

論文内容の要旨

A combination of check-point blockade and α -galactosylceramide elicits long-lasting suppressive effects on murine hepatoma cell growth in vivo

チェックポイント阻害薬と α -ガラクトシルセラミドの併用療法による

マウスモデルにおける肝細胞癌の長期抑制効果

日本医科大学大学院医学研究科 微生物学・免疫学
大学院生 石井 一史

【背景】

癌治療において最も重要な細胞は、癌細胞を特異的に認識排除する細胞障害性 T 細胞 (CTL) である。CTL による癌治療を阻害するものとして、癌細胞上に発現している PD-L1 分子と CTL 上に発現している PD-1 分子による相互抑制機構がある。この相互抑制は、抗 PD-1 抗体あるいは抗 PD-L1 抗体を用いることで解除され、CTL は腫瘍細胞を攻撃排除することになるが、実際は必ずしも治療が奏効するとは限らない。その要因の一つとして、我々は以前、マウス肝細胞癌細胞株 (Hepa1-6-1) 細胞を移植し誘導した、腫瘍塊内の樹状細胞 (DC) が特異的 CTL を誘導できない寛容状態 (tolerogenic DC) になっていることを突き止めた (Harimoto et al., 2013)。

申請者らは DC 上に発現した脂質抗原提示分子である CD1d 分子をその特異的リガンドである α -galactosylceramide (α -GalCer) で活性化できることをこれまでに報告したが (Kogo et al., 2017)、本研究では、 α -GalCer と抗 PD-1 抗体を併用することでさらに DC の機能が向上し、抗腫瘍効果が増大するか検討した。

【方法】

C57BL/6 (B6) マウス、あるいは CD1d 分子欠損 (CD1d^{-/-}) マウスに同系腫瘍である Hepa1-6-1 細胞 1×10^7 個を腹部に皮下注射し、随時、増殖する腫瘍塊、傍リンパ節、脾臓内の細胞の特徴を、Flow cytometry, CTL assay, ELISA にて確認した。また、抗 PD-1 抗体や α -GalCer、これらの併用療法による腫瘍抑制効果の違いを比較検討した。

【結果】

腫瘍移植後 7 日目を境に NK 細胞は減少傾向となったが、腫瘍塊内の PD-1⁺CD8⁺CTL 数は経時的に増大した。一方、腫瘍移植後 5, 10, 15 日目に抗 PD-1 抗体を投与したところ、抗 PD-1 抗体 100 μ g/mouse にて腫瘍抑制効果が確認できたが、この腫瘍抑制効果は、CD8 β ⁺T 細胞を除去したマウスモデルでは認めなかったことから、特異的 CD8⁺CTL の活性化による腫瘍抑制効果であることを確認した。

次に、tolerogenic DC を α -GalCer にて活性化させ、その影響を検討した。Hepa1-6-1 細胞と共培養し tolerogenic DC 化させた DC を、in vitro で α -GalCer とともに培養したところ CD80, CD86 分子の発現が増強された免疫原性樹状細胞 (immunogenic DC) に変換され大量の IL-12 が放出された。しかしながら、抗 PD-1 抗体を投与しても、tolerogenic DC は immunogenic DC に変換させることはできなかった。

また、我々は α -GalCer の in vivo での腫瘍増殖抑制効果を、Hepa1-6-1 移植 B6 マウスモ

デルで長期に亘り確認することができたが、抗 PD-1 抗体を投与することでは腫瘍抑制効果は認められなかった。それに対して、 α -GalCer による腫瘍抑制効果は、腫瘍移植後 40 日を境に再び増大傾向を示したが、抗 PD-1 抗体と α -GalCer 併用群では、腫瘍は減少傾向をたどり、腫瘍移植後 36 日以降には腫瘍は完全に消失し、その効果は長期に亘り続いた。さらに、この併用効果は、抗 PD-1 抗体投与量を 1/10 量である 10 μ g に減量しても認められた。

一方、Hepa1-6-1 腫瘍を移植した CD1d^{-/-}マウスを用いて、同様に α -GalCer の効果を観察したところ、 α -GalCer による腫瘍抑制効果は全く認められなかった。この結果から、CD1d を介した α -GalCer による刺激により樹状細胞が活性化することの重要性が示された。

【考察】

これら一連の結果から、NK 細胞は腫瘍増殖の初期には関与するが、その後の長期抗腫瘍効果を示すには、腫瘍内に存在する tolerogenic DC を immunogenic DC に変換し、腫瘍特異的 CD8⁺CTL を誘導することが必要不可欠であることが分かった。さらに腫瘍特異的 CD8⁺CTL 上の PD-1 分子と Hepa1-6-1 細胞上の PD-L1 分子の相互関係を断ち切ることで、より効率の良い腫瘍抑制効果が示されたことから、抗 PD-1 抗体と α -GalCer の併用療法の優位性が示された。しかも、CD1d 分子を介した刺激の併用により、抗 PD-1 抗体の投与量を 90% も減量できることが判明した。

また、メラノーマ細胞を移植した B6 マウスでも、抗 PD-1 抗体と α -GalCer の併用療法の優位性を示すことができた。このことから、CD1d 分子からの脂質抗原分子を介した刺激による DC の活性化は、今後の癌治療における新たな治療方針の一つとして提案できる。