulatory T cell の減少

3) 肺癌モデルにおける癌吸入療法の効果の調査

4) 皮下腫瘍モデル (肺外腫瘍モデル) における癌吸入療法の効果の調査

4. 研究成果

Wild-type B6 マウスの肺に B6 由来肺癌細胞 (Lewis cells) を注入する orthotopic lung cancer model を確立した。これにより、免疫能正常マウスの癌への免疫応答を観察できるようになった (図1)。

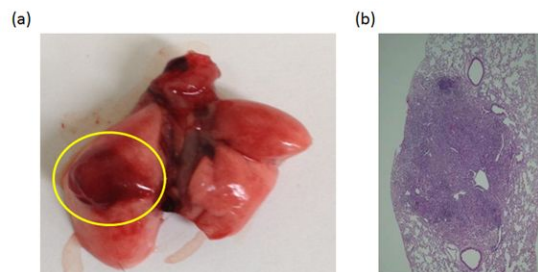


図2：マウス orthotopic lung cancer model. (a) 肺内に移植された肺癌と (b) 顕微鏡写真

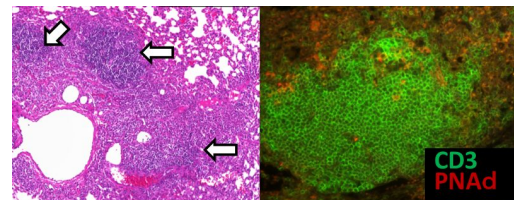


図3：マウス同所肺癌モデルで形成された肺癌周囲リンパ組織：(左) H&E 染色、肺癌組織内部のリンパ組織を矢印で示している。(右) 同リンパ組織の免疫染色。

癌吸入療法による肺癌モデルマウスの生存延長効果

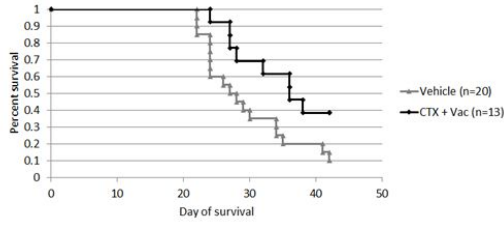


図4 癌吸入ワクチン (Vac) と low-dose cyclophosphamide (CTX)を組み合わせることで、vehicle control とくらべ生存が改善した。

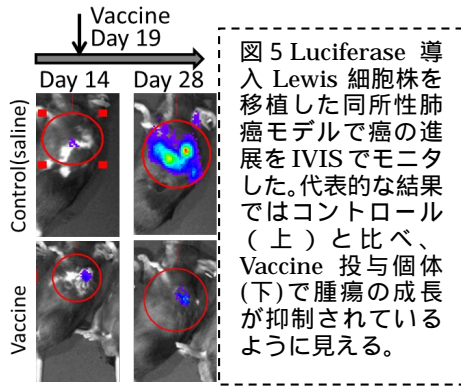


図5 Luciferase 導入 Lewis 細胞株を移植した同所性肺癌モデルで癌の進展をIVISでモニタした。代表的な結果ではコントロール(上)と比べ、Vaccine 投与個体(下)で腫瘍の成長が抑制されているように見える。

肺癌皮下腫瘍モデルにおける、癌吸入療法の腫瘍成長抑制効果

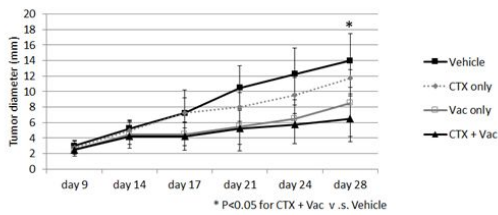


図6：皮下腫瘍モデルでは、CTX 併用癌吸入療法の腫瘍抑制効果がより明らかとなった。

癌吸入療法が抗腫瘍効果を発揮するメカニズム

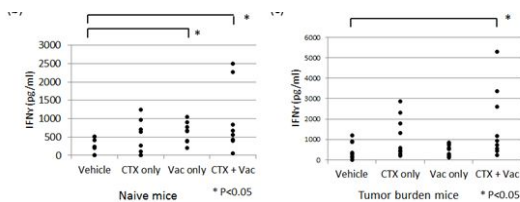


図7：担癌マウスでは、ワクチンだけではIFN- γ の産生(末梢血T細胞)は増加しないが、low-dose cyclophosphamide と組み合わせ

せることで IFN- γ は増加した。

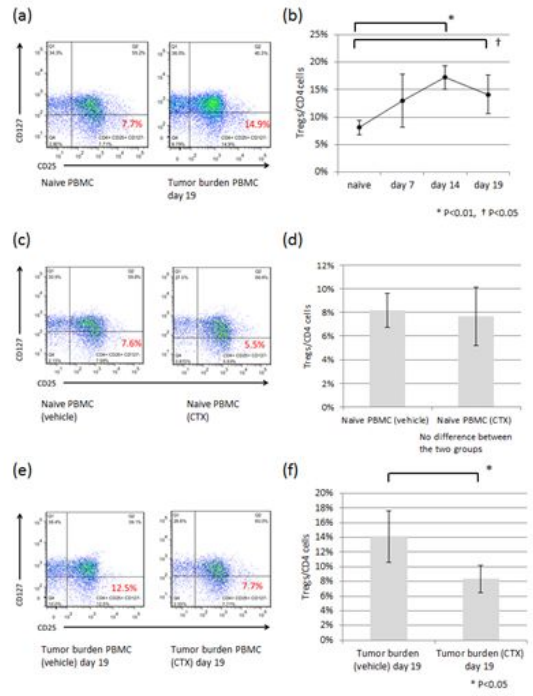


図8：末梢血における制御性T細胞の割合は、担癌マウスにおいては経時的に増加した(a,b)。low-dose cyclophosphamide (CTX)は、naive マウスでは制御性T細胞の割合を変化させなかった(c,d)。肺癌移植後19日目のマウスでは、CTX 投与により有意に制御性T細胞の割合が減少した(e,f)。

結論：本研究により、癌吸入療法、すなわち癌抗原を広く含む癌死細胞と adjuvant は、制御性T細胞を比較的選択的に減少させる低用量 cyclophosphamide と組み合わせることで、より効果的に腫瘍抑制効果を発揮することが示された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Kei Shikuma, Masaaki Sato, Terumasa Sowa, Ei Miyamoto, Takao Nakanishi, Hiroyuki Cho, Shinya Neri, Koji Takahashi, Shigeto Nishikawa, Hideki Motoyama, Naoto Imamura, Toshi Menju, Akihiro Aoyama, Makoto Sonobe, and Hiroshi Date. Cancer cell vaccine inhalation therapy with low-dose cyclophosphamide treatment in a murine lung cancer model: a novel strategy to elicit anti-tumor immunity. 2016 (under submission) 査読有

〔学会発表〕(計 1 件)

Kei Shikuma, Masaaki Sato, Terumasa Sowa,

Hideki Motoyama, Naoto Imamura, Toshi Menju, Akihiro Aoyama, Makoto Sonobe, Hiroshi Date. Cancer inhalation therapy: a novel strategy to elicit anti-tumor immunity in the lung. (2013年10月5日. 日本癌学会.パシフィコ横浜(神奈川県横浜市西区))

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐藤 雅昭 (Sato, Masaaki)
東京大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：00623109

(2) 研究分担者

毛受 暁史 (Menju, Toshi)
京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教
研究者番号：30527081

青山 晃博 (Aoyama, Akihiro)
京都大学・医学(系)研究科(研究院)・助教
研究者番号：60379047