

## 抗がん剤によるがん免疫の活性化メカニズムを解明

～より効果的ながん免疫療法の開発に期待～

### ポイント

- ・抗がん剤の一種であるトポテカンががん免疫の活性化を促進することを発見。
- ・トポテカンが新規標的である RPL15 を阻害することでがん免疫を増強。
- ・RPL15 を選択的に阻害する薬剤の開発により、がん免疫療法の改良に期待。

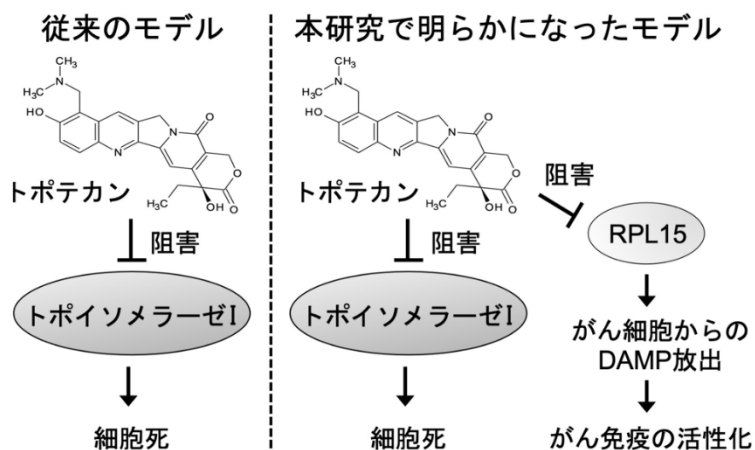
### 概要

北海道大学大学院薬学研究院の鍛代悠一助教、松田 正教授らの研究グループはトポテカンと呼ばれる抗がん剤が新規の標的タンパクであるRPL15を阻害することにより、がん免疫の活性化を促進することを明らかにしました。

細胞は化学物質・放射線・温度ストレスなど様々な傷害を受けた際に、DAMP\*<sup>1</sup>と呼ばれる免疫を活性化させる分子を放出することが知られています。がん細胞からの DAMP の放出はがん免疫の活性化とそれに伴うがん細胞の排除を促進することから、がんの治療効果にも影響すると考えられています。これまでに研究グループはトポテカンと呼ばれる抗がん剤で処理したがん細胞から免疫を活性化させる DAMP が放出され、がん免疫を促進させることを報告していました。しかし、どのようなメカニズムでこのような現象が誘導されるのかは不明でした。

本研究ではトポテカンには既知の標的タンパクであるトポイソメラーゼI以外に新規の標的としてRPL15が存在することを見出し、トポテカンはRPL15を阻害することでがん細胞からのDAMPの放出を促進することを解明しました。さらに抗PD-1抗体に対して抵抗性の皮膚がん（メラノーマ\*<sup>2</sup>）腫瘍において、RPL15の機能を阻害することで感受性に変化することをマウスの腫瘍移植モデルで明らかにしました。本研究の結果からトポイソメラーゼIには作用しないRPL15に特異的な阻害剤が開発できれば、抗PD-1抗体などのがん免疫療法の改良への貢献が期待できます。

なお、本研究成果は2022年6月20日（月）に *Journal of Immunology* 誌にてオンライン公開されました。



## 【背景】

免疫はウイルスや細菌などの病原体を排除して生体を防御するシステムですが、がん細胞に対しても同様に免疫細胞による攻撃が誘導されることが知られています。例えば免疫細胞の一種である細胞傷害性 T 細胞はがん細胞を攻撃しますが、この細胞傷害性 T 細胞を抗 PD-1 抗体で活性化させると、一部のがんにおいて腫瘍成長が減弱することが明らかとなっています。この抗 PD-1 抗体はニボルマブという一般名で、非小細胞肺癌やメラノーマなど様々ながんの治療に既に使われていますが、その治療効果には個人差が大きいことが知られています。その原因としては腫瘍内に存在する免疫細胞の組成や活性化状態などの腫瘍内微小環境の違いが非常に重要であると考えられています。

がんに対する抗がん剤治療や放射線治療を行なった際に腫瘍内微小環境に影響を与える要因の一つとして DAMP (Damage-associated molecular pattern、ダメージ関連分子パターン) が知られています。DAMP は化学物質や放射線など様々なストレスを受けた細胞から放出される DNA やタンパク質の一種であり、免疫細胞を活性化する能力を持っています。そのため、がん細胞からの DAMP の放出は腫瘍内に存在する免疫細胞の機能や組成に影響を与えることで、がん免疫療法をはじめとするがんの治療効果に関与すると考えられます。これまでに研究グループはトポテカン (一般名: ノギテカン) と呼ばれる抗がん剤が、がん細胞からの DAMP 放出を誘導することでがん免疫の活性化を促進することを明らかにしていました。しかし、どのようなメカニズムでトポテカンががん細胞からの DAMP 放出を誘導するのかについては分かっていませんでした。

そこで本研究ではトポテカンが DAMP 放出を誘導するメカニズムを解明することと、がん細胞からの DAMP 放出を介したがん微小環境の変化が抗 PD-1 抗体の抗腫瘍効果に影響を与えるかを検証することを目的としました。

## 【研究手法】

本研究ではトポテカンの新規標的タンパクを探索するため、トポテカンを結合させたビーズを作成し、がん細胞の細胞抽出液と混合後にビーズを沈殿させることにより、トポテカン結合タンパクを回収しました。回収したタンパク質を網羅的に解析することで、新規トポテカン結合タンパクとして RPL15 を同定しました。次に RPL15 とがん細胞からの DAMP 放出との相関について検証するため、ノックダウン<sup>\*3</sup>により RPL15 の産生を低下させた皮膚がん (メラノーマ) 細胞をマウスに移植し、腫瘍内に浸潤する免疫細胞の組成と活性化状態を評価しました。

## 【研究成果】

まずトポテカンの既知の標的であるトポイソメラーゼ I (TOP1) を欠損した MCF7 細胞を Cas-CRISPR 法により作成し、TOP1 の DAMP 放出への寄与を検証しました。TOP1 欠損 MCF7 細胞トポテカンによる DAMP の放出が誘導されたため、トポテカンは TOP1 とは異なる未知の標的タンパクを介して DAMP の放出を促進することが示されました。

次に DAMP 放出に関わる未知のトポテカン標的タンパクを同定するため、トポテカン結合ビーズを作成して細胞抽出液と混合し、トポテカン結合タンパクを質量分析により解析した結果、リボソーム S60 サブユニット構成タンパクである RPL15 を新規トポテカン結合タンパクとして同定しました (図 1, 2)。さらに RPL15 をノックダウンした MCF7 細胞では DAMP の放出が誘導されたことから、トポテカンは RPL15 に結合してその機能を阻害することでがん細胞からの DAMP 放出を促進することが示唆されました。

次に RPL15 をノックダウンした B16-F10 細胞 (マウスのメラノーマ細胞) を C57BL/6 マウスに

移植し、腫瘍浸潤免疫細胞の解析と抗 PD-1 抗体に対する感受性を評価しました。その結果、RPL15 をノックダウンした B16-F10 腫瘍は対照と比較して有意に腫瘍成長が低下しました。また対照の B16-F10 腫瘍は抗 PD-1 抗体による腫瘍抑制効果が確認できませんでしたが、RPL15 をノックダウンした B16-F10 腫瘍では抗 PD-1 抗体によって腫瘍成長が有意に低下しました (図 3)。

さらに腫瘍内に浸潤した免疫細胞をフローサイトメトリーにより解析した結果、RPL15 をノックダウンした B16-F10 腫瘍では細胞傷害性 T 細胞が有意に増加し、逆にがん免疫を抑制する制御性 T 細胞が低下していました。これらの結果から RPL15 の阻害はがん微小環境を細胞傷害性 T 細胞による細胞障害が誘導されやすい環境へ変化させるとともに、抗 PD-1 抗体による抗腫瘍効果を増大させることが示唆されました。

### 【今後への期待】

本研究ではトポテカンと呼ばれる抗がん剤の新規標的タンパクとして RPL15 を同定し、トポテカンが RPL15 を阻害することでがん細胞からの DAMP 放出を促進することを明らかにしました。さらに抗 PD-1 抗体に対して抵抗性であったメラノーマ腫瘍が RPL15 の機能を阻害することで感受性に変化することをマウスの腫瘍移植モデルで明らかにしました。本研究の結果からトポイソメラーゼ I には作用しない RPL15 特異的な阻害剤が開発できれば、抗 PD-1 抗体などのがん免疫療法の改良に貢献することが期待できます。

### 論文情報

論文名	Identification of RPL15 60S ribosomal protein as a novel topotecan target protein that correlates with DAMP secretion and antitumor immune activation (60S リボソームタンパクである RPL15 はトポテカンの新規標的であり、DAMP 放出とがん免疫の活性化に参与する)
著者名	山田駿介 <sup>1</sup> 、鍛代悠一 <sup>1</sup> 、田所高志 <sup>1</sup> 、高橋瑠奈 <sup>1</sup> 、小路 遥 <sup>1</sup> 、前本大雅 <sup>1</sup> 、石浦まりえ <sup>1(当時)</sup> 、室本竜太 <sup>1</sup> 、柏倉淳一 <sup>1</sup> 、石井 健 <sup>2</sup> 、前仲勝実 <sup>1</sup> 、河合太郎 <sup>3</sup> 、松田 正 <sup>1</sup> (1北海道大学大学院薬学研究院、2東京大学医科学研究所、3奈良先端科学技術大学院大学バイオサイエンス領域)
雑誌名	<i>Journal of Immunology</i> (免疫学の専門誌)
DOI	<a href="https://doi.org/10.4049/jimmunol.2100963">https://doi.org/10.4049/jimmunol.2100963</a>
公表日	2022 年 6 月 20 日 (月) (オンライン公開)

### お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 助教 鍛代悠一 (きたいゆういち)

T E L 011-706-3920 F A X 011-706-4990 メール [yu-kitai@pharm.hokudai.ac.jp](mailto:yu-kitai@pharm.hokudai.ac.jp)

北海道大学大学院薬学研究院 教授 松田 正 (まつただだし)

T E L 011-706-3243 F A X 011-706-4990 メール [tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp](mailto:tmatsuda@pharm.hokudai.ac.jp)

U R L <http://www.pharm.hokudai.ac.jp/eisei/index.html>

### 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール [jp-press@general.hokudai.ac.jp](mailto:jp-press@general.hokudai.ac.jp)

【参考図】

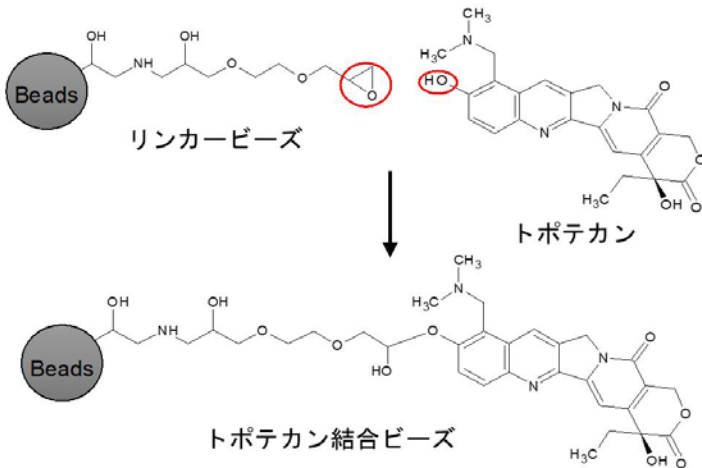


図 1. トポテカンビーズの作成の模式図。

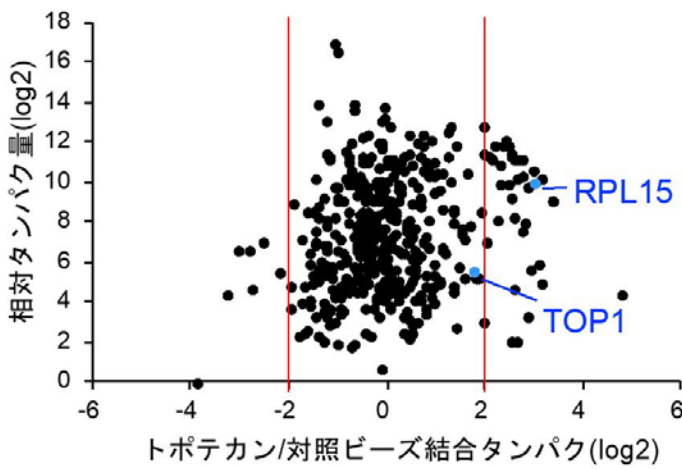


図 2. トポテカンビーズに結合したタンパク質の網羅的解析。

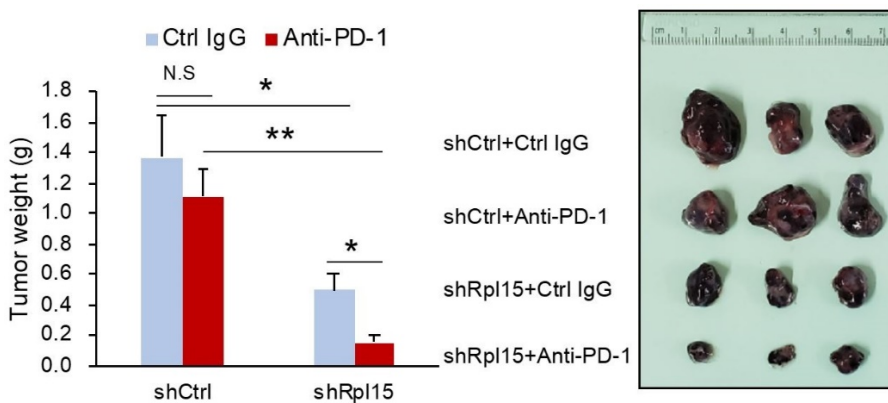


図 3. RPL15 をノックダウンした B16-F10 細胞をマウスに移植し、抗 PD-1 抗体を投与した後の腫瘍重量と腫瘍の写真。

【用語解説】

- \*1 DAMP … 細胞傷害によって放出され、免疫を活性化させる分子群のこと。ある種のタンパク質や DNA などが DAMP として機能することが知られている。
- \*2 メラノーマ … 皮膚に存在するメラノサイトと呼ばれるメラニン産生細胞ががん化したもの。
- \*3 ノックダウン … 特定の遺伝子の発現を抑制し、その機能を阻害する操作のこと。