

受賞対象論文

Nishida M, Yamashita N, Ogawa T, Koseki K, Warabi E, Ohe T, Komatsu M, Matsushita H, Kakimi K, Kawakami E, Shiroguchi K, Udono H: Mitochondrial reactive oxygen species trigger metformin-dependent antitumor immunity via activation of Nrf2/mTORC1/p62 axis in tumor-infiltrating CD8T lymphocytes. *J Immunother Cancer* (2021) 9, e002954.

ハイライト

- ・2型糖尿病治療薬であるメトホルミンの抗腫瘍効果は活性酸素(ROS)依存性である。
- ・ROSはCD8TILのIFN γ 産生、Nrf2-mTORC1経路活性化による細胞増殖を誘導する。
- ・メトホルミンと抗PD-1抗体併用治療による腫瘍細胞の代謝低下はIFN γ 受容体シグナル依存性である。

西田 充香子

Mikako Nishida



岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫学

Department of Immunology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

<プロフィール>

2009年3月 神戸学院大学薬学部薬学科卒業
 2009年4月 神戸学院大学大学院薬学研究科修士課程入学
 2011年3月 神戸学院大学大学院薬学研究科修士課程修了
 2012年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程入学
 2016年3月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科博士課程修了
 2016年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫学 非常勤研究員
 2020年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫学 助教
 2021年4月 岡山大学学術研究院医歯薬学域 免疫学 助教
 現在に至る

研究背景と経緯

2型糖尿病治療薬であるメトホルミンは近年、糖尿病以外に心臓血管系疾患、神経変性疾患、がん、老化に対しても効果があるという報告が増加してきた^{1,2)}。それらの効果をもたらすためにはメトホルミンがまず、細胞のエネルギーセンサーであるAMPKを活性化する事が重要であるとされてきた。実際ががん領域においてもメトホルミンの抗腫瘍効果は腫瘍細胞のAMPK活性化に伴うmTORC1抑制すなわち細胞増殖抑制によってもたらされていると長年、考えられてきた²⁾。しかし、同メカニズムが作動するにはmM以上の濃度が必要であり、それでは腫瘍退縮に不可欠なエフェクター細胞の細胞増殖も抑制されてしまう可能性がある。そこで我々はメトホルミンの効果の発揮にAMPK以外の分子メカニズムがあるのではないかと考え、研究を行ってきた。これまでの研究から自由飲水にてメトホルミンを服用させることにより、担癌マウスの固形腫瘍の増大が遅延し、しばしば退縮することを見出した。この反応は抗CD8抗体の投与により生体内CD8T細胞を除去することにより消失したこと

からメトホルミンがもたらす抗腫瘍効果のエフェクター細胞はCD8T細胞であることを発見し、その研究成果に関しては2015年に誌上で報告をした³⁾。しかし、どのようにして腫瘍浸潤CD8T細胞(CD8TIL)がメトホルミンによって活性化されるのかという分子メカニズムに関しては不明な点も残されていたため、本研究ではメトホルミンによるCD8TILの活性化メカニズムの詳細の解明を試みた。

研究成果の内容

本研究で我々はメトホルミンがミトコンドリア呼吸鎖Complex Iの阻害剤であるという点に着目して検討を行った。Complex Iで発生した電子e⁻の呼吸鎖上における移動がメトホルミンによって阻害されるとミトコンドリアマトリックスに逆流して酸素と結合し活性酸素O₂⁻→H₂O₂を生み出す⁴⁾。このROSがメトホルミンによる抗腫瘍効果の発揮に重要なのではないかと考えた。そこでミトコンドリア特異的抗酸化剤MitoTEMPOを処置したところ興味深いことにメトホルミンによる腫瘍抑制効果は消失した。その一方で、

抗 PD-1 抗体腫瘍抑制効果は全く影響を受けなかった。さらに MitoTEMPO 処置によって腫瘍浸潤 CD8T 細胞 (CD8TIL) におけるグルコーストランスポーターである Glut-1 の発現が低下ならびに IFN γ 産生が低下したことから、ROS は Glut-1 の細胞膜表面への移行を促進し、解糖系を上昇させることで IFN γ 産生を初めとするサイトカイン多機能性を維持していることが明らかとなった。その一方で ROS は抗酸化ストレス応答の主要な転写因子である Nrf2 を活性化する。Nrf2 は p62 の発現上昇を介してオートファジーを促進し、続いてグルタミン代謝 (グルタミノリシス) を通して α ケトグルタル酸 (α KG) を産生し、これが mTORC1 を活性化して細胞増殖を引き起こす。さらに mTORC1 は p62 をリン酸化し、リン酸化 p62 は Nrf2/Keap1 複合体に作用して Keap1 を遊離させ、結果的に Nrf2 の活性化 (核内移行) に繋がる。結局、微量の ROS を起点としてポジティブフィードバックループにより Nrf2 の活性化が維持されている (図 1)。このようにループが回転し続けることは CD8TIL が過酷な腫瘍微小環境で増殖を維持し続けるため重要であると考えられる。興味深いことに解糖系の阻害剤である 2-デオキシグルコースを処置するとその活性が

低下することから解糖系の亢進は Nrf2 の活性維持という点においても必須であるということが分かってきた。また、メトホルミンと抗 PD-1 抗体との併用により、CD8TIL の解糖系をさらに上昇させることでより強力な Nrf2 の活性化をもたらすことが可能となり、その結果、CD8TIL は強力的に増殖を続けながらも ROS の蓄積を免れ、同時に IFN γ 産生を行うことから腫瘍局所は IFN γ に満たされることになる。事実、メトホルミンと抗 PD-1 抗体併用治療によって腫瘍細胞が IFN γ に強く反応していることはその RNA シークエンスの結果からも明らかとなっている。さらに腫瘍細胞に発生した IFN γ 受容体シグナルは驚いたことに腫瘍細胞の解糖系及び酸化的リン酸化の両方を強く抑制していることも分かった。

研究成果の意義

本研究の成果は 2 つの点で学術的に意義が高いと考えられる。まず 1 点目は冒頭に述べたようにこれまでメトホルミンによる抗がん作用は AMPK 活性化による腫瘍細胞への直接的な効果であると考えられてきたが、本研究においてメトホルミン治療によって CD8TIL

腫瘍浸潤 CD8T 細胞

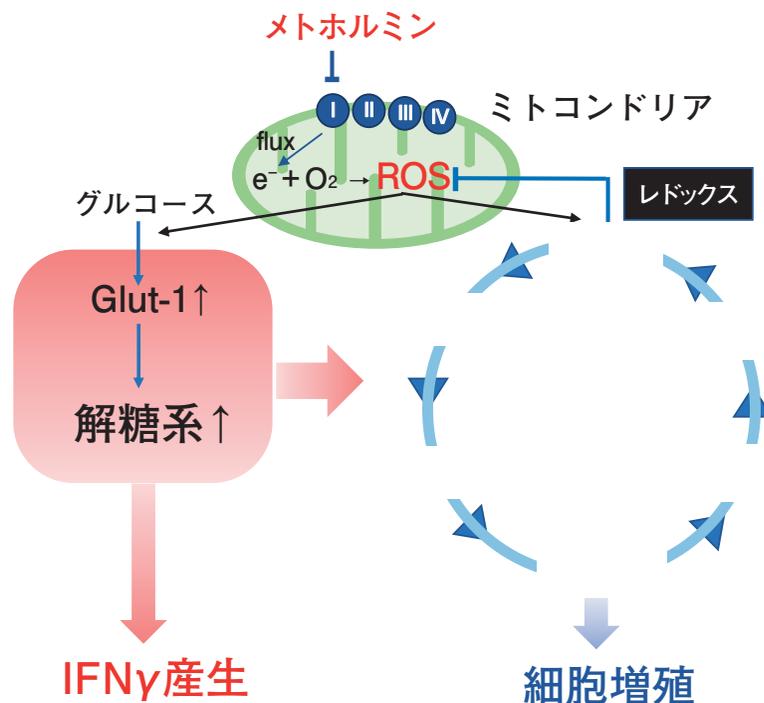


図 1 メトホルミンによる腫瘍浸潤 CD8T 細胞の活性化メカニズム

内に発生した ROS が CD8TIL の機能並びに細胞増殖の維持に寄与し、抗腫瘍効果を誘導するといった新たなメカニズムを明らかにしたことである。このことはさらに抗酸化ストレス応答によって疲弊 CD8TIL が再活性化するという腫瘍免疫において新たな視点を与える結果となっている。そして、2点目は腫瘍微小環境で CD8TIL と腫瘍細胞の代謝を逆転させるためには IFN γ が重要だという事実である。IFN γ はこれまでの免疫学においては、抗原提示細胞や腫瘍細胞の MHC 分子の発現上昇を介して間接的に T 細胞免疫に貢献すると考えられてきたが、本研究では IFN γ が腫瘍細胞の代謝を低下させ、加えて CD8TIL のプライミング及び活性化そのものに腫瘍細胞の IFN γ 受容体シグナルが必須であることを証明しており、IFN γ の機能のより本質に迫る成果も併せて得られたと考えられる。

今後の展開や展望

本研究でメトホルミンによる ROS を起点とした抗腫瘍効果のメカニズムの詳細を解明することができた。しかし、メカニズムの解明に至っても、特に腫瘍というものは手強く、メトホルミンによる免疫治療によっても完全な腫瘍退縮には至らない例があるのは事実である。そこには強力な免疫治療を行う上で生じる

adaptive resistance の問題がある。皮肉にもそれを引き起こす一つの原因が IFN γ であり⁵⁾、如何にして IFN γ の効果を最大限良い方向へ導くことが出来るかが今後の我々の取り組むべき課題であり、その詳細が明らかになった暁には、がんを制圧できる日は近いように思う。

文 献

- 1) Lv Z, Guo Y: Metformin and Its Benefits for Various Diseases. *Front Endocrinol (Lausanne)* (2020) 11, 191.
- 2) Morales DR, Morris AD: Metformin in cancer treatment and prevention. *Annu Rev Med* (2015) 66, 17-29.
- 3) Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E, et al.: Immune-mediated antitumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2015) 112, 1809-1814.
- 4) De Haes W, Frooninckx L, Van Assche R, Smolders A, Depuydt G, et al.: Metformin promotes lifespan through mitohormesis via the peroxiredoxin PRDX-2. *Proc Natl Acad Sci U S A* (2014) 111, E2501-2509.
- 5) Benci JL, Xu B, Qiu Y, Wu TJ, Dada H, et al.: Tumor Interferon Signaling Regulates a Multigenic Resistance Program to Immune Checkpoint Blockade. *Cell* (2016) 167, 1540-1554.

2022年5月5日受稿

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7188 FAX：086-235-7193

E-mail：m-nishida@okayama-u.ac.jp