

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) 抗 PD-1 抗体不応性がん患者に有効な併用治療薬の開発
(英語) Combinational cancer immuotherapy for anti-PD-1 mAb-resistant patients.
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 免疫ゲノム医学
特任教授 本庶佑
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Immunology and Genomic Medicine, Kyoto University
Graduate School of Medicine, Professor Tasuku Honjo
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 代表研究 (日本語) 抗 PD-1 抗体不応性がん患者に有効な併用治療薬の開発
開発課題名： (英語) Combinational cancer immuotherapy for anti-PD-1 mAb-resistant
patients.
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 免疫ゲノム医学
特任教授 本庶佑
- 所属 役職 氏名： (英語) Department of Immunology and Genomic Medicine, Kyoto University
Graduate School of Medicine, Professor, Tasuku Honjo
- 分担研究 (日本語) PD-1 阻害による抗腫瘍効果増強剤のスクリーニングと併用効果の
メカニズム解析
- 開発課題名： (英語) Screening of small molecular chemicals to enhance the anti-tumor
immunity mediated by PD-1 blockade and the analysis of it's
mechanism.

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 免疫ゲノム医学
特定講師 茶本健司

所属 役職 氏名: (英 語) Department of Immunology and Genomic Medicine,
Kyoto University Graduate School of Medicine,
Assistant professor, Kenji Chamoto

分担研究 (日本語) 併用剤による抗腫瘍活性増強効果とメタボリズムの関係解明
開発課題名: (英 語) Relations between augmented-anti-tumor immunity and energy
metabolisms in combination therapy

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人京都大学 大学院医学研究科 疾患ゲノム疫学
教授 松田文彦

所属 役職 氏名: (英 語) Center for Genomic Medicine, Kyoto University Graduate School of
Medicine, Professor Fumihiko Matsuda

II. 成果の概要 (総括研究報告)

(和文)

現在、この抗 PD-1 抗体 (ニボルマブ) を用いた治験は世界中の様々な施設で実施され、その劇的な抗腫瘍効果が世界から注目を集めている。さらにその長期有効性によりがん治療に革命の変革をもたらし、いまなおリンパ腫、胃癌をはじめ様々な原発部位の進行がんにおいて、良好な治療成績が続々報告されている。しかしながら、薬事承認された進行期の悪性黒色腫、肺癌、腎癌、頭頸部癌での治療奏効率は、いずれも 20-30%程度であり、十分な治療効果が認められない患者も多い。近い将来、抗 PD-1 抗体はさらに多くのがん種に承認されることが予想されるため、抗 PD-1 抗体による抗腫瘍免疫反応を増強し、非感受性を克服できる併用治療の開発は急務であり社会的要請も非常に高い。

近年の研究から、PD-1 抗体治療に非感受性の患者では、抗腫瘍免疫の主役であるがん特異的キラー T 細胞が活性化できない状態に陥っていることが明らかになってきた。エネルギー代謝と免疫応答は深く関わっており、その不応答性キラー T 細胞の状態を回復させるには細胞の分裂と活性化に必要なエネルギー代謝の効率を大幅に上昇させる必要がある。平成 28 年度の研究では、T 細胞のエネルギー代謝を司るミトコンドリアを低分子化合物で刺激すると不応答に陥った T 細胞の増殖・サイトカイン産生能力を回復させ、PD-1 抗体治療による抗腫瘍効果を増強できることを動物モデルで実証した (Chamoto et al, PNAS, 114: E761-E770, 2017)。

具体的には、エネルギー代謝関連分子を活性化する様々な低分子化合物を PD-1 阻害抗体と併用し、PD-1 阻害による抗腫瘍効果を増強する薬剤をいくつか同定した (活性酸素発生剤、mTOR 活性化剤、AMPK 活性化剤等)。これらの薬剤の下流シグナル伝達を解析したところ、ミトコンドリアの活性化に重要な PGC-1 α を介したシグナル経路を共有していることが明らかになった。PGC-1 α は様々な転写因子と結合し、ミトコンドリアの酸化的リン酸化や生合成を促進することが知られている。そこで PGC-1 α 結合性転写因子を活性化する低分子化合物に着目し、併用治療モデルを用いてさらに約 20 種

類の薬剤をスクリーニングした。その結果、転写因子 PPAR を活性化させるベザフィブラートが、キラーT 細胞の機能を向上させ、PD-1 阻害による抗腫瘍効果を著しく増強し生存率が改善することが明らかとなった (PD-1 阻害抗体単独：全 5 匹死亡、併用：5 匹中 2 匹完全治癒)。ベザフィブラートは高脂血症薬として処方されているが、本研究にて、我々は世界で初めてミトコンドリアの活性化を介しキラーT 細胞の機能を向上させることを発見した。

平成 28 年度は、一連の研究で PD-1 阻害抗体治療効果を増強できるエネルギー代謝に関連する低分子化合物を幾つか同定した。さらに幅広く PD-1 阻害による抗腫瘍効果を増強できる低分子化合物を同定する予定である。また、副作用が最小になるよう最下流シグナルをターゲットにした PPAR リガンド、ベザフィブラートとの併用治療法を企業に導出する予定である。

(英文)

An immune checkpoint inhibitor, anti-PD-1 antibody has revolutionized the cancer immunotherapy. The PD-1 blockade therapy was approved in melanoma, non-small lung cell carcinoma, head and neck cancer, and Hodgkin's lymphoma. However, over a half proportion of cancer patients are still less responsive. In order to improve the response rate of the patients, developing combination therapy is an urgent task.

Although recent reports have suggested the importance of energy metabolism in regulating the activation and differentiation of T cells, it is totally unknown how energy metabolism in T cells can affect the anti-tumor immunity. Using a mouse cancer immunotherapy model with PD-1 blockade, we found that the mitochondria in tumor-reactive T cells are activated during the tumor regression. Therefore, we hypothesized that control of energy metabolism enhances the anti-tumor immunity by PD-1 blockade. Through the screening of mitochondrial activation chemicals by the PD-1 blockade therapy model in vivo, we demonstrated that mitochondrial uncouplers enhance the efficacy of PD-1 blockade therapy mediated by reactive oxygen species (ROS) with the expansion of effector/memory CTLs in tumor draining lymphnode (DLN) and within the tumor. Uncoupler signaling also promoted the Th1 type immunity because uncouplers enhanced the IFN- γ production and T-bet in CTLs. Interestingly, uncoupler signaling activates the both competitive energy sensors AMPK and mTOR in total CD8⁺ T cells of DLN. This was due to the different regulation of AMPK and mTOR in different CTL populations, memory and effector CD8⁺ T cells, respectively. Both activations were necessary for full augmentation of PD-1 blockade therapy even though these chemicals alone had no effect on tumor growth. Since peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha (PGC-1 α) is a common downstream signal molecule of mTOR and AMPK, and plays an important role in mitochondrial biosynthesis, fatty acid β -oxidation and oxidative phosphorylation, we next investigated the activation status of PGC-1 α during the combination therapy. The protein and transcriptional levels were upregulated by the stimulation of uncouplers, AMPK activator and mTOR activator along with PD-blockade in the DLN CD8⁺ T cells. Subsequent screening of chemicals regulating PGC-1 α -associated transcriptional factors revealed that Bezafibrate, which is an activator of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR), augmented anti-tumor efficacy and improved survival rates. While Bezafibrate is used as an anti-hyperlipidemia in the clinic, it is the first time to demonstrate the role of Bezafibrate to activate

mitochondria and killer T cell function (Chamoto et al, PNAS, 114: E761-E770, 2017).

We will further conduct the screening of low molecular chemicals that augment the efficacy of the PD-1-blockade therapy from the other aspects. As the one of the readouts of this study, the clinical trials of combination therapy along with Bezafibrate is planned.

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 3 件)

1. Iwai Y, Hamanishi J, Chamoto K (three are equally contributed), Honjo T. Cancer immunotherapies targeting the PD-1 signaling pathway. J Biomed Sci. (2017) 24:26. doi: 10.1186/s12929-017-0329-9. Review
2. Chamoto K, Chowdhury PS, Kumar A, Sonomura K, Matsuda F, Fagarasan S, Honjo T. Mitochondrial activation chemicals synergize with surface receptor PD-1 blockade for T cell-dependent antitumor activity. Proc Natl Acad Sci U S A. (2017) 114:E761-E770.
3. Minato, N. and Honjo, T. Cancer Immunotherapy by Checkpoint Blockade. Chapter 29 Second Edition of the Vaccine Book. Academic Press. (2016)

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Tasuku Honjo, Cancer immunotherapy by blockade of the lymphocyte surface receptor PD-1 Lecture at SALK Institute 2017/3/13 国外 (San Diego, USA)
2. Tasuku Honjo, Serendipities of acquired immunity Kyoto Prize Symposium in San Diego 2017/3/15 国外 (San Diego, USA)
3. Tasuku Honjo, Cancer Immunotherapy by combination of small molecules with PD-1 blockade 「免疫多様性とがん治療」国際シンポジウム 2016/1/26 国内 (神戸)
4. 本庶 佑, 免疫力でがんを治す 慶應医学賞 受賞記念講演 2016/12/1 国内 (東京)
5. Tasuku Honjo, Cancer Immunotherapy by PD-1 blockade. SFI2016 "50" Plenary Lecture 2016/11/28 国外 (Paris, France)
6. 本庶 佑, 免疫力の再興 京都賞記念ワークショップ 2016/11/12 国内 (京都)
7. 本庶 佑, 獲得免疫の驚くべき幸運 京都賞受賞記念講演 2016/11/11 国内 (京都)
8. Tasuku Honjo, Cancer Immunotherapy by PD-1 blockade 大阪大学免疫学フロンティア研究センター国際シンポジウム 2016/11/1 国内 (大阪)
9. Tasuku Honjo, Cancer immunotherapy by PD-1 blockade TMC/TACT 2016 Plenary Lecture 2016/10/28 国外 (Taipei, Taiwan)
10. Tasuku Honjo, Cancer Immunotherapy by PD-1 blockade 5th International Symposium on Regulators of Adaptive Immunity 2016/9/11 国外 (Erlangen, Germany)
11. 本庶 佑, PD-1 抗体によるがん治療 第3回 KUIP シンポジウム 2016/7/9 国内 (京都)

12. **茶本健司** T細胞のエネルギー代謝とPD-1抗体の抗腫瘍効果 (2016) 第5回日本免疫・細胞治療学会学術総会、シンポジウム、12月3日 秋葉原UDX
13. **Chamoto K.** Mitochondrial modulation improves PD-1 blockade cancer immunotherapy. (2016) 京都賞ワークショップ、京都国際会館 11月12日
14. **茶本健司** PD-1を標的とした免疫チェックポイント阻害療法 (2016) 第78回日本血液学会学術集会、教育講演、パシフィコ横浜 10月13日
15. **Chamoto K,** Chowdhury PS, Honjo T. Mitochondrial activation of comprehensive tumor-specific CTLs during PD-1 blockade therapy. (2014) The 75th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, International Session. Oct 8. Yokohama
16. **茶本健司** 抗PD-1抗体の開発とがん免疫治療の進展 第52回姫路市医師会夏季大学講演会 (2016)、姫路、兵庫、7月24日
17. **Chamoto K,** Chowdhury PS, Honjo T. Priming CD8⁺ T cells in DLN accelerates the accumulation of CTLs in tumor sites via MIG/CXCR3 axis in PD-1 blockade therapy. (2016) 第20回日本がん免疫学会 (口頭)、大阪国際交流センター 7月28日
18. **茶本健司** T細胞のエネルギー代謝によるPD-1阻害がん免疫治療の増強効果 (2017年3月27日) 奈良先端科学技術大学院大学、招待講演 (石田靖雅先生)
19. **茶本健司** 抗PD-1抗体治療の開発とがん免疫治療の進展 (2017年2月23日) 大阪大学大学院医学系研究科附属最先端医療イノベーションセンター1F マルチメディアホール (高島成二先生、HMT)
20. **茶本健司** 抗PD-1抗体治療の開発とがん免疫治療の進展 (2017年2月15日) 九州大学大学院医学研究科脳神経外科、招待講演 (飯原弘二先生)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. **本庶 佑** 免疫力でがんを治す「免疫多様性とがん治療」国際シンポジウム 市民公開講座 2017/1/28 国内 (神戸)
2. **本庶 佑** 免疫力でがんを治す 千里ライフサイエンス振興財団地域イノベーション成果報告会 2017/1/18 国内 (大阪)
3. **本庶 佑** 免疫力でがんを治す 京都賞高校フォーラム 2016/11/14 国内 (京都)
4. **本庶 佑** PD-1阻害によるがん治療 免疫学会免疫サマースクール 2016/7/12 国内 (函館)
5. 本研究の取り組みと論文内容の紹介、**本庶 佑** 2016/9/28 朝日新聞 朝刊 13面 オピニオン&フォーラム 世紀の新薬未来へ
6. 本研究の取り組みと論文内容の紹介、**本庶 佑** 2016/9/25 朝日新聞 朝刊 31面 科学の扉 日本発 がん新薬
7. 本研究の取り組みと学会発表の内容の紹介、**茶本健司**、2016年10月18日日経産業新聞 8面：がん研究最前線
8. 本研究の取り組みと論文内容の紹介、**茶本健司**、2016年12月22日 日経産業新聞 8面：次世代の先導者
9. 論文内容の紹介、**茶本健司**、**本庶佑**、2017年1月17日 朝日新聞 (1月17日 3面)
10. 論文内容の紹介、**茶本健司**、**本庶佑**、2017年1月17日 京都新聞 (1月17日 26面)
11. 論文内容の紹介、**茶本健司**、**本庶佑**、2017年1月17日 日刊工業新聞 (1月17日 23面)

12. 論文内容の紹介、茶本健司、本庶佑、2017年1月17日 産経新聞（1月17日 26面）
13. 論文内容の紹介、茶本健司、本庶佑、2017年1月17日 日本経済新聞（1月17日 34面）
14. 論文内容の紹介、茶本健司、本庶佑、2017年1月17日 毎日新聞（1月17日 4面）
15. 論文内容の紹介、茶本健司、本庶佑、2017年1月17日 読売新聞（1月17日 33面）

（4）特許出願

公開対象なし