

樹状細胞の視点からの BCL-2 ターゲット治療の免疫抑制機序解明

伊藤量基

関西医科大学医学部 内科学第一講座

【研究の背景】

BCL-2 は、アポトーシスを抑える働きをするタンパク質であり、がん治療の標的として注目され、BCL-2 をターゲットとした治療戦略は、様々な造血器腫瘍に利用されている。その強力な殺腫瘍効果の反面、感染症の併発が重要な有害事象の一つと言える。正常免疫細胞を抑制することがその理由と考えられる。

ヒト樹状細胞は、ミエロイド系樹状細胞 (mDC) とリンパ球系樹状細胞 (plasmacytoid DC:pDC) の 2 つサブセットに大別され、免疫における役割が異なる。樹状細胞は言うなれば免疫システムにおける司令官の役割を果たす細胞である。

申請者は、健常人の末梢血 mDC は活性化によって Th1 誘導を惹起するが、特別なシチュエーションでは、Th2 誘導能を示す可塑性を有し、この Th2 誘導能は、液性免疫としてグロブリン産生に寄与するのみならず、OX40L を発現することで、アトピーなどのアレルギー性炎症病態に寄与することを解明した¹⁾。また pDC は血中の I 型 IFN 産生量のほとんどを占め、細胞のシグナルシステムの殆どをその I 型 IFN 産生に費やす特徴を有しており、抗ウイルス免疫になくならない細胞であることも報告している²⁾。また、樹状細胞は免疫炎症性疾患や悪性腫瘍の進展に重要な役割を果たしている。申請者は難治性疾患である自己免疫疾患、アレルギー、結核、同種細胞後 GVHD、サルコイドーシスなどにおける樹状細胞の動態と質的变化を解析し、さらに樹状細胞を対象にして、様々な薬剤(多発性骨髄腫治療薬 IMiDs、免疫抑制剤ミコフェノール酸モフェチル、HMG-CoA 還元酵素阻害剤スタチンなど)に対する反応性を解析し³⁻⁵⁾、その薬理作用機序解明と治療ターゲットとしての樹状細胞の重要性も明らかにした。

これらの成果を基盤として、本研究は、BCL-2 阻害薬による免疫への影響を、「樹状細胞」という、免疫学的起点、司令官のレベルを対象として調べることである。エフェクターフェーズ(Tリンパ球やBリンパ球レベル)における研究とは異なる側面からの免疫抑制効果を検証し、この薬剤の安全かつ有効な治療ストラテジー構築を目指す。

【目 的】

BCL-2 を標的とした治療戦略は、様々な悪性腫瘍に利用されているが、その強力なアポトーシス誘導能の反面、感染症が重要な有害事象である。その易感染機序を解明するため、本申請では、BCL-2 阻害薬の作用を「樹状細胞」を標的とした実験モデルを構築し、免疫起点に対する作動機構を明らかにし、特有な免疫応答能への影響を検討する。今後、さらに様々な腫瘍に対し適応が広がるであろう BCL-2 阻害薬であるが、その免疫抑制作用機序への理解が深まることにより、安全かつ有効な使用法へ昇華させることが出来る。

【方 法】

●ヒト末梢血樹状細胞の単離

①健常人末梢血を採取、末梢血単核球を比重遠心法

① 抗ヒト CD3, CD14, CD19, CD56 マウス精製抗体、磁気ビーズまたは磁性カラムを用い、B・T・単球・NK 細胞を除去する。

② 樹状細胞濃縮細胞群を採取し、4 color cell sorter を用いてミエロイド系樹状細胞 (mDC: CD4+, CD11c+, lineage-(CD3-, CD14-, CD15-, CD16-, CD19-, CD56-), BDCA4-) と形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DC: pDC:

CD4+, CD11c-, lineage-(CD3-, CD14-, CD15-, CD16-, CD19-, CD56-), BDCA4+) の各サブセットを単離する。

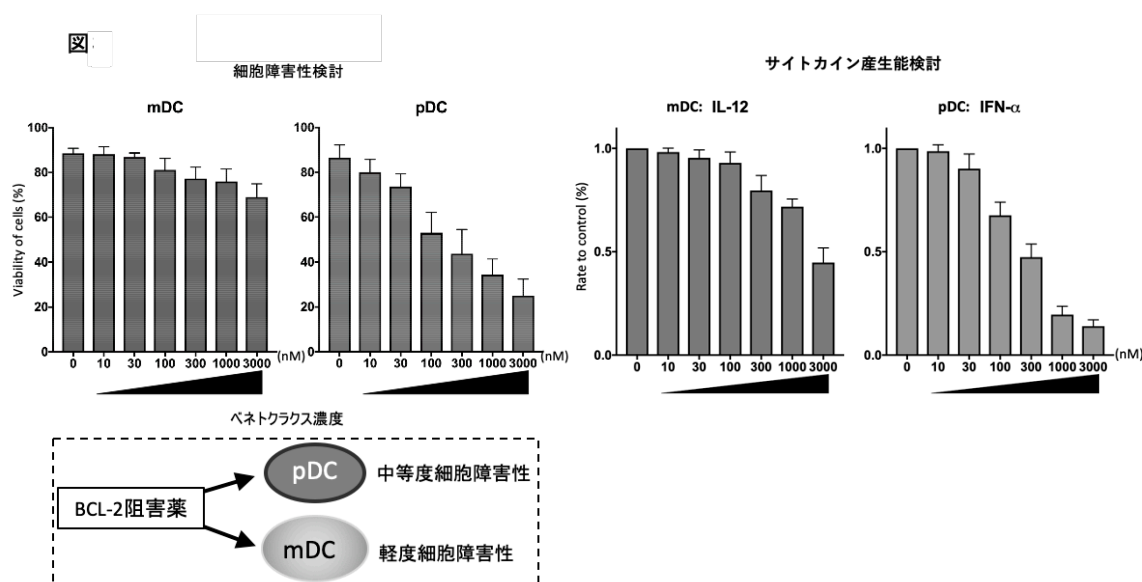
● 樹状細胞機能への影響:

BCL-2 阻害薬 (ABT-199: ベネトクラクス) をヒト樹状細胞サブセットへ添加培養し、その作用を、樹状細胞サブセットそれぞれの有する IL-12 や IFN 産生に関してサイトカインの産生を検定する。mDC については R848、pDC については CpG-ODN を刺激物質として添加し、ABT-199 を臨床有効血中濃度 (1~3000ng/ml) で、それぞれに対して添加し、24h 培養する。培養後の細胞は、FCM (フローサイトメトリー) で細胞の生存率 (annexinV 染色法) を解析する。また培養後の上清を回収し、産生サイトカイン (IL-12、IFN- α) を ELISA 法で測定する。

【結果】

BCL-2 阻害薬 (ABT-199: ベネトクラクス) を I 型 IFN 産生細胞である pDC へ添加培養した系では、10nM の低濃度から annexinV 陽性細胞の増加、すなわち生存細胞が低下したことより、細胞傷害性を示した。一方、IFN- α 産生は 30nM より抑制された。

また、BCL-2 阻害薬をヒト樹状細胞サブセットのうち mDC へ添加培養した系では、100nM の比較的高濃度から細胞傷害性を示し、IL-12 産生は 300nM より抑制された。pDC と比較した場合、BCL-2 阻害薬による傷害性は低かった。



【考察】

臨床的血中濃度において比較的高用量であっても、mDC には抑制の程度が低い可能性が示され、ベネトクラクス使用時には Th1 抑制へのベクトルは少ない可能性、その結果として、CTL に対する抗腫瘍効果への抑制も低い可能性が示唆された。また、比較的低用量であっても、IFN- α 産生を抑制する可能性が示され、ベネトクラクス使用時にはウイルス感染に対する抵抗性が弱まると考えられた。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本申請は、BCL-2 阻害薬の作用を「ヒト樹状細胞」を標的とした研究である。このことは、BCL-2 阻害薬使用時における血液がん患者の感染マネージメントを含めた治療ストラテジーを大きく転換させる可能性を示唆しており、がん患者の診療・ケアに大きく貢献するものと思われる。特に、「樹状細胞」はグロブリン産生液性免疫の基点でもあり、BCL-2 によって樹状細胞が起動する液性免疫誘導能が抑制されるかどうかは、COVID-19 の予防ワクチンを接種する際の治療選択においても重要な情報となる。また、臨床的血中濃度の BCL-2 阻害薬が、pDC 障害と IFN- α 産生抑制を、より強く誘導することから、ウィ

ルス感染に脆弱な状況を作り、感染に際して重篤化するリスクが高いと考えられる。今後、様々な造血器腫瘍に対し適応が広がるであろう BCL-2 をターゲットにした治療戦略であるが、その免疫抑制作用機序に対する理解が深まることにより、この薬剤を with コロナの時代において、安全かつ有効な使用法へ昇華させることが出来る。

【参考・引用文献】

1. Tomoki Ito, Yui-Hsi Wang, Omar Duramad, Toshiyuki Hori, Guy J Delespesse, Norihiko Watanabe, F Xiao-Feng Qin, Zhengbin Yao, Wei Cao, Yong-Jun Liu: TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper type 2 cell response through OX40 ligand. *J Exp Med.* 202. 1213-1223. 2005
2. Tomoki Ito, Holger Kanzler, Omar Duramad, Wei Cao, Yong-Jun Liu: Specialization, kinetics, and repertoire of type 1 interferon responses by human plasmacytoid predendritic cells. *Blood.* 107. 2423-2431. 2006
3. Vien Phan, Tomoki Ito, Muneo Inaba, Yoshiko Azuma, Kayoko Kibata, Noriko Inagaki-Katashiba, Akihiro Tanaka, Atsushi Satake, Shosaku Nomura: Immunomodulatory drugs suppress Th1-inducing ability of dendritic cells but enhance Th2-mediated allergic responses. *Blood Adv.* 4: 3572-3585. 2020
4. Minoru Shigesaka, Tomoki Ito, Muneo Inaba, Kai Imai, Hideki Yamanaka, Yoshiko Azuma, Akihiro Tanaka, Hideki Amuro, Tohru Nishizawa, Yonsu Son, Atsushi Satake, Yoshio Ozaki, and Shosaku Nomura: Mycophenolic acid, the active form of mycophenolate mofetil, interferes with IRF7 nuclear translocation and type I IFN production by plasmacytoid dendritic cells. *Arthritis Res Ther.* 22: 264. 2020
5. Hideki Amuro, Tomoki Ito, Rie Miyamoto, Hiroyuki Sugimoto, Yoshitaro Torii, Yonsu Son, Naoto Nakamichi, Chihiro Yamazaki, Katsuaki Hoshino, Tsuneyasu Kaisho, Yoshio Ozaki, Muneo Inaba, Ryuichi Amakawa, Shirou Fukuhara: Statins, inhibitors of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, function as inhibitors of cellular and molecular components involved in type I interferon production. *Arthritis Rheum.* 62. 2073-2085. 2010