

# Trefoil Factor の腫瘍免疫における役割

名古屋大学医学部附属病院  
病院准教授 山口淳平

## 1. 研究の背景・目的

Trefoil Factor Family (TFF)は消化管上皮細胞で産生される分泌型タンパク質であり、近年では腫瘍抑制作用を示すとする報告が相次いでいる。我々の研究グループでも TFF が膵癌・肝細胞癌・胆管癌・食道癌など各種消化器系固形癌の発生・増殖・浸潤を抑制する効果を発見し報告した<sup>(1-4)</sup>。これらの結果より、TFF を用いた固形癌腫瘍の新たな治療戦略には大きな可能性が秘められている。ところで TFF が腫瘍抑制的に作用するという現象は他グループからも報告されているが、これらは遺伝子改変マウスモデルを使った結果を基にしたものが多い。すなわち TFF 欠損マウス(TFFKO)では各種固形癌の発生が多いというのが、TFF による腫瘍抑制効果証明の根拠となっている。しかしこれらの TFFKO マウスは systemic knockout マウスであり、個体の全細胞で TFF を欠損したマウスであることから、TFF の腫瘍抑制効果が発揮される部位や作用機序の詳細は明らかではなかった。

近年では抗 PD-1/PD-L1 抗体による目覚ましい治療成績が示された事に端を発し、腫瘍免疫に対する関心が高まっている。PD-L1 は腫瘍細胞に発現するリガンドで、Tリンパ球の細胞膜上にあるレセプターPD-1 と相互作用して免疫寛容を惹起するとされている。しかし近年ではTリンパ球にも PD-L1 の発現が確認されているが、PD-L1 陽性Tリンパ球の腫瘍免疫における作用については未だ明らかではない。本研究の目的は TFF1 の腫瘍免疫における役割を解明する事、および PD-L1 陽性免疫細胞の腫瘍免疫における意味を明らかにすることである。

## 2. 研究の対象ならびに方法

一般的に悪性腫瘍に対する免疫療法の効果を予測する最には腫瘍細胞の形質、すなわち PD-L1 発現や MSI などが考慮されることが多く、免疫機構側の因子 (Tリンパ球の潜在的な活性化能力など) は考慮されない。本研究の独創的な点は、腫瘍免疫療法の

効果予測において腫瘍細胞の形質よりも免疫機構側の活性を target としている点にある。まずはマウスモデルを用いて、TFF と腫瘍免疫寛容の関連の詳細を明らかにすることを目標とし、野生型マウス (WT) および TFFKO マウスにマウス由来大腸癌細胞株である MC38 を皮下移植した担癌マウスを作成した。このモデルでは腫瘍 (癌細胞) はすべてのマウスにおいて MC38 に統一されているが、宿主となるマウスが WT および TFFKO と異なっていることが特徴的である。さらには WT マウスに recombinant TFF1 を皮下投与した群も作成し、個体における TFF1 負荷量の異なる 3 群を用意した (WT+TFF1 > WT > TFF1KO)。これにより、もし群間の腫瘍免疫寛容に何らかの差異が認められた際には、それは腫瘍側の因子ではなく免疫側 (宿主側) の因子による差異を示唆することになる。解析は両群の腫瘍組織の免疫染色を行い、腫瘍浸潤炎症細胞の形質を比較検討した。また末梢血から血球細胞を採取して同様の解析を行った。具体的には Effector T リンパ球 (CD4, CD8)、細胞障害性リンパ球 (GranzymeB)、Treg (Foxp3)、樹状細胞 (HLA-DR, CD11c)、など各種腫瘍免疫を担う血球数、および各細胞の PD-L1 発現を比較検討した。また、各群に PD-1 抗体を投与してその効果の差を解析し、悪性腫瘍に対する免疫治療における TFF1 の寄与も検討した。

### 3. 研究結果

#### (1) TFF1KO マウスではリンパ球活性化により腫瘍増殖が抑制された

3 つのマウス群に MC38 細胞を移植して 3 週間経過観察したところ、腫瘍の増大は特に TFF1KO マウスで優位に抑制された (図 1)。腫瘍内の CD4、CD8、GranzymeB 陽性細胞は TFF1 負荷量の減少に伴って増加し (WT+TFF1 < WT < TFF1KO)、PD-L1 陽性 CD8 リンパ球も同様の傾向を示した。これらより、個体内の TFF1 が腫瘍免疫に対して抑制的に働くことが示唆された (図 2)。

#### (2) TFF1KO マウスでは樹状細胞が活性化された

腫瘍内の CD11c 陽性細胞もまた TFF1 負荷量の減少に伴って増加し (WT+TFF1 < WT < TFF1KO)、PD-L1 陽性樹状細胞も同様の傾向を示した (図 3A-D)。興味深い事には、この PD-L1 陽性樹状細胞の増加は腫瘍内のみならず末梢血中でも確認され、TFF1 による腫瘍免疫抑制効果を裏付ける結果であった (図 3E)。

(3) TFF1KO マウスでは免疫療法が奏功した

WT マウスと TFF1KO マウスに抗 PD-1 抗体を投与したところ、KO マウスでは約半数で CR(complete response)に相当する効果を認めた (図 4)。これは免疫治療を行う際に TFF1 抑制を上乗せする事で治療効果の増強を図るという新たな免疫治療戦略の可能性を示唆している。

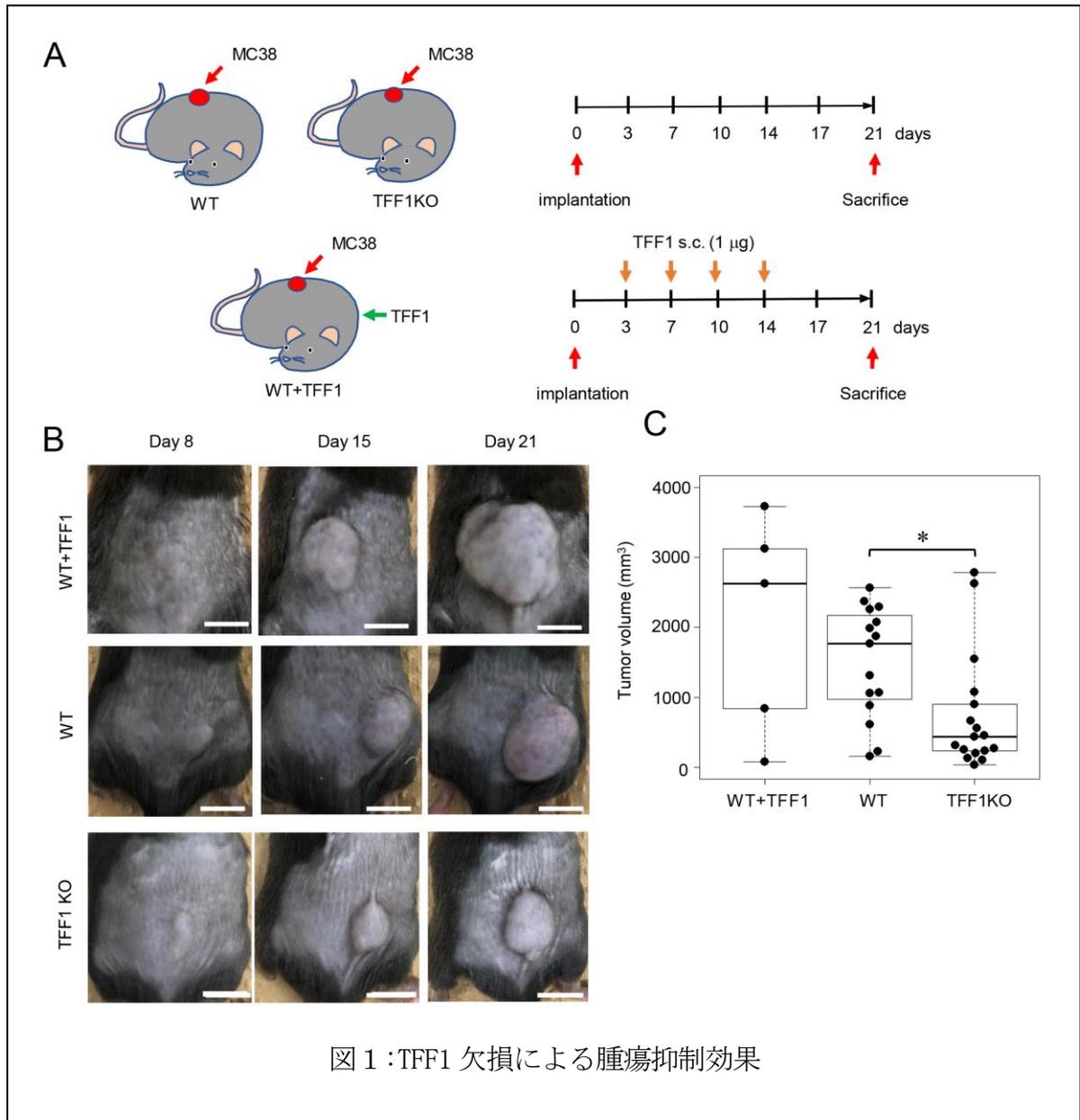


図 1 : TFF1 欠損による腫瘍抑制効果

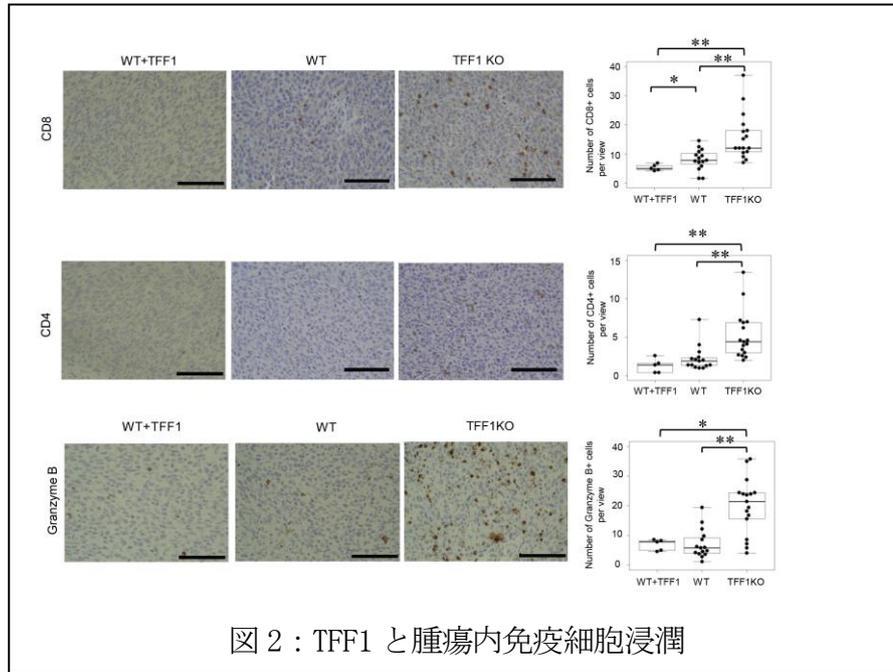


図 2 : TFF1 と腫瘍内免疫細胞浸潤

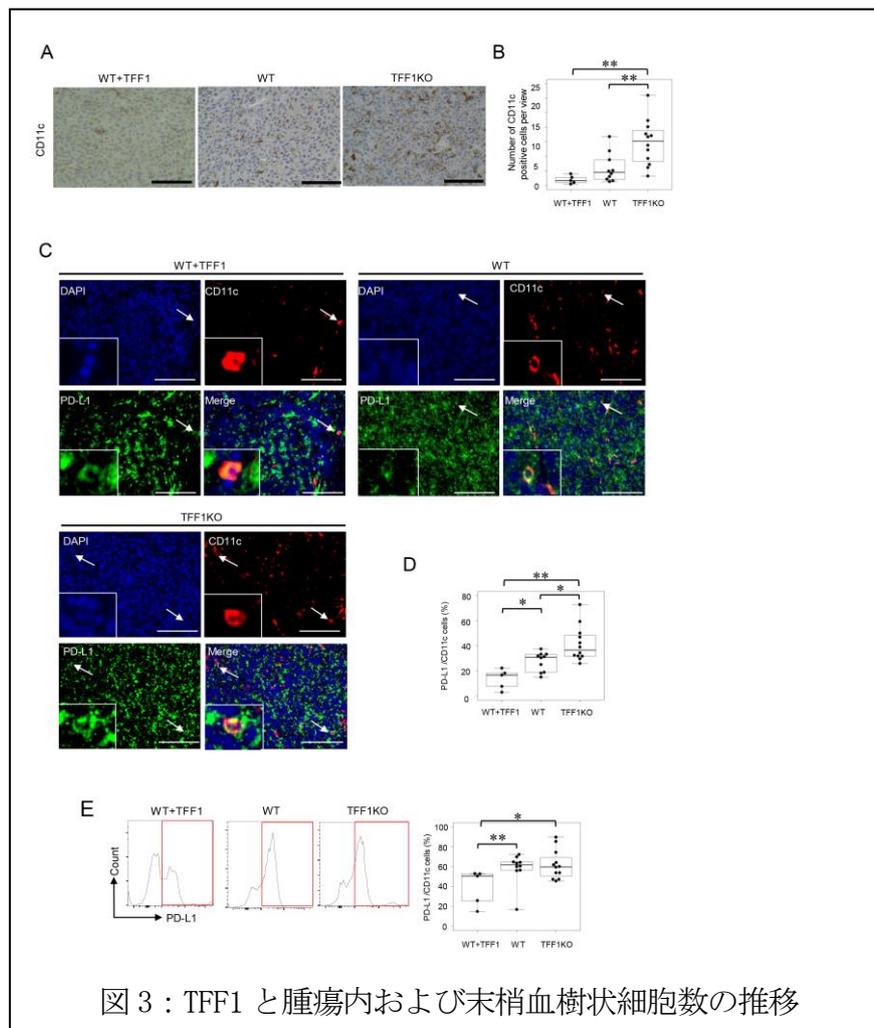


図 3 : TFF1 と腫瘍内および末梢血樹状細胞数の推移

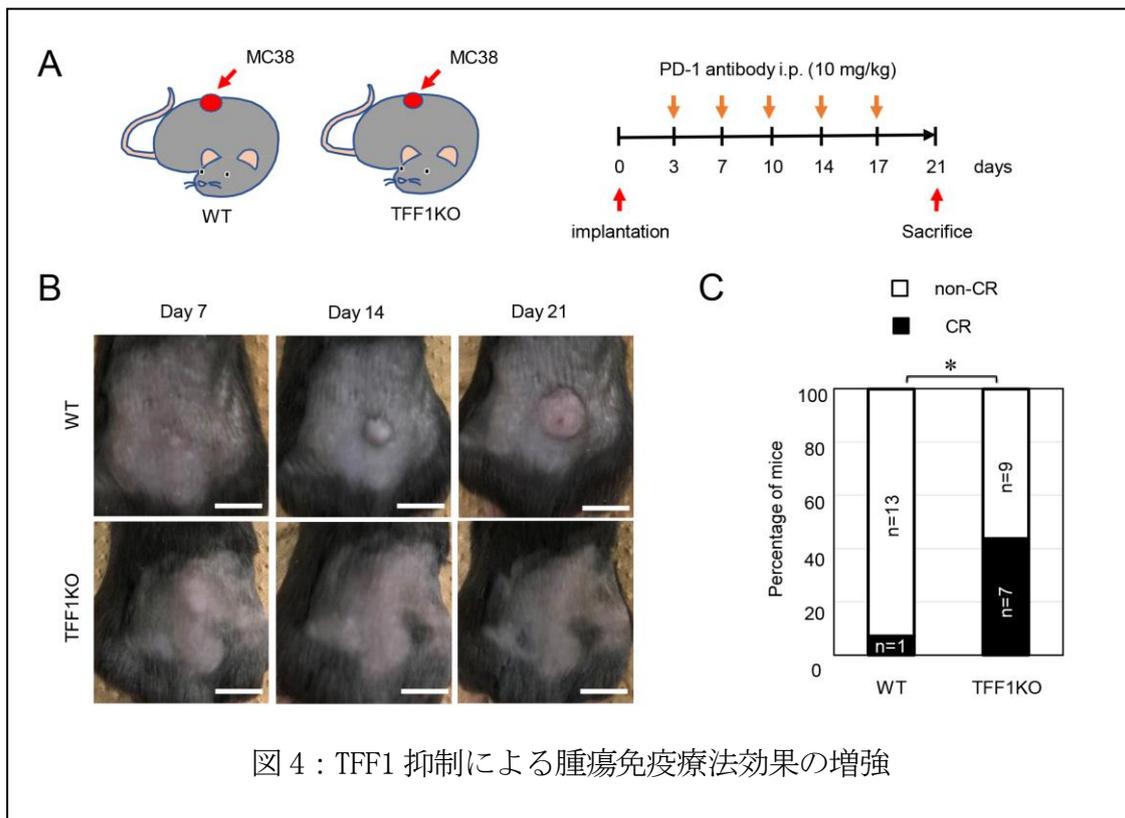


図 4 : TFF1 抑制による腫瘍免疫療法効果の増強

#### 4. 考察

今回の研究で、個体内の TFF1 は腫瘍免疫に対して抑制的に働くことが明らかとなった。また個体の腫瘍免疫の強弱は末梢血における PD-L1 陽性樹状細胞数を測定する事で予測可能であることが示唆された。さらには、TFF1 抑制により新たな腫瘍免疫治療を確立できる可能性が示唆された。

PD-1/PD-L1 抗体による免疫療法は癌治療の新たな扉を開いてきた。一方で、腫瘍細胞ではなく免疫細胞における PD-L1 発現の意味は未だ研究途上にある。リンパ球における PD-L1 発現もまた免疫寛容に寄与するとする報告もあれば<sup>(5)</sup>、PD-L1 陽性 T リンパ球が多い患者群において免疫療法が奏功するとする報告もある<sup>(6,7)</sup>。我々の研究では PD-L1 陽性樹状細胞が多い個体では免疫療法が奏功することが明らかとなった。推察するに、樹状細胞は腫瘍抗原を取り込んだ結果として PD-L1 を発現するようになるが、この PD-L1 により図らずも免疫寛容が亢進してしまうのではないか。つまり抗体治療によってこの PD-L1 陽性樹状細胞を再活性化することで、より高い治療効果が発揮された可能性がある。

これまでの報告では TFF1 は腫瘍の発生・増殖を抑制するとされてきたが、今回の結

果では TFF1 は腫瘍増殖をむしろ促進しているようにも見える。これは矛盾しているようにも思えるが、考えようによっては、TFF1 は「腫瘍細胞」の活性を抑制するのではなく「細胞一般」の活性を抑制しているのかもしれない。今回の研究では腫瘍細胞は TFF1 を発現していないので、宿主側の TFF1 が宿主の免疫細胞の活性を抑制する効果が前面に出ているものだと考えれば矛盾はない。いずれにせよ、TFF1 の起こしうる治療的効果についてはさらなる検討が必要である。

## 5. 文献

1: Hasebe K, Yamazaki K, Yamaguchi J, Kokuryo T, Yokoyama Y, Miyata K, Fukaya M, Nagino M, Ebata T. Trefoil factor 1 inhibits the development of esophageal adenocarcinoma from Barrett's epithelium. *Lab Invest*;102(8):885-895. 2022

2: Hasebe K, Yamaguchi J, Kokuryo T, Yokoyama Y, Ochiai Y, Nagino M, Ebata T. Trefoil factor family 2 inhibits cholangiocarcinogenesis by regulating the PTEN pathway in mice. *Carcinogenesis*;42(12):1496-1505. 2021

3: Ochiai Y, Yamaguchi J, Kokuryo T, Yokoyama Y, Ebata T, Nagino M. Trefoil Factor Family 1 Inhibits the Development of Hepatocellular Carcinoma by Regulating  $\beta$ -Catenin Activation. *Hepatology*;72(2):503-517. 2020

4: Yamaguchi J, Yokoyama Y, Kokuryo T, Ebata T, Enomoto A, Nagino M. Trefoil factor 1 inhibits epithelial-mesenchymal transition of pancreatic intraepithelial neoplasm. *J Clin Invest*;128(8):3619-3629. 2018

5: Diskin B, Adam S, Cassini MF, Sanchez G, Liria M, Aykut B, Buttar C, Li E, Sundberg B, Salas RD, Chen R, Wang J, Kim M, Farooq MS, Nguy S, Fedele C, Tang KH, Chen T, Wang W, Hundeyin M, Rossi JAK, Kurz E, Haq MIU, Karlen J, Kruger E, Sekendiz Z, Wu D, Shadaloey SAA, Baptiste G, Werba G, Selvaraj S, Loomis C, Wong KK, Leinwand J, Miller G. PD-L1 engagement on T cells promotes self-tolerance and suppression of neighboring macrophages and effector T cells in cancer. *Nat Immunol*;21(4):442-454. 2020

6: Rosenberg JE, Hoffman-Censits J, Powles T, van der Heijden MS, Balar AV, Necchi A, Dawson N, O'Donnell PH, Balmanoukian A, Loriot Y, Srinivas S, Retz MM, Grivas P, Joseph RW, Galsky MD, Fleming MT, Petrylak DP, Perez-Gracia JL, Burris HA, Castellano D, Canil C, Bellmunt J, Bajorin D, Nickles D, Bourgon R, Frampton GM, Cui N, Mariathasan S, Abidoye O, Fine GD, Dreicer R. Atezolizumab in patients with locally advanced and metastatic urothelial carcinoma who have progressed following treatment with platinum-based chemotherapy: a single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet*;387(10031):1909-20. 2016

7: Westin JR, Chu F, Zhang M, Fayad LE, Kwak LW, Fowler N, Romaguera J, Hagemester F, Fanale M, Samaniego F, Feng L, Baladandayuthapani V, Wang Z, Ma W, Gao Y, Wallace M, Vence LM, Radvanyi L, Muzzafar T, Rotem-Yehudar R, Davis RE, Neelapu SS. Safety and activity of PD1 blockade by pidilizumab in combination with rituximab in patients with relapsed follicular lymphoma: a single group, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol*;15(1):69-77. 2014