

研究報告書
令和4年度：A課題

2024年 4月 30日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 国立大学法人信州大学

住 所 長野県松本市旭3丁目1番1号

研究者氏名 中村 謙太

(研究課題)

がん関連線維芽細胞が産生する CCL5 と CXCL12 に着目した腫瘍免疫
応答の増強

令和5年 3月 31日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

1. 研究開始当初の背景

近年、悪性腫瘍の治療として免疫療法が注目されている。特に、腫瘍免疫のブレーキを解除する免疫チェックポイント阻害薬は、2014年にメラノーマが認可された後、肺癌、腎癌、頭頸部癌、胃癌など幅広い癌種に適応が拡大された。一方、その奏効率は20-40%に留まり、さらなる治療効果の増強が望まれている。

腫瘍内には、腫瘍や免疫細胞以外に様々な間質細胞が存在する。特に、がん関連線維芽細胞は、線維化によってリンパ球の腫瘍内への浸潤を阻害したり、抑制性サイトカインを産生して腫瘍免疫応答を阻害することがマウスの実験で知られている。私は、がん関連線維芽細胞がCCL5の産生を介して、腫瘍浸潤リンパ球を阻害し免疫チェックポイント阻害薬の効果を減弱することを世界に先駆けて報告した(Nakamura K, et al. J Cancer Res Clin Oncol. 2021)。さらにメラノーマでは血中のCCL5とCXCL12が低いと免疫チェックポイント阻害薬の治療効果が良好であることを報告した(Nakamura K, et al. Arch Dermatol Res. 2021)。マウスの実験では、CCL5は線維芽細胞の線維化形成を促進させ、CXCL12はリンパ球の活性を阻害することが報告されており、がん関連線維芽細胞のCCL5とCXCL12の産生が、腫瘍免疫を抑制することが予想される。

2. 研究の目的

ヒトの臨床症例で解析を行い、がん関連線維芽細胞からのCCL5による線維化やCXCL12の産生によるT細胞の抑制などがヒト検体で生じているか解析し、さらに免疫チェックポイント阻害薬の治療効果との相関を明らかにする。以上の解析を通じて、CCL5やCXCL12の阻害を図ることで、様々ながんで使用される抗PD-1抗体療法の効果増強に結びつけることを目指す。

3. 研究の方法

① 血中ケモカインの測定と腫瘍組織の免疫染色 (線維芽細胞やリンパ球の数や線維化を評価)

進行期メラノーマ症例の検体を用いて、血中のCCL5とCXCL12を測定する。また、免疫染色学的に腫瘍組織中の腫瘍浸潤リンパ球や線維芽細胞の数、また線維化の程度を解析する。この解析は、Vectraのマルチスペクトルイメージングを使用する。

② 腫瘍と末梢血の遺伝子解析

また、腫瘍内と末梢血単核球の遺伝子解析を行う。遺伝子解析により、腫瘍内と血中の免疫細胞や間質細胞の割合の変化や、機能面の解析が可能である。特に、腫瘍内の線維芽細胞は、腫瘍免疫応答を阻害する性質を有することが想定され、治療の標的となりうる。がん関連線維芽細胞のCCL5やCXCL12や免疫抑制サイトカインの産生をRNA発現レベルで解析する。

③ CCL5とCXCL12の阻害による免疫応答改善の可能性の検討

1) 腫瘍組織の免疫染色

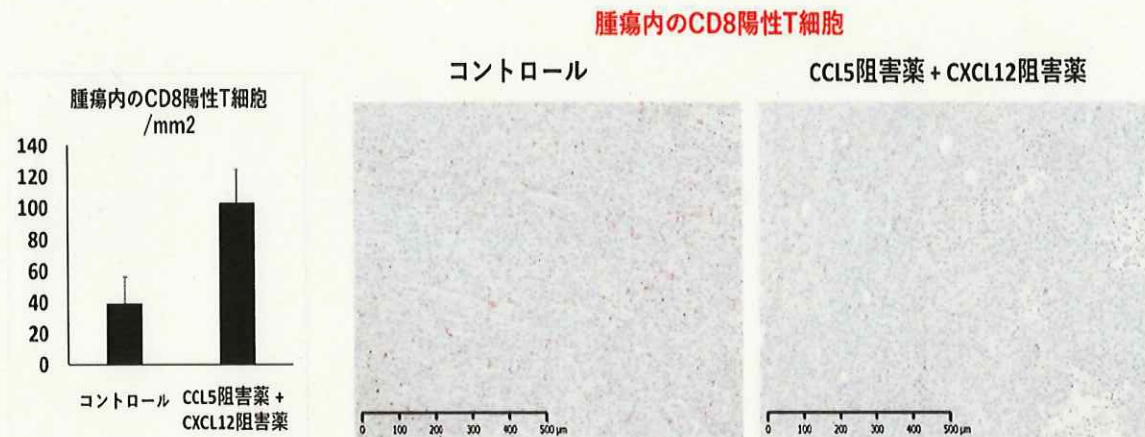
メラノーマを移植したマウスモデルで、CCL5とCXCL12の阻害薬を投与し、腫瘍内の腫瘍浸潤リンパ球など各種免疫細胞の数や線維化を免疫染色で評価する。また、若齢マウスと高齢マウスのそれぞれから回収した線維芽細胞をメラノーマと一緒に移植し、腫瘍内の腫瘍浸潤リンパ球など各種免疫細胞の数や線維化を免疫染色で評価する。

2) 腫瘍抗原特異的T細胞応答の解析と免疫チェックポイント阻害薬の併用実験
免疫チェックポイント阻害薬の併用実験を行い、抗腫瘍効果の増強があるか解析する。腫瘍抗原特異的T細胞応答の解析方法は、過去に報告している通りである(Nakamura K, et al. Cancer Sci. 2018)。本研究は、信州大学動物実験等実施規程に則って実施する。

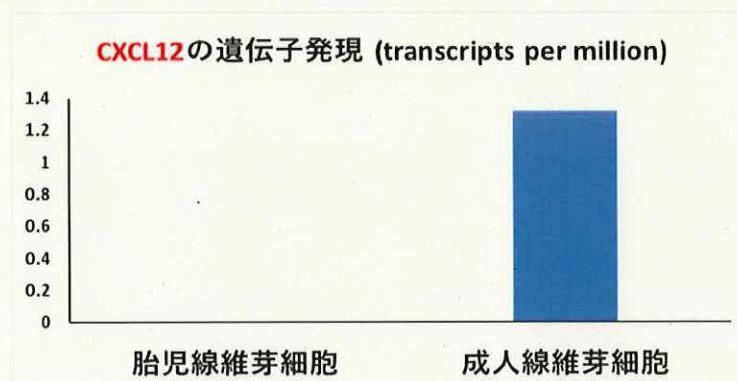
4. 研究成果

私達はメラノーマの症例において、腫瘍浸潤リンパ球が $125/\text{mm}^2$ より多いことが、免疫チェックポイント阻害薬の効果と関連することを私は明らかにしている (Nakamura K, et al. *J Dermatol.* 2022)。また、血中の CCL5 と CXCL12 が低いと免疫チェックポイント阻害薬の治療効果が良好であることを報告した。さらに、がん関連線維芽細胞が CCL5 の産生を介して、腫瘍浸潤リンパ球を阻害し免疫チェックポイント阻害薬の効果を減弱することを世界に先駆けて報告した。

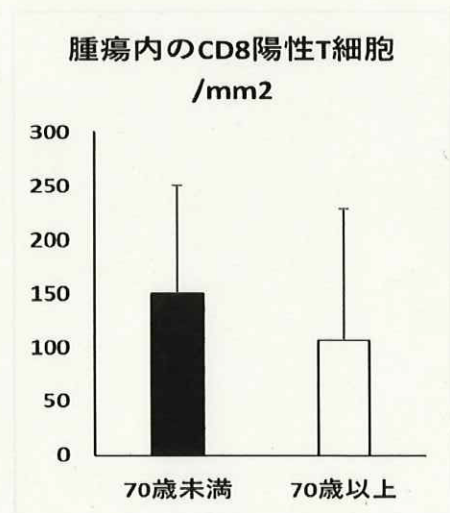
今回、メラノーマを移植したマウスモデルで、抗 CCL5 抗体と CXCL12/CXCR4 阻害薬の投与によって、腫瘍浸潤 CD8 陽性 T 細胞が増加した。



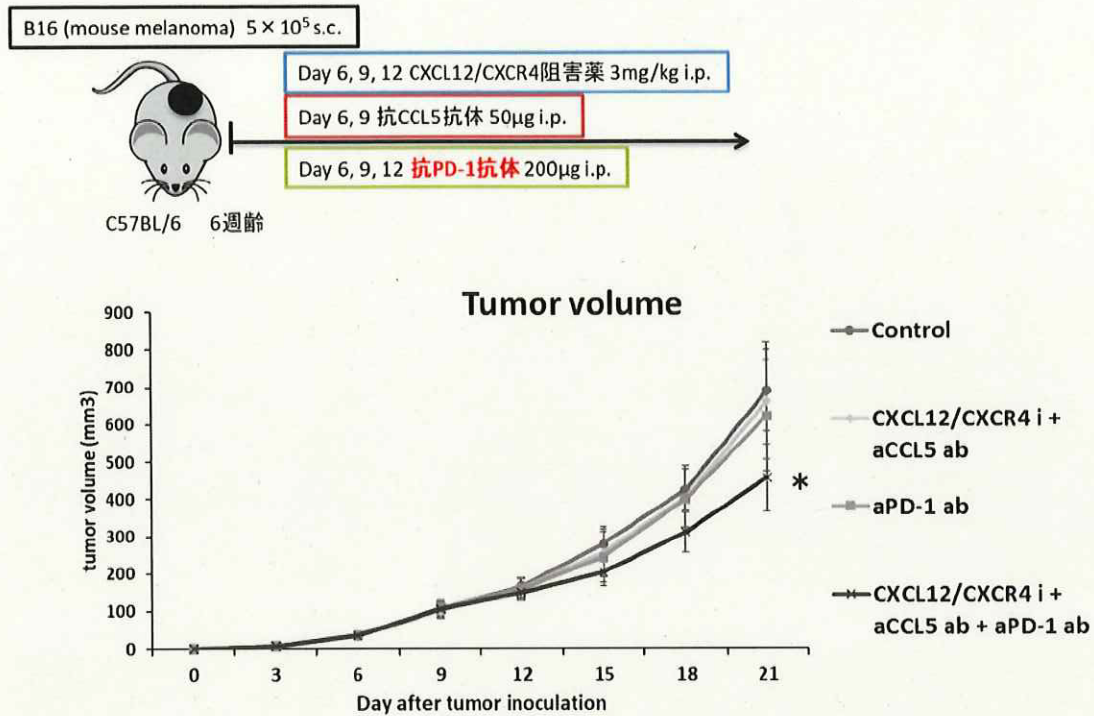
また、市販化されているヒトの皮膚の線維芽細胞の遺伝子発現を解析したところ、加齢に伴い CXCL12 と CCL5 の発現が増加した。



さらに、ヒトのメラノーマの腫瘍組織の解析では、70 歳以上のメラノーマ症例では、70 歳未満に比べて、腫瘍浸潤 CD8 陽性細胞が少なかった。



そこで、メラノーマを移植したマウスモデルで CXCL12/CXCR4 阻害薬と抗 CCL5 抗体と抗 PD-1 抗体の併用群では、腫瘍増殖が有意に抑制された。



以上から、加齢に伴ってがん関連線維芽細胞の産生が増大する CCL5 や CXCL12 を阻害することが、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果改善につながる可能性が示唆された。現在、ヒトの臨床検体を解析中であり、合わせて論文報告を行う予定である。