

2021 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	骨髄腫環境下における抑制性樹状細胞の解析 —多発性骨髄腫における腫瘍特異的免疫抑制の克服に向けて—
キーワード	① 多発性骨髄腫、②腫瘍免疫、③腫瘍微小環境

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏名	イシバシ マリコ 石橋 真理子
配付時の所属先・職位等 (令和3年4月1日現在)	日本医科大学 微生物・学免疫学分野 助教
現在の所属先・職位等 (令和4年7月1日現在)	日本医科大学 微生物・学免疫学分野 助教
プロフィール	博士課程修了後の2011年4月から日本医科大学血液内科のポスト・ドクター、2017年10月からは日本医科大学微生物学・免疫学分野の助教として、一貫して造血器腫瘍の研究に従事してきました。特に、「多発性骨髄腫の増悪化機構と腫瘍免疫の解明」に関して研究を行い、多数の学術論文を発表してきました。また、グラクソ・スミスクライン GSK ジャパン研究助成(2022年)等の研究費を複数獲得しています。今後は、更に、次へと研究を繋げ、発展させ、骨髄腫のみならず、腫瘍微小環境における腫瘍免疫抑制の機序を明らかにし、腫瘍微小環境の改善を目指した治療戦略の確立に向けて、精力的に研究活動を行ってまいります。

1. 研究の概要

多発性骨髄腫は、形質細胞(抗体産生細胞)由来の腫瘍細胞が、骨髄でクローナルに増殖するのに伴い、骨病変、腎障害、血球減少等の多彩な臓器障害を特徴とするきわめて予後不良な造血器腫瘍である。骨髄腫の病態進展には、遺伝子異常の蓄積だけでなく、骨髄腫微小環境における免疫異常が強く関与している。特に、骨髄微小環境では免疫抑制細胞等によりT細胞免疫疲弊が強く誘導されていることが報告されている。しかしながら、T細胞疲弊に関して不明な点が多い。そこで、本研究課題では、T細胞免疫の司令塔である『樹状細胞』に着目し、骨髄腫環境下における樹状細胞の特性と機能を解析し、腫瘍特異的免疫異常が誘導される機序の解明を行った。

2. 研究の動機、目的

これまで申請者は、骨髄腫患者の骨髄腫細胞(腫瘍細胞)に免疫チェックポイント分子PD-L1が高発現し、腫瘍特異的免疫を抑制するとともに、骨髄腫細胞の増悪化に強く関与することを明らかにし、治療標的として有用なことを示してきた[Leukemia 2013; Cancer Immunology Research 2016]。しかしながら、実際の臨床試験において骨髄腫に対するPD-1抗体単独治療の有用性は認められなかった。この理由の1つとして、骨髄腫環境下において腫瘍特異的細胞傷害性T細胞(CTL)が誘導されていないことが考えられた。つまり、骨髄腫特異的免疫がもともと抑制されているため、PD-1抗体治療してもT細胞免疫が回復しなかった

と推察された。そこで、骨髄腫患者の骨髄における樹状細胞のうち、特に、腫瘍特異的 CTL を惹起する機能をもつ通常型樹状細胞 1 型 (conventional type 1 DC; cDC1; CD11c+HLA-DR+CD141+) の割合を検討した。その結果、cDC1 の割合が健常コントロールと比較し、有意に低下していることを明らかにした。更に、治療後完全寛解を維持している一部の骨髄腫患者では、cDC1 の割合がコントロール群と同等に回復していた。つまり、長期完全奏功には、cDC1 の回復が必要なことを示唆している。更に、骨髄腫環境下の樹状細胞は未熟様形質とともに、免疫抑制を誘導する形質を有する抑制樹状細胞に変換されていることを *in vitro* 解析で示した。それら樹状細胞は腫瘍特異的 CTL を誘導する能力が欠如しているため、腫瘍特異的に骨髄腫細胞を排除できないと推察される。以上のことから、骨髄腫環境下の樹状細胞の機能不全を解決し、腫瘍特異的免疫を惹起する方法が明らかにできれば、長期完全奏効、さらに治癒を目標とした治療戦略の構築に繋がれると考え本研究を着想した。そこで、**本研究課題では、抑制性樹状細胞の誘導機序とその機能について解明することを目的とした。更に、抑制性樹状細胞から骨髄腫特異的免疫を惹起できる樹状細胞(免疫原性のある樹状細胞)へと変換する因子を同定することを目標とする。**

3. 研究の結果

まず、ヒト末梢血から分化誘導した単球由来樹状細胞を骨髄腫細胞と共培養を行った。その結果、骨髄腫微小環境下の樹状細胞は数の低下とともに、共刺激分子と成熟マーカーの発現が有意に低下していた。一方、ARG1 や NOS2、IL-10 といった免疫抑制性因子の発現が亢進し、T 細胞免疫を抑制した。このことから、骨髄腫微小環境における樹状細胞は未熟様形質を有している一方、免疫抑制性の形質を獲得していた。骨髄腫微小環境下の樹状細胞では、通常のエネルギー産生であるグルコース代謝が低下していたが、ミトコンドリア代謝によるエネルギー代謝にシフトすることによって、未熟様形質でも生存が維持されていた。

次に、骨髄腫微小環境下における抑制性樹状細胞の誘導機序の検討を行った。骨髄腫微小環境では、骨髄腫細胞の代謝で産生される乳酸とプロトンによって酸性環境が誘導されていた。この条件下では、樹状細胞はプロトン感知センサー TDAG8 を介して mTOR と ERK シグナル経路が抑制され、抑制性樹状細胞へと変換された (図 A)。

更に、骨髄腫細胞から産生される酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD⁺) が CD38-CD203a-CD73 経路を介してアデノシンに変換され、骨髄腫微小環境ではアデノシン濃度が増加する。アデノシン添加培養により樹状細胞は、アデノシン受容体 2A を介して NF-κB シグナル活性が抑制されて抑制性樹状細胞へと誘導された (図 B)。

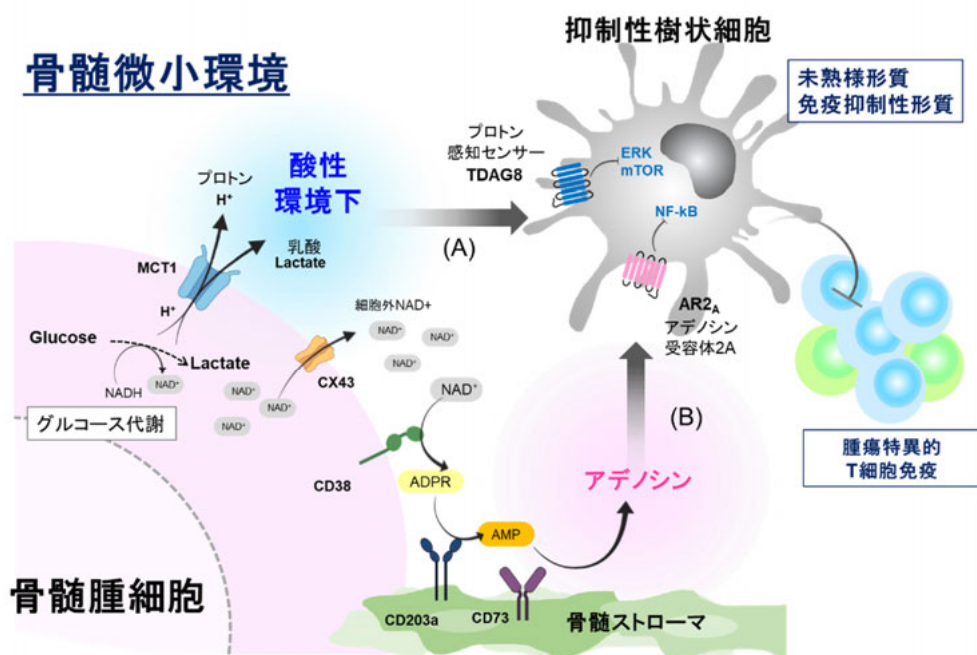


図: 骨髄腫微小環境下の抑制性樹状細胞の誘導

これまでの解析において、骨髄腫微小環境における代謝産物により樹状細胞が抑制性樹状細胞に変換され、T細胞による抗骨髄腫免疫の惹起が抑制されていることを明らかにした。

現在は、抑制性樹状細胞の特性を詳細に捉えるために、RNAシーケンス解析を進めている。この網羅的遺伝子解析により、抑制性樹状細胞の変換に関わる因子を同定する。同定した因子が、マウス骨髄腫モデルを使用して実際に抑制性樹状細胞の変換に関連するのかが検討していく予定である。最終的には、骨髄腫微小環境下の抑制性樹状細胞の再活性化を介した骨髄腫特異的な免疫を惹起する新規治療法の開発、または、治療戦略の構築を目指していく。

4. 研究者としてのこれからの展望

今まで、患者検体を用いた臨床研究における疑問をテーマにして、基礎研究を行ってきた。これまでの基礎研究経験、成果、業績を総合し、今後は、モデル動物を使用した解析、遺伝子発現解析、蛋白質解析、更に、脂質代謝、エネルギー代謝、糖代謝などの代謝経路解析などの様々な新しい手法を用いて、幅広い視野で腫瘍免疫の研究を発展していきたいと考えている。我々の研究も含めて、抗腫瘍免疫抑制の機序を明らかにできれば、腫瘍微小環境における効果的な免疫応答の誘導に繋がり、抗がん剤治療後の微小残存病変を免疫で効率よく排除でき、再発予防だけでなく生命予後も延長することができることが期待できる。このため、研究成果を積み上げて、腫瘍微小環境の改善を目指した治療戦略の確立に繋げられる研究、更には、臨床と基礎を繋げられる研究を今後も行っていきたいと思っている。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は貴事業団 2021 年度若手・女性研究者奨励金助成に採択して頂き、心より御礼申し上げます。今回の研究課題『骨髄腫環境下における抑制性樹状細胞の解析』の研究で得られた成果により、2022 年度第 47 回日本骨髄腫学会学術集会において、演題題名「Metabolic factors in myeloma microenvironments promote tolerogenic phenotypes in dendritic cells」がプレナリー賞に選出されました（下写真）。また、2022 年 8 月にロサンゼルスで開催される 19th International Myeloma Workshop の Travel Award も受賞することができました。これらを受賞することができたのも、ひとえに 2021 年度若手・女性研究者奨励金助成のおかげでございます。心より感謝申し上げます。今後はこれを励みに、社会に還元できるような研究を行っていきたいと思っています。

