

論文内容の要旨

腫瘍溶解性ウイルスと免疫チェックポイント阻害剤を併用した子宮頸がんに対する新規治療法の検討

(村上一行, 利部正裕, 佐々木裕, 川村花恵, 川村英生, 吉野直人, 村木靖, 杉山徹)
(岩手医学雑誌 68 巻, 2 号 平成 28 年 6 月掲載)

I. 研究目的

子宮頸がんは世界の女性のがんの中で乳がんに次いで二番目に多く、日本国内では年間約 1 万人が発症し、約 2,700 人が死亡している。子宮頸がんの治療法は他の癌腫と同様に、手術療法・放射線療法・化学療法が中心であるが、手術不能例の進行子宮頸がんに対する放射線療法と化学療法の併用は一定の効果はみられるものの十分とはいえず、新規治療法の開発が必要と考えられている。進行子宮頸がんの治療効果の向上を目的として、子宮頸がんモデルマウスを用いて、腫瘍溶解性単純ヘルペスウイルス (T-01) と免疫チェックポイント阻害剤 (抗 CD274 抗体) の同時投与による併用療法の効果を検討した。

II. 研究対象ならび方法

1. C57BL/6N_Jc1 マウスに、ヒトパピローマウイルスの腫瘍抗原 E6/E7 を発現する株化細胞 TC-1 を皮下移入し、子宮頸がんモデルマウス (以下モデルマウス) を作製した。人道的エンドポイントは、腫瘍体積が 1,500mm³ を超えた場合に設定した。
2. 免疫チェックポイント阻害剤の標的分子探索のため、継代培養中の TC-1 細胞、モデルマウスの腫瘍細胞および脾臓内の樹状細胞に発現する免疫調節分子 (CD80, CD86, CD273, CD274, CD275) の発現をフローサイトメトリーで解析した。
3. モデルマウスを 5 つの治療群 (T-01 単独, T-01+抗 CD274 抗体併用, T-01+アイソタイプ抗体併用, 抗 CD274 抗体単独, PBS) に分け、TC-1 細胞移入後 30 日まで経時的に腫瘍径を測定し、各治療法の抗腫瘍効果を比較した。
4. モデルマウスの腫瘍組織に浸潤した腫瘍特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) および T-01 特異的 CTL をそれぞれテトラマーアッセイで解析した。
5. T-01 の抗腫瘍効果を検討するため、モデルマウスの腫瘍組織中の T-01 をブラック法により定量した。
6. 活性化リンパ球に対する T-01 の細胞傷害性を比色法により測定した。

III. 研究結果

1. 継代培養中の TC-1 細胞およびモデルマウスに生じた腫瘍細胞には CD80 および CD274 が発現し, CD86, CD273, CD275 は陰性であった. また, モデルマウスの脾臓内の CD80⁺, CD86⁺樹状細胞の比率は漸減したのに対し, CD274⁺樹状細胞の比率は高値を維持していた. そこで, 免疫チェックポイント阻害剤の標的分子を CD274 と決定した.
2. T-01 単独群および抗 CD274 抗体単独群では共に腫瘍体積の増大が抑制されたが, 抑制効果は抗 CD274 抗体単独群の方がより顕著であった. 抗 CD274 抗体は免疫チェックポイント阻害剤として有効であると示唆された.
3. さらに良好な治療効果を期待し, T-01+抗 CD274 抗体併用療法を検討した. T-01 単独群に比べ有意に腫瘍体積の増大が抑制されたものの, 抗 CD274 抗体単独群を上回る効果は認められなかった.
4. 抗 CD274 抗体単独群の腫瘍組織中の腫瘍特異的 CTL の比率は, T-01 単独, T-01+アイソタイプ抗体併用, PBS のいずれの群よりも有意に高かった. 抗 CD274 抗体の投与が腫瘍組織中の腫瘍特異的 CTL の減少を抑制していることが示唆された.
5. T-01+抗 CD274 抗体併用群の腫瘍組織中の腫瘍特異的 CTL の比率は, 抗 CD274 抗体単独群と同程度に保たれていた. しかし T-01 単独群に比べ, 腫瘍組織中の T-01 特異的 CTL は高値を示し, かつ腫瘍組織中の T-01 量も 3 分の 1 程度に減少していた.
6. ナイーブマウスの脾臓から分取したリンパ球を PHA で刺激すると, PHA 非刺激のリンパ球と比較して, T-01 による細胞傷害性が有意に増強していた.

IV. 結 語

T-01+抗 CD274 抗体の併用療法は T-01 単独療法に比べ顕著な腫瘍増大抑制効果を認めたが, 抗体単独療法とは有意差を認めなかった. 本モデルマウスにおいて腫瘍細胞が傷害される機序は, i) 腫瘍細胞内で T-01 が増殖することによる破壊および ii) 腫瘍特異的 CTL による腫瘍細胞の傷害であり, T-01 単独療法では i) が, 抗 CD274 抗体単独療法では ii) が, それぞれ腫瘍増大の抑制に寄与すると考えられた.

T-01+抗 CD274 抗体の併用療法の腫瘍組織においては T-01 特異的 CTL 数が増加しており, T-01 量も T-01 単独療法に比べ減少していた. このことから, 抗 CD274 抗体の併用が T-01 数を減らし, その腫瘍細胞傷害効果を減弱させたと推測された. さらに, T-01+抗 CD274 抗体併用療法の腫瘍組織においては, 腫瘍特異的 CTL が T-01 により破壊されてしまう可能性が示唆された. これらの結果から, T-01 と抗 CD274 抗体の同時投与による併用療法は, i) と ii) の効果が干渉してしまうと考えられ, 投与時期を検討することでより効果的な併用療法が期待できると推察された.

文審査の結果の要旨

論文審査担当者

主査 教授 菅井 有 (病理診断学講座)
副査 准教授 石田 和之 (病理診断学講座)
副査 講師 庄子 忠宏 (産婦人科学講座)

進行子宮頸がんの治療効果の向上を目的として、子宮頸がんモデルマウスを用いて腫瘍溶解性ウイルス (T-01) と免疫チェックポイント阻害剤 (抗 CD274 抗体) の同時投与による併用療法を検討した。併用療法は T-01 単独療法に比べ有意な腫瘍増大抑制効果を認めしたが、抗体単独療法とは有意差を認めなかった。併用療法の抗腫瘍効果が、抗体単独群と比べ高まらなかった理由を解明するために、腫瘍組織中の腫瘍抗原特異的 CTL は併用療法と抗体単独療法共に、未治療のマウスより増加した。しかし併用療法では、抗体が T-01 に対する CTL も増加させ、腫瘍組織中の T-01 量は T-01 単独療法に比べ減少していた。そのため併用療法における T-01 の効果が減弱したと考えられた。一方 T-01 は活性化リンパ球を傷害し、抗腫瘍免疫の低下が示唆された。それぞれの単独投与では共に有意な抑制効果があるが、併用は互いの作用が相殺されてしまうため、併用療法の効果が高まらなかったことが示された。今後は投与間隔の変更などにより有用性が期待される可能性があり、更なる検討を行うべきと考えた。

本論文は子宮頸がんの新規治療法として、腫瘍溶解性ウイルスと抗 CD274 抗体の有効性を示しており、学位に資する研究である。

試験・試問の結果の要旨

実験方法、実験結果の解釈、実験結果の考察について試問を行い、適切な解答を得た。加えて子宮頸がんの免疫療法についても十分な知識を有している。学位に値する学識を備えていると考える。

参考論文

1) トレハロース誘導体の粘膜アジュバント活性：経鼻免疫を行ったマウスでの液性免疫増強効果の検討

(川村 花恵, 他 7 名と共著).

岩手医学雑誌 68 巻, 2 号.

2) Clinical efficacy of nedaplatin-based concurrent chemoradiotherapy for uterine cervical cancer: a Tohoku Gynecologic Cancer Unit Study

(利部 正裕, 他 19 名と共著).

Int J Clin Oncol