

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) がんによって巧妙に教育された体内環境を一斉に修正し得るがん根治療法の研究開発
(英語) Development of innovative immunotherapeutics for abolishing the vicious interplay between cancer and immune network
- 研究開発担当者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所 分子細胞治療研究分野
ユニット長 工藤千恵
- 所属 役職 氏名： (英語) Chie Kudo-Saito, Head, Division of Molecular and Cellular Medicine,
National Cancer Center Research Institute
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) がんの複雑性の中に潜む共通分子カスケードを標的とした治療法の確立
開発課題名： (英語) Research and development of new immunotherapeutics
- 研究開発代表者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター 研究所
分子細胞治療研究分野 ユニット長 工藤千恵
- 所属 役職 氏名： (英語) Chie Kudo-Saito, Head, Division of Molecular and Cellular Medicine,
National Cancer Center Research Institute
- 分担研究 (日本語) がんの複雑性の中に潜む核心的生物学的特性の解明とその克服法の確立
開発課題名： (英語) Research on resistance to immunotherapy
- 研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター 研究所
分子細胞治療研究分野 分野長 青木一教
- 所属 役職 氏名： (英語) Kazunori Aoki, Chief, Division of Molecular and Cellular Medicine,
National Cancer Center Research Institute

分担研究 (日本語) がんの複雑性を利用した効率的なアブスコパル効果誘導法の確立
開発課題名: (英語) Development of combination regimens with radiation

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター 先端医療開発センター
免疫療法開発分野 ユニット長 植村靖史
所属 役職 氏名: (英語) Yasushi Uemura, Head, Division of Cancer Immunotherapy, Exploratory
Oncology Research & Clinical Trial Center, National Cancer Center

分担研究 (日本語) がんの複雑性を支持する免疫系を効果的に修復する複合療法の確立
開発課題名: (英語) Development of combination regimens with immunotherapeutics

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人 国立がん研究センター 先端医療開発センター
免疫療法開発分野 分野長 中面哲也
所属 役職 氏名: (英語) Tetsuya Nakatsura, Chief, Division of Cancer Immunotherapy, Exploratory
Oncology Research & Clinical Trial Center, National Cancer Center

II. 成果の概要（総括研究報告）

和文

がんが再発・転移してしまう背景には、がん細胞が元来備えている性質だけでなく、体内環境全体の影響を受けたエピジェネティックな変化が寄与することが知られる。しかしながら、その詳細な分子メカニズムは未だ明らかでない。我々はこれまで、がん細胞は、自らの増殖や転移を積極的に支援するように体内環境、特に、がんを攻撃すべき免疫系を教育して異常化をもたらし、難治性を形成するという分子機構を明らかにしてきた。本研究開発では、その機構の中で中心的役割を果たす分子を標的とした阻害抗体を開発し、様々な相互作用から生じる複雑で多様な負の連鎖反応を根元から遮断することで、がんが教育する体内環境全体を一斉に修復できる従来にない作用メカニズムを示す新しいタイプのがん治療薬の開発を目指す。そのために、1) これまでの基礎研究で見出したその免疫破綻機構ががん患者体内にも存在していることを臨床レベルで明らかにし、2) 将来的な臨床試験を見据えて、様々ながん種のマウス腫瘍モデルで臨床治療に即した様々な治療法を組み合わせた *in vivo* 治療実験により、抗腫瘍効果を最大限に誘導できる至適併用レジメを確立、さらには、3) 同免疫破綻機構で中心的役割を果たす間葉系幹細胞(MSC)を標的とした新たながん治療薬を開発することを計画している。

初年度は、まず、様々ながん種の患者検体を利用できるように病院側との連携体制を構築し、研究倫理審査に申請して承認を受け、実際に入手できた腫瘍組織と血清について免疫染色や ELISA など標的とする免疫破綻制御分子の発現レベルを解析し、患者の診療データ（年齢や性別、生存期間、進行ステージ、転移の有無など）との関係性を統計学的に比較解析した。その結果、そのキー分子の高発現性は肺がん患者の無再発期間と有意に逆相関することを見出し、患者の予後不良因子であることを明らかにした。本分子をターゲットにした治療戦略が臨床レベルでも妥当である可能性を示唆している。一方、臨床解析で高発現が確認されたがん種では、マウス腫瘍細胞株においても高発現であることが分かった。このようなキー分子高発現腫瘍細胞を移植したマウスモデルでは、免疫チェックポイント阻害治療は奏功せず、しかし、キー分子阻害抗体投与による治療では抗腫瘍免疫を効果的に誘導でき、腫瘍の増殖や転移を統計学的有意に抑制できることが分かった。また、その阻害抗体の併用は、免疫チェックポイント阻害剤による治療効果を相乗的に増強できることも分かった。つまり、キー分子の発現レベルを指標にすることによって、治療が奏功する可能性の高い患者を事前に選別して無駄のない治療を提供できる可能性が示唆され、現在課題となっている免疫チェックポイント阻害剤の応答性を解除し得る治療の一つとしても期待できると考えられた。我々はさらに、その阻害抗体療法の最大化を目指し、がん教育された MSC に高発現する分子に対する抗体を新規に作製した。がん関連 MSC は、自己増殖能や多分化能など本来の幹細胞性に加えて、がん細胞に高い増殖性・転移性・治療抵抗性を付与し、宿主免疫を疲弊させるなど、がん進展全般を支持するからである。既に、抗原に強い結合阻害活性を示す抗体産生クローンをいくつか樹立している。以上のように、全ての計画は順調に遂行され、予定を大幅に上回る大きな成果を上げることができた。

英文

Tumor heterogeneity is composed of genetic and phenotypic changes in tumor itself, and also of the consequence of reciprocal evolution together with the tumor microenvironment containing a variety of cells such as stromal cells, vascular cells and immune cells in the host. Imbalanced immunity is one of the major problems of amplifying tumor heterogeneity leading to resistance

to treatments. Many blocking antibodies specific for immune inhibitory checkpoint molecules have been recently developed in clinical settings, and the clinical responses have convinced us of its efficaciousness. However, good results are limited to a part of the treated patients, and additional but distinct strategy is needed for treating patients more efficiently and effectively. We have been investigating the interplay between cancer cells and the host including tumor milieu microenvironment and systemic environment collectively, and previously identified molecular mechanisms involved in immune suppression and dysfunction caused by Snail⁺ cancer stem-like cells. We are now establishing blocking antibody therapeutics specific for the key molecule that plays a central role in the adverse immunity. In this P-CREATE project, we attempt to evaluate the potential of targeting the key molecule (X) in clinical setting. Here, we conduct clinical analysis using patient-derived samples under the protocol approved by the IRB at the National Cancer Center, and also in vivo therapeutic study using mouse tumor models implanted with murine tumor cell lines and many other therapeutics relevant to clinical treatments.

In the first year, we found that X protein expression is upregulated in the tumor tissues and sera of patients with lung cancer by immunohistochemical observation and ELISA titration, and the positivity is significantly correlated with the recurrence-free survival of the patients, suggesting a poor prognostic factor in lung cancer. In the mouse models implanted with murine lung cancer 3LL that also highly express X, treatment with the anti-X blocking mAb, but not immune checkpoint inhibitors such as anti-CTLA4 and anti-PD1 mAbs, significantly suppressed tumor growth and metastasis through preventing amplification of immune suppressors including CD4⁺Foxp3⁺ Tregs and mesenchymal stem/stromal cells (MSCs) resulting in reduction of the consequent CD8⁺PD1⁺Eomes⁺ exhausted CTLs. Blocking X synergistically enhances the therapeutic efficacy induced by immune checkpoint inhibitors in these models. In contrast, the anti-tumor activity is much lower in the models implanted with X-negative or low tumor cells. This suggests that the X positivity in the tumor tissues could define a potential application of the antibody to the patients who are likely to respond to the treatment. As additional strategy for further enhancing anti-tumor activity induced by the treatment, we newly started on development of another antibody therapeutics targeting cancer-associated MSCs, which not only confer higher invasive and metastatic properties on tumor cells, but also impair anti-tumor immunity by generating various immune suppressors. We already established dozens of clones capable of producing IgG specific for the molecule that is highly and functionally expressed in the cancer-associated MSCs.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. KUDO-SAITO C, FUWA T. Targeting ALCAM in the cryo-treated tumour microenvironment successfully induces systemic anti-tumour immunity. *European Journal of Cancer*. 2016, 62:54-61

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Targeting FSTL1 augments therapeutic activity of immune checkpoint inhibitors. 口頭, Chie Kudo-Saito, Yamato Ogiwara, Kazunori Aoki. International Cancer Immunotherapy Conference 2016, 2016/9/28, 国外
2. Blocking FSTL1 reprograms cancer-caused abnormal immunity. 口頭, Chie Kudo-Saito, Masayoshi Toyoura, Yuji Shoya, Akiko Ishida, Ryoko Kon. American Association for Cancer Research Meeting 2016, 2016/4/19, 国外
3. Blocking FSTL1 breaks tumor-supportive vicious circulation. 口頭, Chie Kudo-Saito, Akiko Ishida, Yuji Shoya, Masayoshi Toyoura. 日本癌学会, 2016/10/8, 国内
4. Targeting FSTL1 is a new approach to treatment of pediatric cancers. 口頭, Yamato Ogiwara, Masayoshi Toyoura, Kazunori Aoki, Chie Kudo-Saito. 日本癌学会, 2016/10/6, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし