

がん転移を抑制する自然免疫阻害薬の開発研究

丸 義朗

東京女子医科大学 薬理学教室

【研究の背景】

がん微小環境が保有する炎症はこれまでのがん治療を困難にしてきた。本来生体のもつ免疫力の低下、がん細胞における薬物抵抗性や転移能の獲得、などがこの炎症によって引き起こされるからである。これらの大変な臨床的問題を、我々がこの10年間で明らかにしてきたToll様受容体4(TLR4)依存型のがん炎症という、新しい視点に立つがん炎症を阻止することにより解決する可能性がある。TLR4依存型のがん炎症の抑制を可能にする薬剤は、転移性がんに対する有効な自然免疫阻害薬としての可能性が期待される。

【目的】

TLR4 内因性リガンドは炎症惹起により、がんの増悪化、転移前ニッチ形成に関与することから、TLR4 内因性リガンド機器阻害薬は、新規がん治療薬として期待できる。本研究では、TLR4 内因性リガンドのうち、S100A8 に注目し、S100A8 とその受容体の一つである TLR4/MD-2 受容体複合体との結合を阻害する低分子化合物を同定することを目的とする。

【方法】

1. ウサギポリクローナル抗体の作製

His タグ S100A8 リコンビナントタンパク質を大量精製し、日本白色種2羽の背部皮下に免疫感作し、抗体力値を 7、14 日目に測定する。さらに、追加免疫を行い、抗体力値が十分上昇した時点で、抗血清を得る。IgG 画分を protein A-Sepharose にて精製する。

2. S100A8 と TLR4/MD-2 結合をモニタリングする ELISA 系の構築

スクリーニングに用いるリコンビナントタンパク質は、タグ無しの高純度タンパク質を使用し、ELISA 系のスクリーニング系を構築する。低分子化合物ライブラリーを用いたスクリーニング系においては、既知の TLR4/MD-2 阻害剤を陽性コントロールとして用いる。

【結果】

まず、日本白色種 2 羽に His タグ S100A8 リコンビナントタンパク質を免疫感作し、抗体力値が十分上昇した時点で抗血清を回収した後、ヒト S100A8 に対するウサギポリクローナル抗体を得た。次に、TLR4/MD-2 と S100A8 との結合をモニタリングする ELISA 測定系の構築を行った。この測定系に候補化合物を添加し、TLR4/MD-2 阻害剤を陽性コントロールとして、スクリーニング系を樹立した。今後、低分子化合物ライブラリーを用いて、TLR4/MD-2 と S100A8 との結合を減弱させる低分子化合物のスクリーニング(一次スクリーニング)を行う予定である。さらに、得られた候補化合物を用いて S100A8 によって誘導されるサイトカイン発現誘導活性を抑制できるかを検証し、擬陽性群を排除する。

【考 察】

我々は、現在までに TLR4/MD-2 阻害剤や抗 S100A8 抗体が、がんの進展を遅延することを見いだしてきた(参考文献 1)。がん原発巣、転移前肺に集簇する骨髄由来免疫応答細胞や腫瘍隨伴マクロファージは共に TLR4/MD-2 を発現しており、またがん細胞自身も TLR4 を高発現していることが知られている。本研究により得られる TLR4/MD-2 低分子化合物候補は、がんの転移だけでなく、がんの増殖を阻害する可能性がある。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

免疫の制御系を標的にした創薬の成功例では、免疫抑制の解除をねらった新規メロノーマ治療薬である抗PD-1抗体がある。がんに伴う炎症を制御することができれば、従来の優れた細胞殺傷薬や血管新生阻害薬と併用することにより、それらの本来の有効性も強化されると考えられる。S100A8のTLR4/MD-2へのシグナル阻害は、がんの根治を妨げている3つの臨床的要因、すなわち転移の促進、免疫抑制、抗がん剤抵抗性、これらのすべてに関与する。従って、がん患者QOLや生存率の向上に貢献すると期待される。自然免疫を治療対象とした創薬は、がんに限らず炎症性疾患全体にその有用性を示すことが期待される。例えば、肥満における脂肪組織浸潤性のマクロファージ、神経細胞、また血液幹細胞にもTLR4は発現している。本研究にて得られる候補化合物は今後対象となる疾患の拡大も期待される。

【参考・引用文献】

1. Deguchi A*, Tomita T, Ohto U, Takemura K, Kitao A, Akashi-Takamura, S, Miyake K, and Maru Y*. Eritoran inhibits S100A8-mediated TLR4/MD-2 activation and tumor growth by changing the immune microenvironment. *Oncogene* **35**:1445-1456. 2016