

2017 Issue

# Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2016

トランスレーショナルメディスンに載った  
日本人研究者



COSMO BIO CO., LTD.  
Inspiration for Life Science

Science  
Translational  
Medicine  
ATAAS

このJapanese Scientists in *Science Translational Medicine* (STM) 2016では、2016年の1年間にトランスレーショナルメディシンに論文が掲載された日本人研究者・グループを紹介しています。誌面の都合上、または著者本人のご意向により、すべての日本人著者を紹介しているわけではありませんが、その旨ご了承ください。

所属名、共著者名、本文から図表の選定まで、すべて著者の皆様からご提供いただいたものです。特に、掲載論文については、日本語で分かりやすくご解説いただいておりますので、トランスレーショナルメディシンに掲載された図表とは異なるものを使用している場合があります。また、記載の所属先やメールアドレス、URLなど一切の情報は、2017年1月時点のものになります。

内容については細心の注意を払っていますが、情報の正確性、専門性について発行者はいかなる責任を負うものではありません。正確な情報は、必ず原文にてご確認ください。

#### 発行元

American Association for the Advancement of Science (AAAS)  
1200 New York Avenue, NW  
Washington, DC 20005  
USA

#### 協賛

コスモ・バイオ株式会社  
〒135-0016 東京都江東区東陽 2-2-20 東陽駅前ビル  
TEL: 03-5632-9610 FAX: 03-5632-9619  
<http://www.cosmobio.co.jp>

#### 企画・翻訳・編集

株式会社アスカコーポレーション (Science Japan Customer Service Office)  
〒541-0046 大阪市中央区平野町 1丁目 8-13 平野町八千代ビル  
TEL: 06-6202-6272 FAX: 06-6202-6271  
<http://www.asca-co.com>

#### 表紙デザイン

株式会社大伸社 東京本社  
〒151-0051 東京都渋谷区千駄ヶ谷 2-9-9  
TEL: 03-3405-0603 FAX: 03-3405-0653  
<http://www.daishinsha.co.jp/>

#### 発行日

2017年3月

© 2017 American Association for the Advancement of Science (AAAS). All Rights Reserved.

# Science Translational Medicine

Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2016

## トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者

### ご挨拶

米国科学振興協会 (AAAS) の公式刊行物である *Science Translational Medicine* (STM) は、世界的な科学学術誌 *Science* の姉妹誌として、トランスレーショナル医療に関する先進的な研究成果を毎週発信しています。Translational research (トランスレーショナル・リサーチ) は日本では「橋渡し研究」とよばれ、基礎研究と応用研究とをつなぐための、実用化を見据えたメカニズム・現象解明の研究を指します。同誌では、疾患に関する研究室ベースの生物学的知見から医薬品などの開発による医療応用を目的とした研究を2009年の創刊以来取り上げています。

この「トランスレーショナルメディシンに載った日本人研究者」は、「サイエンス誌に載った日本人研究者」の姉妹冊子として2016年に刊行されました。本年の冊子には、2016年に *Science Translational Medicine* で発表された6件の研究を紹介しています。 *Science Translational Medicine* の日本語ウェブサイトではタイトルのみを日本語で掲載していますが、本誌では新たに翻訳したアブストラクトと、さらに各論文の著者の方々より寄稿いただいた、研究の論点を分かりやすく記した解説文を掲載しています。

本年取り上げた研究の中では、近年の免疫療法の発展を反映して、免疫学と医療をリンクさせる報告が目立ちました。すでに皮膚がん、肺がんなどで臨床応用が始まっている免疫療法ですが、新たな知見をもとに、様々な疾患に対して有効な治療法の開発が期待されます。また免疫学以外の分野でも、細胞生物学や核酸科学などの進展は、病態や治療耐性メカニズムの理解を通じて、臨床医学研究への重要な契機となることを予感させるものです。

最後に、本誌の制作にあたり、ご多忙の中、ご協力いただきました日本人研究者の皆様にご心より御礼申し上げます。そして、多大なるご支援を賜りましたコスモ・バイオ株式会社様に深く感謝を申し上げます。

2017年3月  
編集チーム一同

# Japanese Scientists in *Science Translational Medicine* 2016

## トランスレーショナルメディスンに載った日本人研究者

*Science Translational Medicine* 投稿について ..... 4

**3月23日号** 関節リウマチにおいてオキシダントシグナル伝達を回復させると  
Research Article 関節炎発症促進性のT細胞エフェクター機能が抑えられる ..... 6

Restoring oxidant signaling suppresses proarthritogenic T cell effector functions in rheumatoid arthritis

Research Associate, Department of Medicine, Stanford University School of Medicine

(現 名古屋市立大学 大学院医学研究科 病態モデル医学 教授) 大石 久史

**5月18日号** ヒト患者およびマウスにおける同種造血幹細胞移植後の  
Research Article 広域スペクトラム抗菌薬使用に伴うGVHD関連死亡の増加 ..... 8

Increased GVHD-related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice

Research Associate, Department of Immunology, Sloan Kettering Institute, Memorial Sloan Kettering Cancer Center

庄野 雄介

**7月13日号** *C9ORF72* マウスオルソログの機能喪失変異は  
Research Article 致死的な自己免疫疾患を引き起こす ..... 10

Loss-of-function mutations in the *C9ORF72* mouse ortholog cause fatal autoimmune disease

Postdoctoral Fellow, Harvard Stem Cell Institute, Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University

(現 東北大学病院 神経内科 助教) 鈴木 直輝

Visiting Fellow, Harvard Stem Cell Institute, Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University

(現 東北大学 医学系研究科 移植再生医学分野) 植松 智海

**7月13日号** CACNA1A 第二シストロンのIRES誘導性翻訳を遮断する  
Research Article miRNAによる脊髄小脳失調症6型(SCA6)の治療 ..... 12

An miRNA-mediated therapy for SCA6 blocks IRES-driven translation of the CACNA1A second cistron

Postdoctoral Scholar, Department of Neurology, University of Chicago 宮崎 雄

自治医科大学 医学部 内科学講座 神経内科学部門 教授

東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 特任教授 村松 慎一

**8月17日号** 近赤外光線免疫療法を用いた  
Research Article 腫瘍関連制御性T細胞の空間選択的排除 ..... 14

Spatially selective depletion of tumor-associated regulatory T cells with near-infrared photoimmunotherapy

Visiting Fellow, Molecular Imaging Program, Center for Cancer Research, National Cancer Institute

(現 名古屋大学大学院 医学系研究科 呼吸器内科学) 佐藤 和秀

Staff Scientist, Molecular Imaging Program, Center for Cancer Research, National Cancer Institute 佐藤 則子

Senior Investigator, Molecular Imaging Program, Center for Cancer Research, National Cancer Institute 小林 久隆

**10月12日号** 血管内皮成長因子(VEGF)阻害療法は細胞外マトリックス(ECM)リモデリングと  
Research Article 物理学的機序による大腸癌肝転移の治療障害をもたらす ..... 16

Anti-VEGF therapy induces ECM remodeling and mechanical barriers to therapy in colorectal cancer liver metastases

Associate Professor, Edwin L. Steele Laboratories for Tumor Biology,

Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School 福村 大

## Science Translational Medicine 投稿について

*Science Translational Medicine* は、トランスレーショナル医療 (Translational Medicine) を対象とした最先端の研究成果を取り上げる週刊の科学専門誌です。基礎科学研究者と臨床研究者を結び、患者ケアの世界的な改善を図るためのトランスレーショナル・リサーチについて、最新の知見を取りまとめ、利用可能なデータとして提供することが本誌の主要な目的です。

以下に、*Science Translational Medicine* の Information for Authors (投稿規定) の簡易日本語版を掲載します。あくまでこの記事は抜粋版であり、すべての規定を網羅しているわけではないことをご了承ください。投稿前には、後述のウェブサイトで、最新の完全版を必ずご確認ください。

### ポリシー

*Science Translational Medicine* に論文を投稿する著者は、著者資格、事前出版、研究デザインなどについて定めた論文の要件を満たすと同時に、資金提供を含む利益相反、著作権の所在、アクセスポリシー、報道解禁など著者の権利と責任に関するポリシーに合意する必要があります。詳細を投稿前にご確認ください。

### 掲載される論文・記事の種類

#### Research Articles :

トランスレーショナル・リサーチに関する画期的な研究成果を発表する原著論文。構成はアブストラクト、本文 (Introduction, Results, Discussion, Materials and Methods, References, Figures and Tables, Supplementary Materials)。8,000 語以内、図表は 8 点まで。Supplementary Material を別途添付可。

#### Focus :

*Science Translational Medicine* やその他のジャーナルで発表された最近の論文に関連した短報。アブストラクト、本文、References、および図表の説明文を含め 1,800 語以内。References 10 点以内、図表は 1 点のみ。

#### Editorial :

トランスレーショナル・リサーチに関する依頼原稿。1,000 語以内。

#### Perspectives :

最新のトランスレーショナル・リサーチの進展について第三者の視点から分析する記事。基礎研究、臨床研究の両者からの視点を含める。アブストラクト、本文、References、および図表の説明文を含め 2,500 語以内。

#### Reviews :

トランスレーショナル・リサーチの仮説や知見についての総説。アブストラクト、本文、References、および図表の説明文を含め 5,000 語以内。

#### Letter :

過去 2 ヶ月以内に発表された *Science Translational Medicine* の論文に対する返報。1,000 語以内で References 10 点以内、図表は 1 点のみ。

### 原稿の作成

執筆に関する規程は原稿の種類によって異なります。個別の Information for Authors のページを必ずご覧ください。

### 投稿

*Science Translational Medicine* では、オンラインで論文の投稿を受け付けています。

### オンライン投稿システム

<https://cts.sciencemag.org>

### 論文投稿に関する問い合わせ先

E-mail: [scitranslmededitors@aaas.org](mailto:scitranslmededitors@aaas.org)

<http://stm.sciencemag.org/feedback>

### Science Translational Medicine 投稿規定

Information for Authors

<http://stm.sciencemag.org/content/information-authors>

# 関節リウマチにおいてオキシダントシグナル伝達を回復させると 関節炎発症促進性のT細胞エフェクター機能が抑えられる

Restoring oxidant signaling suppresses proarthritogenic T cell effector functions in rheumatoid arthritis

Zhen Yang<sup>1</sup> Yi Shen<sup>1</sup> Eric L. Matteson<sup>2</sup> Lu Tian<sup>3</sup> Jörg J. Goronzy<sup>1</sup> and Cornelia M. Weyand<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Medicine, Stanford University School of Medicine

<sup>2</sup> Division of Rheumatology, Mayo Clinic College of Medicine

<sup>3</sup> Department of Health Research and Policy, Stanford University School of Medicine



大石 久史 Hisashi Oishi

Research Associate, Department of Medicine, Stanford University School of Medicine

(現 名古屋市立大学 大学院医学研究科 病態モデル医学 教授)

Contact E-mail : hoishi@med.nagoya-cu.ac.jp  
所在地 : 467-8601 愛知県名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄 1  
URL : http://www.med.nagoya-cu.ac.jp/w3med/labo/byotai.dir/index.html

## Abstract

関節リウマチ患者では、CD4<sup>+</sup>T細胞がクローン性増殖時に過剰増殖し、疾患病理に關与するサイトカイン産生エフェクター細胞に分化する。しかし、この過剰増殖に対する代謝的な基盤は依然として明らかでない。患者のnaïve T細胞は健康人のT細胞と異なり、グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ(G6PD)の発現亢進により、解糖流量(glycolytic flux)に障害がある。過剰なG6PDは、グルコースをペントースリン酸経路に流入させ、NADPH(ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドリン酸の還元型)の蓄積と活性酸素種(ROS)消費をもたらす。過剰なNADPHのため、患者T細胞はレドックス感受性キナーゼであるataxia telangiectasia mutated(ATM)活性化が不十分であり、G2/M細胞周期チェックポイントを回避して、細胞増殖が亢進する。さらに、不十分なATM活性化はT細胞の分化をヘルパー T1(Th1)およびTh17細胞系列へ分化誘導し、過剰炎症をもたらす。本研究では、いくつかの治療的処置を行って、細胞内ROSを補充することにより、患者T細胞の異常増殖を抑制して滑膜炎を抑制することができた。したがって、グルコース利用のバランスとオキシダントシグナル伝達を回復させることは、関節リウマチにおける自己免疫を予防する治療戦略となる可能性がある。

## Figure and Note

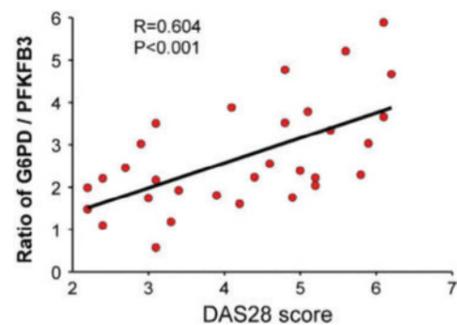


図1: 関節リウマチ患者のnaïve T細胞におけるG6PD/PFKFB3転写量比とDAS28スコアの相関

患者末梢血のCD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>T細胞において、解糖系のG6PD(グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ)とPFKFB3(6-ホスホフルクト-2-キナーゼ/フルクトース-2,6-ビスホスファターゼ3)遺伝子の転写量比と、疾患活動性DAS28スコアには、正の相関が認められた。

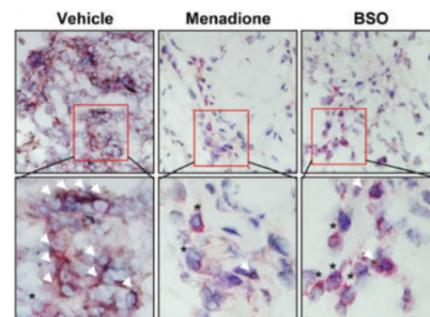


図2: 関節リウマチモデルに対するメナジオンおよびブチオニンスルホキシミン(BPO)投与

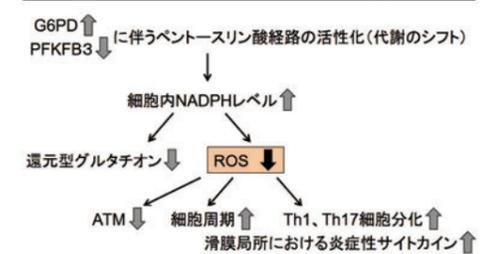
ヒト滑膜と末梢血をNSGマウスに移植し、関節リウマチモデルを作製した。細胞内ROS産生を上昇させるために、メナジオンおよびBPO投与を行ったところ、ヒト滑膜に浸潤したRANKL陽性T細胞(ピンク: CD3、茶色: RANKL)が減少した。

# 活性酸素種(ROS)欠乏は、 関節リウマチ患者の炎症性T細胞への分化を促進する

関節リウマチは、全身性自己免疫疾患の代表的疾患であり、骨関節の障害のみならず、心血管系の合併症を伴って、一般人口より生命予後が悪いことが明らかとなっています。近年、TNFやIL-6、選択的T細胞の活性化を阻害する様々な生物学的製剤の登場により、その治療は大きく進歩しました。従来、炎症滑膜には、T細胞が多く浸潤すること、発症とHLA-DR4に相関があること、さらにT細胞受容体シグナルに關与するPTPN22遺伝子変異は、関節リウマチを含む自己免疫疾患のリスクを増大させることから、T細胞、特にCD4陽性T細胞が、その発症や重症度に大きく關与することが知られています。Weyand博士の研究チームは、これまで、関節リウマチ患者のCD4<sup>+</sup>T細胞は、刺激後、解糖系酵素であるPFKFB3の発現上昇が不十分でATP産生が減少することを明らかにしてきました(Yang Z et al. *J Exp Med* 2013)。一方で、この細胞内代謝の異常が、どのような機序で病態に關与するのか、その分子メカニズムは、明らかになっていませんでした。

関節リウマチ患者のnaïve T細胞は、増殖能が亢進し、IFN- $\gamma$ やIL-17産生エフェクター T細胞への分化が促進されていますが、本研究では、この原因として、細胞内代謝の異常を見いだしました。すなわち、患者のnaïve T細胞では、G6PD発現の亢進とPFKFB3発現の低下に伴って解糖系が低下し、その迂回路であるペントースリン酸経路(PPP)が活性化していました。そして、PPP活性化に伴って、過剰なNADPHが、還元型グルタチオンとROSの減少を誘導していました。さらに、このROSの減少が患者T細胞のIFN- $\gamma$ やIL-17産生エフェクター T細胞への分化を促進していました。ヒト滑膜を移植したマウスにおける関節炎モデルに対してメナジオン投与によるROSの補充、またROS quencherであるグルタチオン阻害、さらにPPP阻害による代謝バランスの改善により、滑膜の局所炎症が改善することを明らかにしました。

## 関節リウマチにおけるT細胞内代謝の異常



本研究では、関節リウマチ患者のT細胞に認められる代謝および酸化還元バランスの破綻が、Th1、Th17細胞への分化を促進することを明らかにし、さらに、疾患モデルを用いて、そのバランスの改善が抗炎症作用を有することを見いだしました。従来、関節病変は、過剰の酸化ストレスの結果と考えられてきましたが、ROSは、様々なリン酸化酵素、脱リン酸化酵素の活性を制御する2ndメッセンジャーとして重要な機能を有することが明らかとなっています。実際、疾患モデルでは、防御因子として、NADPH酸化酵素のNOX2が防御因子として同定されており、高齢NOX2遺伝子欠損マウスは、Th1細胞分化が促進され関節炎を自然発症します。本研究成果は、naïve T細胞における細胞内代謝バランスの改善による治療応用可能性を示した点に、新規性と独創性があると考えられます。

## 名古屋市立大学 大学院医学研究科 実験動物研究教育センター

名古屋市立大学実験動物研究教育センターは、病態モデル医学分野を中心に、平成28年11月より、新しい体制で再スタート致しました。多因子疾患モデルにおける疾患感受性遺伝子の同定や膵内分泌細胞の発生に関する研究を行っています。また、発生工学やゲノム編集技術の進歩により、これまで以上に簡便に*in vivo*で遺伝子改変が行えるようになりました。これらの技術支援を通じて、国内外の研究者の皆様の研究・教育にお役に立てればと考えています。



# ヒト患者およびマウスにおける同種造血幹細胞移植後の広域スペクトラム抗菌薬使用に伴うGVHD関連死亡の増加

Increased GVHD-related mortality with broad-spectrum antibiotic use after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in human patients and mice

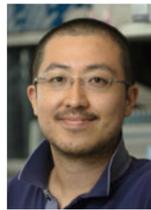
Marcel R.M. van den Brink<sup>1,2,3</sup> Robert R. Jenq<sup>2,3</sup> et al.

<sup>1</sup> Department of Immunology, Sloan Kettering Institute, Memorial Sloan Kettering Cancer Center

<sup>2</sup> Weill Medical College of Cornell University

<sup>3</sup> Adult Bone Marrow Transplant Service, Department of Medicine, Memorial Sloan Kettering Cancer Center

全著者リスト: <http://stm.sciencemag.org/content/8/339/339ra71>



庄野 雄介 Yusuke Shono

Research Associate, Department of Immunology, Sloan Kettering Institute, Memorial Sloan Kettering Cancer Center

Contact

E-mail: shonoy@mskcc.org or shonoyusuke99@gmail.com  
所在地: 1275 York Avenue, Box 111, New York, NY 10065, USA.  
URL: <https://www.mskcc.org/research-areas/labs/members/yusuke-shono>

## Abstract

腸内細菌は、同種造血幹細胞移植 (allo-HSCT) 後の感染症及び移植片対宿主病 (GVHD) の発症リスクに影響を与える可能性がある。Allo-HSCT レシピエントは、発熱性好中球減少症を発症することが多く、これに対して腸内の嫌気性細菌を標的にする抗菌薬による治療を受けることが多い。我々は、allo-HSCT レシピエント 857 例を後ろ向きに調査し、発熱性好中球減少症患者に抗菌薬であるイミペネム・シラスタチン又はタゾバクタム・ピペラシリンを投与した群で、5年目のGVHD 関連死亡率の上昇を見出した (イミペネム・シラスタチン投与患者 21.5% 対未投与患者 13.1%,  $P=0.025$ ; タゾバクタム・ピペラシリン投与患者 19.8% 対未投与患者 11.9%,  $P=0.007$ )。しかし、同様に発熱性好中球減少症に用いられる他2つの抗菌薬アズトレオナムとセフェピムは、GVHD 関連死亡増加に関連しなかった (それぞれ  $P=0.78$  及び  $P=0.98$ )。Allo-HSCT レシピエントの便検体の分析から、タゾバクタム・ピペラシリン投与は腸内細菌叢の攪乱を引き起こすことが示された。マウス実験でも、イミペネム・シラスタチン又はタゾバクタム・ピペラシリンにより、アズトレオナムと比較してGVHDによる死亡率が上昇することが示された (それぞれ  $P<0.01$  及び  $P<0.05$ )。我々は、イミペネム・シラスタチン投与マウスの大腸でGVHD増悪の病理学的所見を認めたが ( $P<0.05$ )、短鎖脂肪酸濃度あるいは制御性T細胞数に差はみられなかった。特記すべきこととして、GVHDマウスに対するイミペネム・シラスタチン投与は、保護作用を有する大腸粘膜層の喪失 ( $P<0.01$ )、及び腸管バリア機能の障害 ( $P<0.05$ ) をもたらした。マウスの便検体のシーケンス解析から、粘液分解能を有する共生細菌である *Akkermansia muciniphila* の増加が示され ( $P<0.001$ )、腸管粘膜障害がマウスのGVHD悪化に寄与する可能性が示唆された。本研究により、腸管GVHDを悪化させる可能性のある抗菌薬によるallo-HSCT レシピエントに対する治療には、これまで十分に認識されていなかったリスクがあることが示された。

## Figure and Note

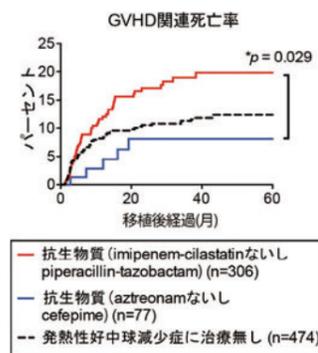


図1: 発熱性好中球減少症に対する広域抗菌薬使用はGVHD関連死亡率を増加させる (臨床データ)

同種造血幹細胞移植患者 857 名のサブグループ解析。発熱性好中球減少症に対する治療で嫌気性菌をカバーする広域抗菌薬により治療された群 (赤) と嫌気性菌に対するカバーが低い抗菌薬で治療された群 (青) の比較。

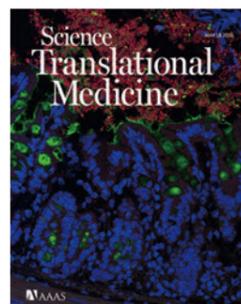


図2: 移植後広域抗菌薬使用は大腸の粘膜防御を破綻させる (マウスモデル)

嫌気性菌をカバーする広域抗菌薬により治療されたGVHD発現マウスの大腸病理組織蛍光染色。大腸内細菌 (赤) および腸管上皮 (青) の間を覆う粘膜層 (緑) が破綻している (論文掲載号の表紙に採用)。

## 造血幹細胞移植後の抗菌薬の使用 — 腸内細菌叢攪乱とGVHDへの影響

近年、大規模DNA シークエンス解析の発展に伴い腸内細菌叢の役割が、さまざまな病気および生体の恒常性維持機構において詳細に解析されています。我々のグループは、造血幹細胞移植後の腸内細菌叢の変化と移植予後についてこれまで、1. 腸内細菌叢の多様性 (diversity) が損なわれると移植後死亡率が上昇すること、2. GVHD患者およびマウスでは移植片対宿主病 (GVHD) においてラクトバシラス目 (*Lactobacillales*) の増加とクロストリジウム目 (*Clostridiales*) の低下を認めること、3. ブラウティア属 (*Blautia*; クロストリジウム綱の細菌の一つ) の数が患者のGVHD改善と正に相関することなどを報告してきました。

造血幹細胞移植後、患者のほとんどは発熱性好中球減少症の治療のため抗菌薬に暴露されます。抗菌薬の使用による腸内細菌叢の攪乱 ("microbiota injury") は甚大でその免疫系や移植予後に及ぼす影響は計り知れませんが、これまで詳細な検討はされておらず、抗菌薬の適正使用に当たっての明確な判断基準は曖昧でした。今回我々は抗菌薬の使用がGVHDにどのような影響を与えるかを、単一施設ヒト患者検体及びマウスGVHD移植モデルを用いて解析を行いました。

我々は造血幹細胞移植後に一般的に使用される抗菌薬を大きく二つに分類し解析を行いました。一つはクロストリジウムを含めた嫌気性菌に作用をもつ広域スペクトラム抗菌薬群 (Imipenem-cilastatin, Piperacillin-tazobactam 等)、もう一つは嫌気性菌カバーが弱い狭域スペクトラム抗菌薬群 (Aztreonam, Cefepime 等) です。クロストリジウムは制御性T細胞増加に関与し、抗炎症の役割を担う報告があることから、嫌気性菌を損なわない狭域スペクトラム抗菌薬の使用がGVHD改善につながるのではないかと推測の元にプロジェクトは始動しました。結果は、857名の患者糞便検体の解析から発熱性好中球減少症に対して広域スペクトラム抗菌薬を使用した患者では有意にGVHD関連死亡率が高く、マウスモデルでも同様な結果が得られました。そのメカニズムとしてマウスモデルの解析から広域スペクトラム抗菌薬投与群でクロストリジウムの低下に伴って大腸粘膜 (ムチン) を消費する特定の細菌 (*Akkermansia muciniphila*) の増加を認め、腸管免疫の破綻が腸管GVHDの増加につながっていることを突き止めました。

この研究から移植後の Microbiota injury を予防する方法として、発熱性好中球減少症の治療には1. 嫌気性菌カバーが弱い狭域スペクトラム抗菌薬群を使用すること、2. 抗菌薬の使用期間を可能な限り短期間にし、広域スペクトラム抗菌薬の使用がやむを得ない場合でも効果を確認後は可及的速やかに狭域スペクトラム抗菌薬に移行すること、がGVHD関連死亡率を減らす助けになることが予想されます (MSKにてPhase2臨床研究を予定)。また、マウス実験の結果から広域スペクトラム抗菌薬の使用で粘液分解酵素活性の高い細菌群が同定されたことから、当該酵素を抑制する薬剤の使用で粘膜障害を最小限に留めることができる可能性もあります。現在、特定の菌種が移植予後のバイオマーカーとして使用できないかの詳細な解析が進行しており、また、腸内細菌エコシステムの観点から細菌の相互連関、およびその代謝物の免疫系に対する作用の研究も進めています。

## 共同研究および移植領域研究留学のお誘い

私の所属するvan den Brink研究室では今回の報告のようなヒト-マウス双方を解析するTranslationalリサーチを鋭意遂行しています。既存の概念や治療法を覆すためには前向き臨床研究が必須であり、MSKを糞便検体採取・解析の中心施設として、米国内骨髄移植ネットワークはもちろんのこと、欧州・豪州および日本から多数の共同研究機関が参加しています。当研究室から独立したPIも米国内移植施設にあり、研究留学生も受け入れています。お気軽に御連絡下さい。



# C9ORF72マウスオルソログの機能喪失変異は致死的な自己免疫疾患を引き起こす

Loss-of-function mutations in the *C9ORF72* mouse ortholog cause fatal autoimmune disease

Aaron Burberry<sup>1,2</sup> Jin-Yuan Wang<sup>1,2</sup> Rob Moccia<sup>1,2</sup> Daniel A. Mordes<sup>1,2,3</sup> Morag H. Stewart<sup>1,4</sup> Sulagna Ghosh<sup>1,2</sup> Ajay Singh<sup>1,2</sup> Florian T. Merkle<sup>1,2</sup> Kathryn Koszka<sup>1,2</sup> Quan-Zhen Li<sup>5</sup> Leonard Zon<sup>1,6</sup> Derrick J. Rossi<sup>1,4,6</sup> Jennifer J. Trowbridge<sup>7</sup> Luigi D. Notarangelo<sup>6,8</sup> Kevin Eggan<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Harvard Stem Cell Institute, Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University

<sup>2</sup> Stanley Center for Psychiatric Research, Broad Institute of MIT and Harvard

<sup>3</sup> Department of Pathology, Massachusetts General Hospital

<sup>4</sup> Program in Cellular and Molecular Medicine, Division of Hematology/Oncology, Boston Children's Hospital

<sup>5</sup> Departments of Immunology and Internal Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center

<sup>6</sup> Harvard Medical School

<sup>7</sup> The Jackson Laboratory for Mammalian Genetics

<sup>8</sup> Division of Immunology, Boston Children's Hospital



左から植松 智海、鈴木 直輝

鈴木 直輝 Naoki Suzuki

Postdoctoral Fellow, Harvard Stem Cell Institute, Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University  
(現 東北大学病院 神経内科 助教)

植松 智海 Satomi Suzuki-Uematsu

Visiting Fellow, Harvard Stem Cell Institute, Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University  
(現 東北大学 医学系研究科 移植再生医学分野)

Contact 鈴木 直輝 E-mail : naoki@med.tohoku.ac.jp  
所在地 : 980-8574 仙台市青葉区星陵町 1-1  
URL : http://www.neurol.med.tohoku.ac.jp/

## Abstract

*C9ORF72*変異は、欧米の筋萎縮性側索硬化症および前頭側頭型認知症の患者では高頻度で認められるが、*C9ORF72*遺伝子産物の機能については依然としてあまり明らかにされていない。本研究では、*C9ORF72*オルソログに機能喪失変異を有するマウスが、脾腫、好中球増加、血小板減少、炎症性サイトカイン発現亢進、および重度の自己免疫異常をきたし、結果として高い死亡率をもたらすことを示す。

野生型レシピエントマウスに変異マウスの骨髄を移植することで、変異マウスで観察された表現型、例えば自己免疫や早期死亡が再現可能であった。逆に、野生型マウスの骨髄を変異マウスに移植したところ、その表現型が改善した。結論として、*C9ORF72*は造血系において炎症および自己免疫異常の発現を抑制するうえで重要な役割を果たしている。

## Figure and Note

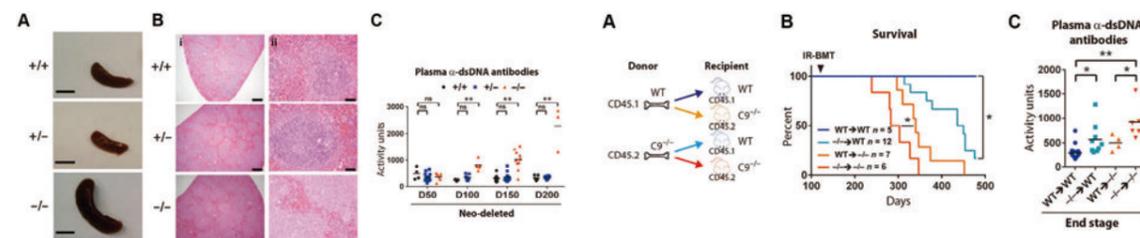


図1: *C9ORF72*欠損マウスの表現型

(A) 正常マウスと比較して *C9ORF72*欠損マウスでは脾臓の腫大が見られた。(B) ヘマトキシリン・エオジン染色でも *C9ORF72*欠損マウスにおいて脾臓の皮髄境界部の構造破壊が見られた。(C) *C9ORF72*欠損マウスでは年齢依存的に血清のdsDNA抗体価の上昇を認めた。

図2: 骨髄移植により *C9ORF72*欠損マウスの免疫異常が改善する

(A) 正常マウスと *C9ORF72*欠損マウスから骨髄細胞を採取し、放射線照射したマウスへ移植する実験スキーム。(B) 正常マウスに対して *C9ORF72*欠損マウスの骨髄細胞を移植した個体は早期に死亡する。逆に *C9ORF72*欠損マウスに正常マウスの骨髄細胞を移植すると有意に生存期間が延長する。(C) 正常マウスに対して *C9ORF72*欠損マウスの骨髄細胞を移植した個体では血清dsDNA抗体が増加する。逆に *C9ORF72*欠損マウスに正常マウスの骨髄細胞を移植すると血清dsDNA抗体が減少する。

# ALSの原因遺伝子産物C9ORF72は免疫が適切に機能するために必須である

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は運動ニューロン選択的に神経細胞死が起こる、病態が未解明で治療法がない死に至る難病です。一部に遺伝子変異を伴う症例が知られており、*superoxide dismutase 1 (SOD1)*変異を持つ動物モデルを中心とした研究が行われてきました。北欧からの創始者効果により広まった *C9ORF72*変異が欧米の家族性ALSの約半数、孤発性の10%前後を占めることが2011年になって報告され、欧米のALS研究の主役となってきています。*C9ORF72*遺伝子の第1イントロンのGGGGCCというヘキサヌクレオチド反復配列の機能獲得変異によるRNA代謝異常、脊髄小脳変性症などの他のリピート病でも観察されている非ATG翻訳蛋白の蓄積が病態として注目されています。一方で *C9ORF72*遺伝子産物自体の機能は不明のままです。

私たちは以前、マウスにおける *C9ORF72*の相同遺伝子 *3110043021Rik*が運動ニューロンやミクログリア、脾臓などの細胞・臓器に発現していることを報告しました(Suzuki N et al. *Nat Neurosci* 2013)。今回の研究では *C9ORF72*欠損マウスを用いてその表現型を解析しました。機能未知であった *C9ORF72*遺伝子産物の役割を明らかにするとともに、ハプロ不全による *C9ORF72*変異病態の可能性についても検討したいと考えて実験を行いました。

今回の研究により *C9ORF72*の欠損マウスは早期に死亡し、その背景には著明な脾腫や好中球をはじめとした血球系の異常がみられることを明らかにしました(図1)。さらにサイトカインの異常や血清dsDNA抗体価の上昇を伴うことから免疫系の異常があることがわかりました。血球系細胞における *C9ORF72*の役割を明らかにするために骨髄移植の実験を行ったところ、正常マウスに対して *C9ORF72*欠損マウスの骨髄細胞を移植した個体は早期に死亡し、逆に *C9ORF72*欠損マウスに正常マウスの骨髄細胞を移植すると有意に生存期間が延長することがわかりました(図2)。正常骨髄細胞の移植により好中球数やdsDNA抗体価も正常化しました。今回の研究から *C9ORF72*は免疫系が適切に機能するために必要であることを明らかにすることができました。

リピート延長による *C9ORF72*変異によるALS病態は機能獲得による機序が大きく関与しているという報告が多い一方、1例のみですがフレームシフトによる機能喪失と考えられる *C9ORF72*変異を持つALS患者も報告されており、機能喪失によるALS病態の関与も無視できないと考えられます。*C9ORF72*自体の機能をさらに明らかにすることはALS病態の全体像を理解するのに役立つと考えられます。

## ハーバード大学・Eggan Laboratory

2011年から3年間、ハーバード大学幹細胞再生生物学分野のKevin Eggan教授のラボに留学した際に夫婦で取り組んだ仕事です。私たちの帰国後に実験を引き継いでくれたポストドクのAaronが完成させてくれました。Egganラボでは神経・精神疾患をターゲットとして幹細胞を用いた研究を行っています。名物は年度始めに一昼夜かけて焼き上げる豚の丸焼きです(写真)。帰国後も東北大学神経内科でALSをはじめとした神経筋疾患の病態・治療研究に邁進しています。留学の機会を与えていただいた青木正志教授や各医局の先生方など、支えていただいた方々に感謝いたします。

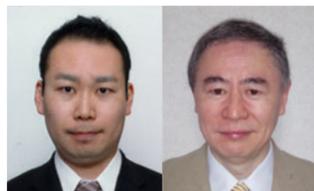


# CACNA1A 第二シストロンの IRES 誘導性翻訳を遮断する miRNA による脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) の治療

An miRNA-mediated therapy for SCA6 blocks IRES-driven translation of the CACNA1A second cistron

Xiaofei Du<sup>1</sup> Christopher M. Gomez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Neurology, University of Chicago



左から宮崎 雄、村松 慎一

宮崎 雄 Yu Miyazaki

Postdoctoral Scholar, Department of Neurology, University of Chicago

村松 慎一 Shin-ichi Muramatsu

自治医科大学 医学部 内科学講座 神経内科学部門 教授  
東京大学医科学研究所 遺伝子・細胞治療センター 特任教授

Contact

宮崎 雄 E-mail: mzaki.jp@gmail.com  
所在地: Chicago, IL 60637, USA.

村松 慎一 E-mail: muramats@jichi.ac.jp  
所在地: 329-0498 栃木県下野市薬師寺 3311-1

## Abstract

脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) は優性遺伝性の神経変性疾患で、緩徐進行性の運動失調と Purkinje 細胞変性を特徴とする。SCA6 は CACNA1A 遺伝子の二次産物である  $\alpha 1ACT$  内のポリグルタミン反復配列伸長により引き起こされる。 $\alpha 1ACT$  の発現は、CACNA1A のコーディング領域内に存在する internal ribosomal entry site (IRES) により制御される。SCA6 アレルのノックインマウスの表現型は野生型マウスの表現型と区別できない程度である一方、Purkinje 細胞特異的プロモーターにより、SCA6 に関連する  $\alpha 1ACT$  ( $\alpha 1ACT_{SCA6}$ ) をマウスで発現させると、緩徐進行性の運動失調と小脳萎縮を引き起こすことが分かっている。

今回我々は、アデノ随伴ウイルス (AAV) による遺伝子送達システムを用いて早期発症の SCA6 マウスモデルを作製した。そして、CACNA1A IRES 依存性の  $\alpha 1ACT_{SCA6}$  を異所性に発現させ、CACNA1A IRES を標的とする治療法の可能性を検討した。

AAV9 により CACNA1A IRES 依存性の  $\alpha 1ACT_{SCA6}$  を発現するマウスは、早期発症の運動失調、運動障害、及び Purkinje 細胞変性を呈した。我々は、miR-3191-5p が CACNA1A IRES を標的とし、Argonaute 4 (Ago4) と共役することで CACNA1A IRES 依存性の  $\alpha 1ACT$  の翻訳を特異的に遮断することを発見した。また、真核生物翻訳開始因子 (eIF) である eIF4AII と eIF4GII が CACNA1A IRES に作用して  $\alpha 1ACT$  の翻訳を増強することを見出した。Ago4 に結合した miR-3191-5p は、eIF4AII 及び eIF4GII と CACNA1A IRES との作用を遮断し、IRES 依存性の  $\alpha 1ACT$  の翻訳を抑制した。さらに、AAV9 による miR-3191-5p の遺伝子送達は、SCA6 モデルマウスにおいて、CACNA1A IRES 依存性の  $\alpha 1ACT_{SCA6}$  に起因する運動失調、運動障害、及び Purkinje 細胞変性を抑制した。

本研究はマウスモデルにおいて、ウイルスベクターを用いた miRNA の遺伝子送達が細胞内 IRES 活性を修飾することで、疾患の表現型を改善できる原理を証明するものである。

## Figure and Note

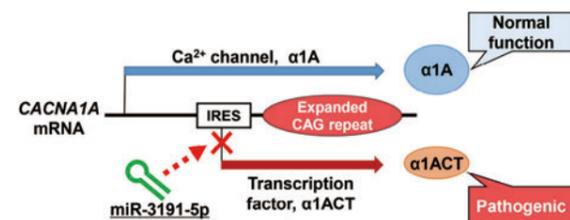


図 1:  $\alpha 1ACT$  の翻訳のみが阻害される仕組み

miR-3191-5p が CACNA1A IRES に直接作用し、IRES 依存性の  $\alpha 1ACT$  の翻訳を選択的に阻害する。一方で、miR-3191-5p は CACNA1A mRNA の分解をもたらさず、CACNA1A 遺伝子全長の産物である  $Ca^{2+}$  チャンネル  $\alpha 1A$  の産生は保たれる。

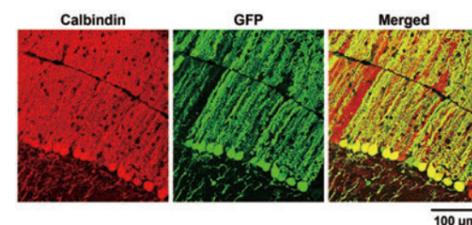


図 2: マウス小脳 Purkinje 細胞への遺伝子導入

緑色蛍光タンパク質 (GFP) と miR-3191-5p を共に発現するアデノ随伴ウイルスベクターを投与したマウス小脳の蛍光免疫染色画像。小脳 Purkinje 細胞を認識する Calbindin 抗体と GFP 抗体を用いて染色した。

## miRNA を用いた脊髄小脳失調症に対する新規遺伝子治療

脊髄小脳失調症 6 型 (SCA6) は常染色体優性遺伝形式を呈し、脊髄小脳失調症の 10-20% を占める頻度の高いサブタイプであり、罹患率は 10 万人あたり約 5 人です。通常 40-50 歳代に小脳失調で発症し、小脳の Purkinje 細胞の選択的な変性脱落とともに緩徐に進行します。SCA6 は CACNA1A 遺伝子内の CAG リピート配列が異常伸長することによって起こるポリグルタミン病のひとつです。CACNA1A 遺伝子は元来、電位依存性  $Ca^{2+}$  チャンネル ( $\alpha 1A$ , Cav2.1) をコードするものと考えられてきましたが、SCA6 における  $\alpha 1A$  のチャンネル異常と神経変性の関連性は乏しいと報告されています。2013 年に、CACNA1A 遺伝子はその転写産物から構造が異なる二つの独立したタンパク質が別々に翻訳される bicistronic 遺伝子であることが分かりました。すなわち、CACNA1A 遺伝子全長の産物である  $\alpha 1A$  と、C 末端 547 アミノ酸からなる転写因子  $\alpha 1ACT$  の二つのタンパク質です。また、second cistron である  $\alpha 1ACT$  の翻訳は internal ribosomal entry site (IRES) によって開始されます。SCA6 アレルの  $\alpha 1A$  から CACNA1A IRES の配列を除くと  $\alpha 1ACT_{SCA6}$  の発現は消失し、 $\alpha 1ACT_{SCA6}$  由来の細胞毒性も無くなります。一方、CACNA1A 遺伝子の発現を完全に抑制することは致死的变化をもたらすため、 $\alpha 1ACT$  の発現のみを選択的に抑えることが SCA6 に対する有効な治療選択肢になりうると考えられました。

今回の研究では、まず、最初に、明確な表現型を示す SCA6 モデルマウスを作製しました。CACNA1A 遺伝子の second cistron である  $\alpha 1ACT_{SCA6}$  を CACNA1A IRES 依存性に発現するアデノ随伴ウイルス (AAV) ベクターを、P1 期の野生型マウス脳室内へ投与すると、マウス大脳皮質神経細胞および小脳 Purkinje 細胞で  $\alpha 1ACT_{SCA6}$  が発現し、従来の SCA6 モデルマウスより明確な表現型が早期に認められました。

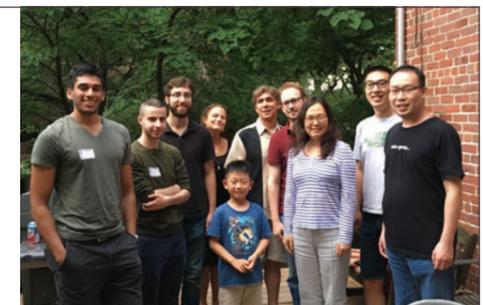
次に、培養細胞モデルにおいて、miR-3191-5p が Ago4 と共役することで CACNA1A IRES に直接結合し、CACNA1A IRES 依存性の  $\alpha 1ACT$  の翻訳を選択的に抑制すること、および  $\alpha 1A$  の発現には影響を与えないことを示しました。

続いて、上記の SCA6 マウスモデルにおいて、AAV ベクターを用いた miR-3191-5p の遺伝子導入が CACNA1A IRES 依存性の  $\alpha 1ACT$  の翻訳を選択的に抑制することで、SCA6 の表現型を改善することを証明しました。

近年、癌、代謝性疾患、炎症性疾患において様々な miRNA の治療可能性が報告されています。一方、miRNA が臨床における治療選択肢となりうるには、より効果的な遺伝子送達方法、off-target 効果の軽減など克服すべき課題があります。また、これまで、IRES を標的とした治療法は抗ウイルス療法が中心であり、SCA6 のような遺伝性疾患には適応されてきませんでした。一方で、IRES 依存性の翻訳は様々な癌において、c-myc, L-myc, epidermal growth factor receptor のような癌遺伝子の発現にも重要な役割を果たしています。今回の研究結果は、IRES 依存性の翻訳が関わるこれらの疾患に対して、miRNA による IRES を標的とした新たな治療可能性を提示するものです。

## 著者プロフィール (宮崎 雄)

神経内科医として臨床業務に従事した後、病態に基づく神経変性疾患に対する根治的治療法を開発すべく、村松 慎一先生との共同研究を通じ、miRNA を標的とした遺伝子治療の研究を行ってきました。シカゴ大学神経内科では、今回の成果のように日米間の共同研究も盛んで、お互いの得意分野を生かし、より高い成果を目指しています。将来は、神経変性疾患に対する遺伝子治療の臨床応用を世界において推進していきたいと考えています。



# 近赤外光線免疫療法を用いた腫瘍関連制御性T細胞の空間選択的排除

Spatially selective depletion of tumor-associated regulatory T cells with near-infrared photoimmunotherapy

Biying Xu<sup>2</sup> 中村 優子<sup>1</sup> 長屋 匡信<sup>1</sup> Peter L. Choyke<sup>1</sup> 長谷川 好則<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Molecular Imaging Program, Center for Cancer, Research National Cancer Institute/ National Institutes of Health

<sup>2</sup> Image Probe Development Center, National Heart, Lung, and Blood Institute/ National Institutes of Health

<sup>3</sup> 名古屋大学大学院 医学系研究科・医学部医学科 呼吸器内科



左から佐藤 和秀、佐藤 則子、下段、小林久隆

**佐藤 和秀** Kazuhide Sato

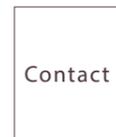
Visiting Fellow, Molecular Imaging Program, Center for Cancer Research, National Cancer Institute  
(現 名古屋大学大学院 医学系研究科 呼吸器内科学)

**佐藤 則子** Noriko Sato

Staff Scientist, Molecular Imaging Program, Center for Cancer Research, National Cancer Institute

**小林 久隆** Hisataka Kobayashi

Senior Investigator, Molecular Imaging Program, Center for Cancer Research, National Cancer Institute



佐藤 和秀 E-mail : k-sato@med.nagoya-u.ac.jp  
所在地 : 466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65 番地  
U R L : http://www.med-nagoya-respmed.jp/index.html  
小林 久隆 E-mail : kobayash@mail.nih.gov  
所在地 : Bldg. 10, Rm. B3B69, 10 Center Dr. Bethesda, MD 20892  
U R L : https://ccr.cancer.gov/Molecular-Imaging-Program/hisataka-kobayashi

## Abstract

がんに対する現在の免疫療法は、異なる免疫細胞集団間のバランスを調節することによって、抗腫瘍免疫応答を促進することを目的としている。しかし、これらの免疫療法は全身療法であるため、自己免疫に関する治療制限有害作用を引き起こすことが多い。体内の他の部位における恒常性を乱すことなく、腫瘍内において、サブレッサー細胞とエフェクター細胞のバランスを調節することが理想的であろう。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> 制御性 T 細胞 (T<sub>reg</sub>) は良く知られた免疫抑制細胞であり、腫瘍の免疫エスケープにおいて重要な役割を担うとともに、全身免疫療法の標的とされている。我々は CD25 を標的とした近赤外光線免疫療法 (NIR-PIT) を用いて、T<sub>reg</sub> を選択的に根絶し、これにより CD8<sup>+</sup> T 細胞及びナチュラルキラー細胞を活性化して、局所的な抗腫瘍免疫の回復を試みた。この結果、標的腫瘍の退縮が得られただけでなく、同じ細胞系列に由来する標的外の別の腫瘍において免疫応答が誘導された。本研究の結論は、CD25 を標的とした NIR-PIT は T<sub>reg</sub> の空間選択的根絶をもたらすことができる。したがって NIR-PIT は既存の腫瘍免疫療法のより良い代替アプローチとなる。

## Figure and Note

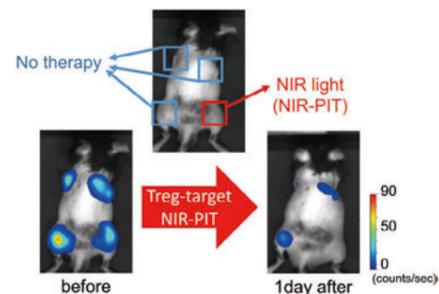


図1: 一つの腫瘍を治療するとすべての腫瘍が小さくなる  
同じ細胞腫の腫瘍を体の4か所に移植して、一つの腫瘍(右側腹部)のみで近赤外光線免疫療法を用いた腫瘍内局所の抑制性T細胞除去を行うと、翌日には治療した腫瘍のみならず、未治療の腫瘍もすべて縮小する。

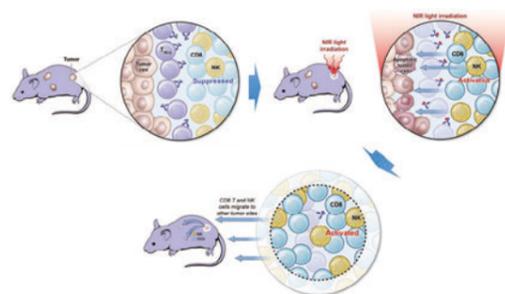


図2: 腫瘍内局所の抑制性T細胞除去でのがん治療の模式図  
近赤外光線免疫療法を用いた腫瘍内局所の抑制性T細胞除去を行うと、活性化されたCD8<sup>+</sup>T細胞はまず局所のがん細胞を攻撃し、全身に回って転移先のがん細胞も殺すことができる。

## 局所の腫瘍を治療すると遠隔転移がんも治るがん治療法

近年、宿主の免疫はがんの発生、治療両面で非常に重要であることがわかってきました。その中でも、免疫チェックポイント阻害抗体(抗CTLA4やPD-1/PD-L1)や免疫抑制細胞の除去抗体(抗CCR4)などは、既に臨床に応用されています。しかし、全身で免疫抑制を解除するとどうしても、がん病変以外の部分で起こる正常臓器に対する免疫反応(自己免疫)が、時に重篤な副作用として問題になります。がん病巣に浸潤している殺細胞性のリンパ球は、主としてがん細胞を認識しているものが多いので、がん組織局所で免疫抑制細胞を除去することは、がんに対する免疫を増強するが自己免疫を起こしにくく、理にかなっていると考えました。一方、私たちが開発した近赤外光線免疫療法は、体の中の狙った場所で目的の種類細胞を短時間で一気に殺傷できる初めての方法ですので、がん組織局所で免疫抑制細胞を除去するには最も適した技術です。そこで、この研究では、がん組織局所で免疫抑制細胞を除去することが、自己免疫を起こさず、がん免疫のみを起こし、新しいがん免疫療法となることを証明しました。

今回の研究での重要なポイントは、まず、CD25を標的とした近赤外光線免疫療法が、光を当てている5-10分の間、がん組織局所でTreg免疫抑制細胞を80%近く一気に除去できることです。するとその30分後には、腫瘍内に浸潤している攻撃型のリンパ球CD8<sup>+</sup>やNK細胞の大多数が活性化されて、近くにあるがん細胞を攻撃し始めます。そのためTreg免疫抑制細胞を除去した腫瘍は一日以内にほぼ死に絶えます。活性化された免疫細胞は、同じ細胞からなる腫瘍であれば、体内の他の部位にある未治療の腫瘍にも移動して同様にがん細胞を攻撃します。一方で、これらの細胞は、異なるがん細胞からできた腫瘍にはほとんど効果がありません。ですので、腫瘍内に存在していたTreg免疫抑制細胞の除去治療を行うと、治療した腫瘍内にあるがん細胞に特異的な免疫を活性化できることが証明されました。また、異なるがん細胞由来の腫瘍と同様に、体内の臓器には全く影響がありませんでした。これらの結果は、このCD25を標的とした近赤外光線免疫療法が自己免疫のような副作用となる過剰な免疫を起こす可能性が非常に低く、局所のがんを治療すると、全身に散らばった転移も治る可能性が高いことを示しています。

既に、がん細胞自体を標的にして破壊する近赤外光線免疫療法は、臨床治験を始めており、この方法が安全で高い治療効果を出せることがわかってきました。用いる化学物質や抗体コンジュゲートを作成する方法などは、全く同じですので、この研究で報告した免疫抑制細胞を除去する近赤外光線免疫療法も、臨床応用に向けて治験の準備を開始しています。この治療を用いることによって、遠隔転移のあるステージの高いがん患者さんの治療への可能性が大きく広がりました。

## NCI分子セラノステック・ラボ

私(小林)の主催するラボは米国メリーランド州ベセスダにあるNIHメインキャンパスの最も大きなビル10にあります。私自身とポスドク数人で研究を行っている小さなラボです。世界中の優れた共同研究者や、パテントをライセンスしている会社、この会社を出資してサポートして下さっている方々のおかげで、私たちの開発した近赤外光線免疫療法は、やっと患者さんのお役に立てる所まで漕ぎ着けてきました。究極のがん治療となるよう基礎研究に、臨床治験に日々頑張っています。



# 血管内皮成長因子(VEGF)阻害療法は細胞外マトリックス(ECM)リモデリングと物理学的機序による大腸癌肝転移の治療障害をもたらす

Anti-VEGF therapy induces ECM remodeling and mechanical barriers to therapy in colorectal cancer liver metastases

Nuh N. Rahbari<sup>1,2</sup> Dmitriy Kedrin<sup>1,3</sup> Joao Incio<sup>1</sup> Hao Liu<sup>1</sup> William W. Ho<sup>1,4</sup> Hadi T. Nia<sup>1</sup> Christina M. Edrich<sup>1</sup> Keehoon Jung<sup>1</sup> Julien Daubriac<sup>1</sup> Ivy Chen<sup>1,5</sup> 瓶子 隆弘<sup>1</sup> John D. Martin<sup>1</sup> Yuhui Huang<sup>1</sup> Nir Maimon<sup>1</sup> Christoph Reissfelder<sup>2</sup> Jurgen Weitz<sup>2</sup> Yves Boucher<sup>1</sup> Jeffrey W. Clark<sup>6</sup> Alan J. Grodzinsky<sup>7</sup> Dan G. Duda<sup>1</sup> Rakesh K. Jain<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Edwin L. Steele Laboratories for Tumor Biology, Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

<sup>2</sup> Department of General, Thoracic and Vascular Surgery, University Hospital Carl Gustav Carus, Technische Universität Dresden

<sup>3</sup> Division of Gastroenterology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

<sup>4</sup> Department of Chemical Engineering, Massachusetts Institute of Technology

<sup>5</sup> Harvard School of Engineering and Applied Sciences, Harvard University

<sup>6</sup> Department of Hematology/Oncology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

<sup>7</sup> Department of Mechanical Engineering, Massachusetts Institute of Technology



福村 大 Dai Fukumura

Associate Professor, Edwin L. Steele Laboratories for Tumor Biology, Department of Radiation Oncology, Massachusetts General Hospital and Harvard Medical School

Contact E-mail : dai@steele.mgh.harvard.edu  
所在地 : 100 Blossom Street, Cox-736, Boston, MA 02114, USA  
URL : https://steelelab.mgh.harvard.edu/

## Abstract

転移性大腸癌(mCRC)患者に対する抗血管内皮成長因子(VEGF)療法による生存期間延長は、耐性獲得のために数ヶ月が限界である。我々は、抗VEGF療法が細胞外マトリックス(ECM)リモデリングを誘導し、その結果、大腸癌の肝転移における腫瘍内微小環境、特にその物理的特性の変化をもたらすことを発見した。大腸癌患者の肝転移切除検体において、ペバシズマブを術前投与した群では、腫瘍内のヒアルロン酸(HA)沈着が有意に高かったこと、CRC肝転移のマウスモデルにおいて、抗VEGF治療がHA及び硫酸グリコサミノグリカン(sGAG)の密度を顕著に上昇させること、そしてこれらのマトリックス成分の密度が、抗VEGF治療後の腫瘍硬度(tumor stiffness)の増加と相関することを示した。さらに、組織化学、細胞実験等のデータを合わせると、抗VEGF治療に起因する腫瘍内低酸素状態が、ECMリモデリングの誘発因子であることが示された。我々は実験モデルにおいて、抗VEGF療法に特異酵素によるHAの分解を加えることによりmCRC肝転移における灌流障害を部分的に回復するとともに抗VEGF療法と化学療法の併用治療による生存期間を有意に延長することを示した。これらの結果は、HAなどのECM成分が、抗VEGF療法を受けるmCRC患者において、治療効果改善のための物理的バリアを低減するための治療対象となる可能性があることを示唆している。

## Figure and Note

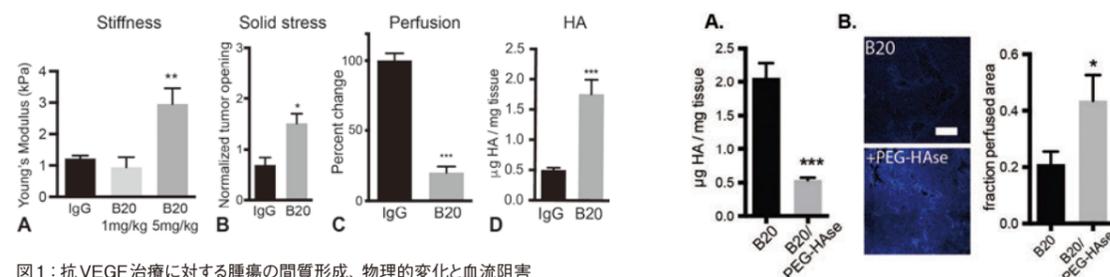


図1: 抗VEGF治療に対する腫瘍の間質形成、物理的变化と血流阻害。大腸癌肝転移マウスに抗VEGF抗体(B20)を投与し、剛性(A)、固体応力(B)、腫瘍血流(C)、ヒアルロン酸(D)を測定。Mean ± SEM; \*\*,\*\*\*P < .05, .01, .001

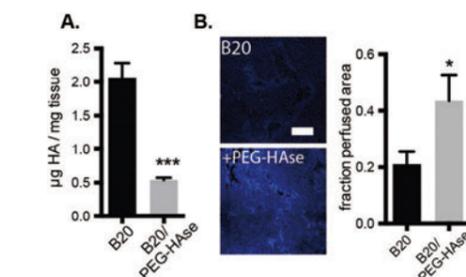


図2: ヒアルロン酸溶解による腫瘍間質と血流の正常化。ポリエチレングリコール結合ヒアルロニダーゼは抗VEGF抗体治療によるヒアルロン酸増加(A)並びに血流減少(B)を寛解した。(B左)代表的Hoechst33342顕微鏡像。スケールバー、200µm

# 大腸癌肝転移線維化寛解による抗血管新生、化学療法併用効果改善

転移性大腸癌には主として全身化学療法が行われますが、化学療法には腫瘍へのドラッグデリバリーが前提条件となります。固形癌では腫瘍間質によって遮られた限られたスペース内で腫瘍が増殖することにより、血管を圧迫し血流の減少を引き起こすことがわかってきています。抗VEGF抗体併用化学療法は、生存率改善が認められたことから、転移性大腸癌の標準治療となっていますが、その延命効果は十分とは言えません。抗血管新生療法抵抗性獲得のメカニズムを明らかとすることが、転移性大腸癌治療を改善するための急務と言えます。最近の動物実験で、抗血管新生療法が原発巣で低酸素増加を介して、腫瘍間質成分のコラーゲンを増加させることが報告されています。他の腫瘍間質構成分子、ヒアルロン酸(HA)やグリコサミノグリカン(sGAG)の動態、特に転移性腫瘍についてはほとんど研究されていませんが、HAは線維形成性腫瘍における血管圧縮やドラッグデリバリー阻害の生物学的要因であり、治療対象となる可能性があるとして注目を集めていますし、最近の研究で、膀胱癌の肝転移巣にHAとコラーゲンによる高密度の線維形成を認め、さらに患者の生存率と相関するという報告もあります。したがって、我々は、本研究において大腸癌肝転移巣における抗血管新生療法抵抗性獲得のメカニズムとしての腫瘍間質の役割を解析いたしました。

抗血管新生薬は腫瘍の血液供給をカットすることによって癌治療を改善すると当初考えられていました。しかし、今では我々や他の研究者によって、抗血管新生療法が腫瘍内の異常な脈管構造を正常化することによって、腫瘍への薬物や酸素の供給を改善し、化学療法薬や放射線治療の効果を促進することがわかってきています。腫瘍への薬物送達を妨げるもう一つの要因は腫瘍血管の圧縮です。腫瘍細胞を囲んでいる細胞外基質と腫瘍細胞が増殖することによって発生する圧力が、腫瘍血管を圧迫するのです。

最近、高濃度や長期間の抗血管新生治療による低酸素誘導が細胞外基質の主要構成要素であるコラーゲンを増加させるという報告があり、我々が他のマトリックス構成要素について検査した結果、特にヒアルロン酸(HA)とグリコサミノグリカン(sGAGs)が抗血管新生治療により増加し、治療抵抗性に関与していることがわかりました。大腸癌患者の肝転移のサンプルではHAが正常肝組織に比較して高密度であり、抗血管新生治療を受けた患者の肝転移検体ではさらに高いということがわかりました。さらにマウス大腸癌肝転移モデルにおいても高濃度抗血管新生治療は腫瘍間質密度(HA, sGAG)を上昇させ、腫瘍組織が硬化し、組織内圧力が上昇して血管を圧縮、血流を遮断することを発見しました(図1)。これに加えて、抗血管新生治療は、抗腫瘍免疫を抑制するような免疫細胞の流入を引き起こすことも観察されました。最後に、治療応用できるアプローチとして、HAを溶解するヒアルロニダーゼをポリエチレングリコールと結合して投与したところ、HAレベルを74%低下させ、抗血管新生、化学療法併用療法の効果を促進して、動物実験における生存期間を顕著に延長することに成功しました(図2)。

抗血管新生治療に対する抵抗性の様々なメカニズムが提唱されていますが、我々の研究は腫瘍間質における細胞外基質の変化に基づく腫瘍の物理的特性の役割に注目した最初の研究です。抗血管新生治療が腫瘍内のこれらの特性を変えることを初めて示すことに加えて、細胞外基質異常によって誘発される、腫瘍循環障害、低酸素が抗腫瘍免疫を妨げる免疫抑制細胞を誘引することも発見しました。しかしながら、動物モデルによる我々の研究結果は、臨床試験で確認される必要があります。臨床試験が成功した場合、この細胞外基質を正常化するというアプローチは高密度の細胞外基質を有する多様な癌の治療に有効であると考えられます。

## Edwin L. Steele Laboratories

私が Deputy Directorを務めさせていただいている米国マサチューセッツ総合病院並びにハーバード大学医学部の Edwin L. Steele Laboratories では癌を単に腫瘍細胞の塊としてではなく、血管、間質や様々な非腫瘍細胞(線維芽細胞、免疫細胞等)の集合体、一つの臓器として捉える研究に従事しています。腫瘍細胞の分子生物学的研究からの直接的臨床応用の困難さから、このような腫瘍微小環境の研究の重要性が近年注目されています。このような研究では、臨床データに基づいた、臨床病態を再現できるような動物モデルでの研究が欠かせません。今回の論文も新しい肝転移モデルでの研究と臨床検体による検証に拠って成り立っています。ご興味のある方は、下記のラボのホームページをご覧ください。https://steelelab.mgh.harvard.edu/



# Publish your research in *Science Immunology*

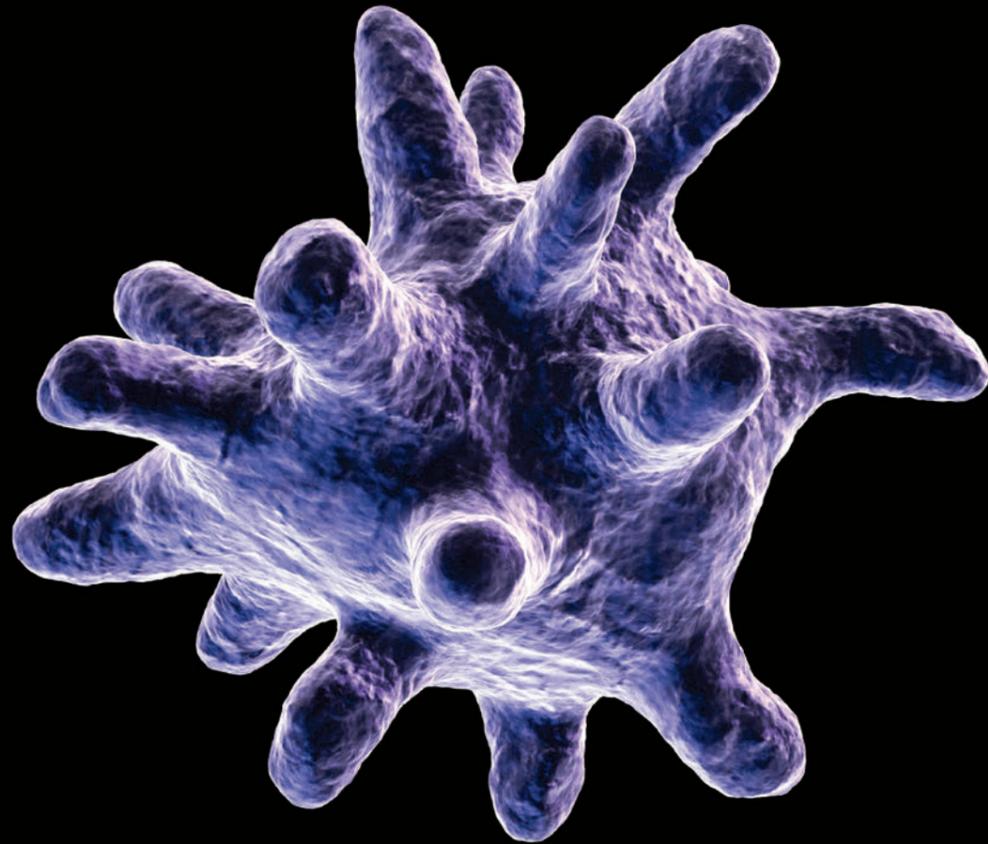


Image: Eraxion / iStockPhoto

————— NOW ACCEPTING PAPERS —————

*Science Immunology*, the newest member in the *Science* family of journals, provides original, peer-reviewed research articles that report critical advances in all areas of immunological research, including studies that provide insight into the human immune response in health and disease. Share your research with *Science Immunology*'s global readership and submit your manuscript today!

What will your discovery be?

Submit your manuscript today at  
[ScienceImmunology.org](http://ScienceImmunology.org)

**ScienceImmunology**  
AAAS

BE THE CORE  
MIND SPIRIT FACE  
HEART REACH  
CENTER VOICE  
OF SCIENCE.

AAAS members harness the power of scientific thinking to help tackle complex, global challenges.

Join the community of scientists, engineers, and educators whose work impacts millions.

How will **YOU** make your mark in science?

Join AAAS today.  
[www.aaas.org/join](http://www.aaas.org/join)



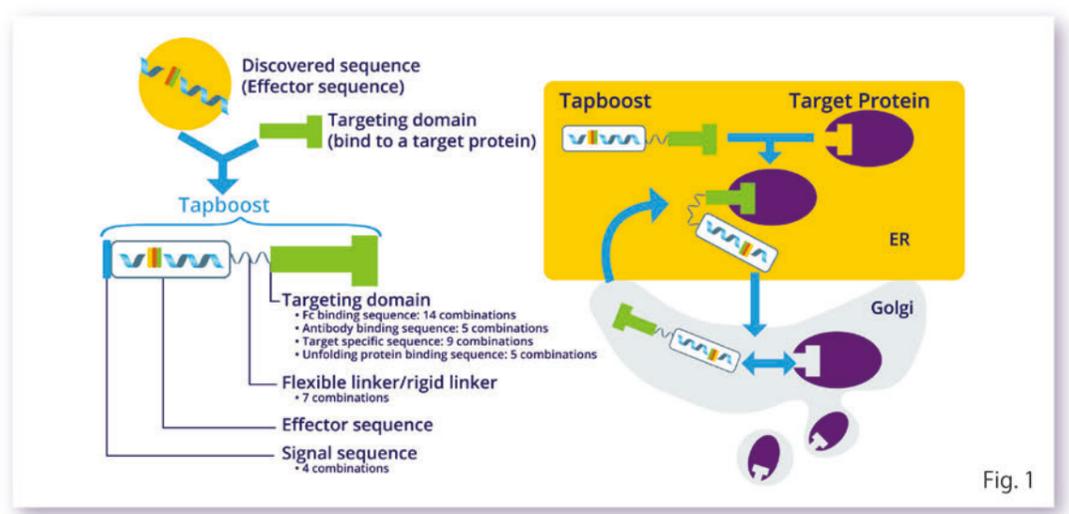
# TapBoost® Breakthrough technology

to improve your target  
protein production.

[Learn about our technology.](#)

## 独自の Tapboost® 技術により タンパク質フォールディングとタンパク質の発現を劇的に向上させます。

SOLA Biosciences 社では、独自の分子シャペロンモチーフを利用したタンパク質発現プラットフォーム“Tapboost® 技術” (Fig.1) を開発しました。目的タンパク質の正しいフォールディングを可能にし、さらに従来では発現が困難なタンパク質（分泌タンパク質や GPCR、Fc 融合タンパク質等）の発現を劇的に向上することに成功しました。Tapboost® は、ターゲットのタンパク質、または抗体だけを選択して生産性を向上させるために、そのターゲットタンパク質と結合可能な部位と連結できるように設計されています。



### 特長

- 既存の生物製剤やターゲット抗体の発現量を 3 ~ 10 倍に高める
- 発現の困難なタンパク質または抗体の発現を可能にする
- 活性を維持したまま発現が可能

### サービス内容

- Tapboost® 技術を取り入れたタンパク質発現ベクターのデザインおよび構築サービス
- タンパク質および抗体発現サービス
- ※ご希望により、安定発現細胞株の構築も可能です。

### 対応可能な宿主細胞

- 哺乳動物細胞（293 細胞系、CHO 等）
- その他、酵母発現系や大腸菌発現系、昆虫細胞発現系などご希望がございましたらお気軽にカスタマー・サービス部までお問合せください。

### Mammalian Expression Platform

Tapboost Platform has a great potential to enhance the production of many therapeutic recombinant proteins

Target proteins	Increased Productivity by Tapboost®	Fold Increase
<b>293T monolayer System</b>		
IL13Rα2-Fc		20
TNFR1-Fc (Enbrel)		5
Factor FVII-Fc		10
Factor IX-Fc		3
Factor VIII-Fc		21
Avastin		4
Humira		6
DP12		7
<b>293F Suspension System*</b>		
IL13Rα2-Fc		11
<b>CHO Suspension System*</b>		
IL13Rα2-Fc		4

\*Optimization process is in progress

## SB Drug Discovery 社 イオンチャネル安定発現細胞株 及びアッセイサービス

80 種類以上のイオンチャネル安定発現細胞株を取り揃えております。これらの細胞株を用いたアッセイ受託サービスも提供いたします。

SB Drug Discovery 社では、様々なイオンチャネル発現細胞株の販売、および電気生理学的手法 (Manual Patch Clamp / Automated Patch Clamp) や蛍光アッセイによるスクリーニングサービスを提供しています。

バリデーション済のイオンチャネル発現細胞株を 80 種類以上取り揃えており、リストにないターゲットのカスタム構築等も対応可能です。

詳細はコスモ・バイオ (株) カスタマー・サービス部までご相談ください。

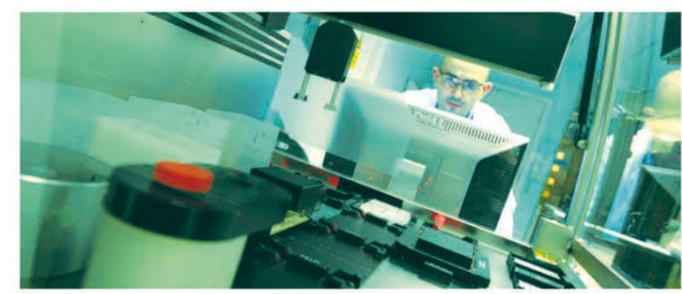
### 《製品・サービス内容》

スクリーニングアッセイ

in vitro 安全性評価試験

イオンチャネル安定発現細胞株

細胞株構築



## Ion Channel Cell Lines



《イオンチャネルターゲット一覧》

- TRP channels
- Voltage-Gated Sodium channels
- Voltage-Gated Calcium channels
- Voltage-Gated Potassium channels
- Potassium Inward Rectifier channels
- 2-pore potassium channels
- Calcium-activated potassium channels
- P2X channels
- Glutamate receptors
- Nicotinic receptors
- GABA-A receptors
- Cardiac channels
- Other Ion Channels

# Active Kinase and Other Active Enzymes



**Active Kinases** 活性型キナーゼ

**Active Acetyltransferases** 活性型アセチルトランスフェラーゼ

**Active Histone Deacetylases** 活性型ヒストン脱アセチル化酵素

**Active Arginine Deiminases** 活性型アルギニン分解酵素

**Active Kinase Mutants** 活性型キナーゼ変異体

**Active Phosphatases** 活性型脱リン酸化酵素

**Active Methyltransferases** 活性型メチル基転移酵素

## バルクサイズ

カタログ品のバルクサイズもご用意いたします。お気軽にお問い合わせください。

## カスタム品

変異を入れたカスタム品も承っております。

詳細は、コスモ・バイオの Web サイトから 記事 ID 検索：14772

## キナーゼプロファイリングサービス

約 500 種類のキナーゼによる酵素活性ベースの阻害剤の探索・解析に最適なプロファイリングサービスです。SignalChem 社では、使用するキナーゼについて厳格な QC を実施しており、またキナーゼの基質パネルにより、最適なリン酸化基質を選択しております。詳細は、コスモ・バイオの Web サイトから 記事 ID 検索：14771



## Active Enzyme カタログ 大好評配布中!!

SignalChem 社の 500 種類を超える活性型キナーゼ等のカタログです。各遺伝子の情報ははじめ、発現系や法規制、タグ、配列などを一目でご確認いただけます。巻末には別名索引を設けておりますので、検索も簡単です！がんなどの疾患研究や、創薬、薬理研究を行う研究者様におすすめです。

コスモ・バイオ WEB サイト『カタログ請求』からご請求ください。



人と科学のステキな未来へ  
コスモ・バイオ株式会社

お問い合わせ  
カスタマー・サービス部 TEL: (03)5632-9616  
URL: <http://www.cosmobio.co.jp/>