

解 説

「癌と免疫の対峙を代謝で読み解く腫瘍免疫学」

ーメトホルミンによる癌治療への異次元戦略ー

鵜殿 平一郎¹⁾

¹⁾岡山大学大学院医歯薬学総合研究科免疫学分野教授

岡山大学の鵜殿でございます。

古川先生、過分な御紹介ありがとうございます。

私は、今御紹介ありましたけれども、1985 年に大学を卒業しまして、臨床研修をちょっとやった後に、そのときの内科の上司から外で勉強してこいと、何でもいいから行けとか言われて、実はいろいろ探したんですね。私、長崎なので長崎を出るとしたらやっぱり東京へ行きたいなとか、熊本にもいい先生がいるなとか、いろいろ迷ったんですが、当時結婚したばかりでして、長崎を離れられないなということがありまして。

そうしますと、地元に珠玖洋先生という、古川先生の上司でもあった方が長崎に、いきなりニューヨークのスローンケタリング癌研究所からどんと赴任してこられてまして。幸い私はそこに入ることができまして、初めて癌免疫研究という世界に飛び込んだんですけれども、とにかく今では皆さんが想像もつかないくらい激しい教室でございました。不夜城と言うのがぴったりで、本当に寝る間もなく皆さんが研究されている研究室で、大学院の学生もいろんな方を含めると 30 人ぐらいいましたかね。野球チームが二つできるような、毎年医局対抗もやっておりました。

そうこうしているうちに古川先生御夫妻がまたニューヨークからどんと来られてまして、一番遅くまで実験されているのが古川先生なんですね。大体 1 時前に古川先生が帰るのを見たことがないです。いつも 2 時かそれくらいに帰っておられて、朝はちゃんと出てこられているんですよ。どういう生活をしているのかなと常々不思議であったわけですが、珠玖先生とか古川先生からい

ろいろ鍛えられまして今に至っているわけです。

今日は、本庶先生が無事というかやっとノーベル賞を受賞されて、そのお話ももちろん出てきますし、それとはちょっと異なるアングルで腫瘍免疫学を御紹介したいと思います。

タイトルは、癌とそれをやっつける免疫細胞が対峙するんですが、それを代謝で読み解いてみようということです。平たく言えば、御飯を食べないと戦ができないということわざがありますけれど、それなんです。免疫 T 細胞が御飯を食べられないために結局癌に負けちゃうと。その限りある食糧は誰が食べているかということ、癌細胞なんですね。そういう単純な理由で癌が大きくなって、せっかく活性化した免疫細胞はあるんだけども負けてしまうと。ただそれだけのお話です。

どういうふうにそれを解きほぐしていくかという話ですが、癌の免疫治療あるいは癌免疫学というのは非常に歴史が古うございまして、実は 100 年以上の歴史があります。それを一つ一つここでお話する時間はありませんけれども、私思うに、1990 年が一つの区切り、2013 年が一つの区切りかなと思っています。

それはどういうことかといいますと、1990 年あるいは 91 年ぐらいに癌抗原の実態が明らかになりました。キラー T 細胞が認識する癌抗原というのは一体何かということがずっとわからなかったもので、これより前の時代は、癌免疫の研究のあらゆる努力は、ほとんどが自然免疫の活性化です。マクロファージとかナチュラルキラーとか、あるいはインターロイキン 2 で無理やり CD8 T 細胞を活性化するとかいうことが多かったんで

すけれども、90年以降はおびただしい数の癌抗原が同定されました。

私は94年まで留学して95年に戻ってきましたけれども、基盤的癌免疫研究会というのが日本で立ち上がったところで、癌抗原ペプチドで患者さんを免疫すると癌が治るのではないかということも多くの方々が期待して、この当時の癌免疫研究というのは、それはそれは非常に熱を帯びたものでした。

また、その癌抗原でCD8T細胞を刺激、増殖して、そのT細胞を患者さんに戻すと。だから、癌ペプチドワクチンとそれによって *in vitro* で増えたT細胞を患者さんに戻すということを約20年間続けてきたと思いますけれども、結果、やはり効果に乏しいということがわかりまして、非常に落胆したんですね。

私自身も、理化学研究所に2003年から11年までいましたけれども、その間は一切癌免疫研究をやっていません。というのは、免疫で癌を治すのは難しいということを薄々感じていましたので距離をあけていたというのが本当です。

2011年、岡山にやってきたんですけれども、どうしようかなと。もう理化学研究所にいたときみたいに研究できないなという思いからいろいろ周りを見渡したら、臨床の先生で癌をやっている方が結構多くて、何か一緒にできないかなと。もう一度癌免疫研究で、免疫で癌を治してみようということを始めたのが2011、12年です。でも、人と同じようなことはしたくないということで、代謝の研究を始めたわけです。

そうこうするうちに、2013年にチェックポイント阻害剤というものすごいデータが *New England Journal of Medicine* に出てきて、この瞬間、癌免疫研究も変わったと、この前と後では全然時代が違うということを即座に理解しました。私どもの代謝研究は、ある意味ではその時流に乗ったというところがあるかなと思います。

皆さん御存じのように、今年のノーベル医学・生理学賞がジェームズ・アリソン先生と本庶佑先

生に決まりましたけれども、このお二人は何を発見したのか。

これ、キラーT細胞がありまして、こっちは樹状細胞で、抗原をT細胞レセプターで認識するんですが、このときに、副刺激分子のCD28とCD80という分子あるいは86という分子が手をつなぐことがこのT細胞をフルに活性化するには非常に大事だと、免疫学の教科書にも書いてあって、私どもも、TCR刺激とCD28刺激さえあれば癌が治るとかたく信じてここまで来たわけです。ところが、この横にCTLA-4という分子がありまして、これが活性化されるとCTLA-4が細胞の中からぐっと頭をもたげてきます。そうしますと、この分子はCD86をCD28から奪って、結果的にこのT細胞を負に制御してしまう、元気を奪ってしまうという分子です。

ジェームズ・アリソン先生という人は、このCTLA-4をノックアウトしたら、ネズミの中で体中にこのT細胞増殖反応を起こし自己免疫疾患の状況になると、あちこちに病気を起こすことを見つけられて、じゃあ、このCTLA-4とCD86が手をつなぐところを抗体でブロックしてやったら何が起ころんだらうということをやったら、癌が拒絶されてしまったということを見つけた。これがCTLA-4のストーリーです。イピリムマブという抗体で人に使われています。

一方、本庶先生は、PD-1という分子が胸腺に関係している分子として同定されてきて、よくわからないので、これをノックアウトしました。何が起こったかというと、やっぱり自己免疫疾患が起こってきたということで、本庶先生は最初この分子を自己免疫疾患を制御する大事な分子だと。相方分子もすぐとられて、PD-L1、これはもちろん樹状細胞にも発現していますし癌細胞によく発現されています。これをノックアウトしたら自己免疫になる、CTLA-4もノックアウトしたら自己免疫になる、非常に似た分子ですけれども、本庶先生も、中和抗体をここに入れると癌が拒絶され、あるいはPD-1ノックアウトマウスに腫瘍を

打ったら腫瘍がつかないということで、発見の経緯は、この二つの分子は非常に似通っています。

どうも同じT細胞上にこの CTLA-4 と PD-1 二つの分子があると、それぞれの中和抗体で、ブロック抗体で癌が治るのではないかという憶測は実は水面下でずっと続いていたわけです。

一つキーワードとして皆様に今日覚えていただきたいのは、免疫疲弊と。疲弊という言葉はわかりますよね、疲労ですね、疲れてしまう。これを「Immune-exhaustion」と呼んでいます。「免疫チェックポイントとは？」と書いていますが、これがすなわち PD-1 であったり CTLA-4 であったりするわけです。免疫をチェックしている分子です。

先ほどの繰り返しになりますけれども、ナイーブな CD8 T 細胞が樹状細胞の抗原を認識しますと、そのときに副刺激の CD28、樹状細胞上の CD80 が手をつなぎます。CD4 T 細胞も同じように抗原をもらってインターロイキン 2 を出すと、ナイーブな CD8 T 細胞がいわゆる細胞傷害性 T 細胞として、非常に強力なキラー T 細胞として癌を殺しに、癌局所にやってくるんですね。それで最初のほうは頑張って殺すんですが、そのうちこの T 細胞が PD-1 というのを出し、あつという間に今度癌細胞が PD-L1 というのを出してくる。そうしますと、この細胞はもう疲弊して動けなくなります。皮肉なことに、この細胞が一生懸命仕事をしているときにインターフェロンγというのを出すんですが、癌細胞というのはインターフェロンγをもらおうとさらに PD-L1 を出して、PD-1 と手をつないでより強くキラー T 細胞を抑制するというので、いろんなステップを経て、いわゆる現場で仕事をしようと思うんだけど、最終的に癌がストップをかけるというメカニズムなんですね。本庶先生の抗体は PD-L1 と PD-1 をブロックするので、T 細胞が疲労することなく癌細胞を攻撃できるというロジックになるわけです。

ニボルマブというのが PD-1 に対する抗体、イ

ピリムマブというのが CTLA-4 に対する抗体。この二つを悪性黒色腫アドバンスの人で、これを見てもらったらわかりますが、これは胸部の CT で、黒いところが肺で、空気いっぱいのところは黒く見えます。この矢印のところは全部悪性黒色腫の転移です。転移巣がごろごろと体中にある人ですけども、この二つの抗体を注射して約 3 カ月後、もともとあったところの腫瘍がほとんど消えてしまった。余命数カ月だった方が完全に生還したという驚くべきデータが 2013 年に出たわけです。癌のワクチンとかは一切していない、抗体を二つ入れただけです。

たまたまだろうという、そうではなくて、多くの患者さんが 3 カ月以内に腫瘍がマイナス 100% 近くまで小さくなって、抗癌剤だったらここからまた大きくなるんですけども、ずーっと小さくなったままということで、いわゆる治癒した方が出てきた。2013 年 6 月だったと思いますが、私たちが驚愕したデータで、ここから癌の治療は変わると。

そのときの T 細胞って一体何を認識しているのかということですが、ミューテーションを起こした抗原を認識していると。ミスマッチ・リペア、私たちの体は遺伝子に傷がつくとそれを修復しようという遺伝子機構が働きますけれども、このミスマッチ・リペアの機能が欠損している人ほど、欠損している癌ほど免疫療法がよく効くんですね。すなわち、遺伝子の修復ができない癌というのはたくさんミューテーションを抱えていて、そのミューテーションを起こした部位が免疫細胞に認識されて治癒していると。一方、ミスマッチ・リペア機能が保存されている癌は効かないんですね。認識すべき抗原がこの癌にはないということで、やはり癌抗原としてはミューテーションを起こしているものが非常にパワフルな抗原足り得るということがこのデータからもわかるわけです。

結局これをまとめますと、実は T 細胞にはいろんな膜分子がありまして、そこに例えば PD-1 の

ように PD-L1 と手をつなぐと抑制のシグナルを出す、CTLA-4 のように CD80、86 と手をつなぐと抑制のシグナルを出す。一方、活性化シグナルを入れるのもあるわけですね。そういうのがここにずらっとありますけれども、たくさんこういうのを用意している。

抑制シグナルを出す代表的なのがここにありますし、活性化シグナルを出す代表的なものがここにある。今回大当たりしたのが、この PD-1 に対する抗体。これが売り出されたときには、ワンショット、1 回の注射が 70 万円です。体重 60 から 70 キロの人が、2 週間に 1 回打つんです。1 年間 3,500 万円かかるという抗体で、関係の方おられるかもしれませんが、小野薬品工業株式会社は株価が上がって大変なことになったわけです。

CTLA-4、イピリムマブという抗体ですが、この抗体と PD-1 抗体と両方打つととってもよく効くというのが、先ほどの CT の結果です。今、2 匹目 3 匹目のドジョウを狙ってこういうものに対する抗体はもうできているはずですよ。今後どうなるかは今からの見ものです。

逆に、これらの分子に対するアゴニスティック抗体を入れると、ここからシグナルが入って T 細胞が元気になるんですね。そういうことを考えている人もいます。

いずれにしても、このブロッキングアンチボディ、アゴニスティックアンチボディを使って T 細胞を活性化し癌を治そうということが、そうそうたるメンバーの方が企てている腫瘍免疫の現状です。

何が原因で抗体が効いているのかがわかったのは、実は去年なんですよ。あれって思うんですけども、みんな、抑制あるいは刺激とかってわかったようなことを言っているけれども、何がどうなっているか、実はこのときまでよくわかっていなかった。

このネズミは LCMV という慢性感染症を起こすウイルスを注射してやって慢性感染症になります。このウイルスを認識する T 細胞はもともと

少ないんですけども、ここに α PD-L1 という抗体を打つことによってどーんと増えるんですね。だからウイルスの排除にかかる。ところが、ここに CTLA-4-Ig というのを入れると、これがまたもとに戻っちゃうということで、これはどうも CD28、副刺激を使った反応なんだなと。何だと、免疫学でいう一番大事なところの分子メカニズムを使っているじゃないかと。チェックポイントブロッケードという治療ですね。

これは癌の実験ですけども、大腸癌を打つとこうやって大きくなってネズミは死ぬ。この抗体を打つとほとんど拒絶してしまう、治った。ここに α B7 という抗体を打つとまた大きくなった。B7 の相方は CD28 でしたね。結局この現象というのは、CD28 と B7 が手をつなぐことが大事なんだと、ここを回復させているんだということがわかってきたわけです。

要するに、これは樹状細胞、MHC 抗原ペプチドを認識する T 細胞抗原レセプター、B7 というのが CD28 と手をつなぐ。PD-1 というのは通常 PI3K を抑えているらしくて、その後のシグナルが伝わらないんですけども、中和抗体がここに結合することによってこの抑えがなくなる、復活するんです。実はこの上流にあるのは CD28、B7 だったということなんですよ。何だと、第 1 シグナルと、僕は第 2 シグナルと言っていますけれども、免疫学でいうところの極めて重要な副刺激の分子からの下流が α PD-1 で復活するのかと。わかってみたら何だということだったんですね。

mTOR、御存じかと思いますが、HIF-1 α が行って、今度はここですね、グルコースを食べます。糖代謝が亢進して T 細胞活性化の転写因子 NFAT、これがサイトカインを出すわけですね。今日はこの辺のお話をします。

関係ないような感じがしますが、とにかく NFAT でもって T 細胞が活性化されるわけですから、グルコースを取り込んで NFAT が核内へ移行するというのが非常に意味を持っているというお話をこれからしていきます。

英語で申しわけないですけども、この夢のような癌の治療薬は、しかし多くの癌でせいぜい2、3割しか反応しない、効かない。残りの8割の患者さんはうんともすんとも効かない。なぜ効かないかはわからないということです。それなりの大変重要な理由があると思うんですね。

腫瘍免疫学を研究するときに何から手をつけていいのかというのがありますが、これが癌の組織で、その横に **draining lymph nodes** というのがあります。二つの重要な細胞があって、一つは樹状細胞、もう一つはキラーT細胞です。これが自由に行き来できるような状況が好ましい状況なんですね。

腫瘍微小環境というところから **CCL4** というケモカインが出ると樹状細胞がやってきます。この辺でぱらぱらと死んだ癌細胞から抗原を食べて、取り込んで特殊な樹状細胞として **draining lymph nodes** に入っていきます。そうしますと、ここで血液からやってきたT細胞と出くわして抗原提示、プライミングということが起こってT細胞活性化して、また腫瘍のところにホームバックしてくるんですね。ここで癌と闘うということですが、**PD-1**、**PD-L1** 結合がここで起こりますから、ここで疲弊が起こっちゃうよということです。だから、自分はどこを研究しようかなということになるわけです。

これはアイラ・メルマンという人が書いたレビューで、世界的にとにかくこれをもとに研究を行うというのが今主流になっていまして、必ずこのスライドを出せと製薬企業からも言われるんですが、同じことです。癌組織があって、癌抗原、癌が死ぬと癌抗原が出てきます。それを樹状細胞が食べてリンパ節に行きます。そこで抗原提示をリンパ球にし、活性化したリンパ球が血流に乗って、血管から今度出てきて癌にまたやってくる。そこで癌抗原を認識して癌を破壊するという、これを **Cancer-Immunity Cycle** と。自分はこのステップ①からぐるっと回ってステップ⑦のどこを研究しているのかなということを明らかにしな

いと、自分の立場を見失ってしまう。

それはそれでいいんですけども、問題は、それぞれのステップにいっぱい書いていますが、グリーンが刺激因子で、赤が抑制因子です。それぞれのステップにそれぞれの刺激と抑制があって、特にこれ、さあ今から癌を殺すぞというときに抑制因子がいかに多いかがというのがわかります。免疫で癌をやっつけられない理由がここにあるわけです。

この数は今でもどんどんと増殖中です。これはキャッチアップできないんですね。どうしようもない。一体幾つやればいいのか、抗体幾つ入れればいいのかという話になるわけです。一つ 70 万円ですよと、ワンショット。

私たちは腫瘍免疫というのを別のアングルから見直す必要があると常々思っていたんですけども、今からお話するのは、全ての道はローマに通じるじゃないけれども、全ての道は代謝に通じますよと。結局、抑制とか活性化のシグナルは分子とそのリガンドで伝わるんですけども、それを一つ一つ研究するのが今までのライフサイエンスの主流だったんですけども、その一つのシグナルが個体レベルでどれくらいの位置を占め、どれくらいの意味を持っているのかが実は非常に大事で、それは結局のところ代謝に行き着くという学問が最近勃興してきたわけです。私どもはそれをやりたくてやったわけじゃないですけども、メトホルミンという二型糖尿病の薬でとにかく癌細胞のキャラクターを何とかして、それから免疫療法したい、もともとはそういうふうに思ってやったわけです。

御存じのように、癌細胞というのは酸素があってもグルコースをがぶ飲みします。ミトコンドリアが非常に退化していて、解糖系だけでも生きていけるような状況になっていて、これは **Warburg effect**、オットー・ワールブルグという人が発見してノーベル賞を昔もらいました。直感として、この非常に奇妙な代謝が癌免疫療法が効かない理由の一つではないかと数年前に私は思ってい

て、これを何とか抑えられないのかと思ったわけです。

よくよく見てみると、癌を取り囲む免疫細胞は **Treg** って抑制性の T 細胞、レギュラトリー T 細胞、**M2** マクロファージ、**Myeloid derived suppressor cells (MDSCs)**、キラー T 細胞は疲弊している。みんなこれ攻撃できない人ばかりです。攻撃できないどころか、もっと癌細胞に増殖してくださいという人ばかりここに集まっているんですね。

これを眺めたときに非常に不思議だなと思うわけです。よくよく調べてみたら、これらの細胞はグルコースをもらえないんですね。何を食べて生きているの。彼らはどうも脂肪を食べて生きているんですね。脂肪を食べて、脂肪酸としてミトコンドリアに取り込んで、クエン酸回路を通して酸化的リン酸化、**OXPHOS** と呼びますけれども、どうもこういう構図がある。免疫細胞、正常細胞は脂肪を食べて **OXPHOS**、癌細胞は糖を食べて **Warburg effect**、極端なこの代謝のインバランスといえますか、これがこの癌細胞をどんどん助長しているというふうに見えるわけです。

昨今の免疫代謝の研究、世界的にすぐれた研究がたくさんありますけれども、それを総合すると非常にシンプルな図が描けて、免疫に関係するエフェクター **CD8**、**Th1**、**Th2**、**Th17**、**M1** マクロファージ、これは異物を排除する細胞集団ですが、すべからくグルコースからピルビン酸、乳酸という解糖系を使ってその機能を発揮しているということがわかってきました。

ところが、**M2** マクロファージ、**MDSC**、**Treg**、セントラル・メモリーと呼ばれる T 細胞、これらは脂肪を食べて、脂肪酸 β 酸化によってクエン酸回路を回し、**OXPHOS** でトレランスを誘導する、あるいは創傷治癒（ウインドヒーリング）、あるいはティッシュリペア、即ち組織を再構築する、あるいはトレランス、即ち免疫寛容、こういうものに効いている細胞はみんなこの **OXPHOS** を使っているという、極めてクリアな色分けができる

ということが最近わかってきたんですね。

一つ戻りますけれども、これ、全部クエン酸回路を使っている、脂肪を食べている。この人だけグルコースを食べているということで、何だ当然じゃないと。こんなの集まってきたら癌は拒絶できないねという話で、至極当たり前の話になってくるわけです。

考えるべきは二つしかないので、先ほどの無数に見える刺激因子、抑制因子を一つ一つ吟味する必要はないということになります。

御存じのように、癌細胞の **Warburg effect** で解糖系を使っているけれども、正常細胞はグルコースとっても一応 **TCA サイクル** にも行って、**OXPHOS** で酸素を使って **ATP** エネルギーをつくると。癌細胞は酸素がなくても、ものすごい自転車操業で **ATP** をつくるとい違いがあります。

腫瘍の中に、もちろん **CD8** T 細胞、キラーというのはありますけれども、2 種類ございまして、セントラル・メモリーとエフェクター・メモリーというのがあって、セントラル・メモリーというのはキラー T 細胞の類いですが、どうもこれは脂肪酸を食って **ATP** に、腫瘍がどんどん大きくなるとこればかりになります、腫瘍の中の **CD8** は。ところが一方、癌細胞を本当にやっつけることができるのは、腫瘍の中ではグルコースをとって乳酸を出すという解糖系を使っているですね。この 2 種類があります。そして、うまいこと癌が小さくなるときには、これが増えてきます。でも、どんどん癌が増大するときには脂肪酸を食べて。セントラル・メモリーは長生きするけれども仕事しない T 細胞で、腫瘍の中がこればかりになるんですね。

結局、腫瘍の中では癌細胞とエフェクター・メモリーがグルコースを奪い合うという構図があるということになります。これは正常細胞で、非常に **Warburg effect** に似た代謝を持っているんですけれども、圧倒的にこれは癌細胞の数が多いのでグルコースを持っていかれて、結局御飯を食べられないので機能がなくなる、非常に単純な理

屈になります。一生懸命武装して戦い挑むんですが、腹が減っては戦ができないという単純な理屈です。

これはマリグナント・メラノーマの系ですけど、癌はものすごくグルコースを食べますよという性質、Warburg の性質を利用して、PET-CT、グルコースアナログをこうやってアイソトープ標識してやると、こんなにリンフォーマがあるとところが全部描画されてきます。脳はグルコースをたくさん使うのでこうやって出るんですね。

リンフォーマだからいろいろな化学療法でなくなるんですけども、治療した後はこうです。ほとんどのグルコースの取り込みがなくなっています。脳と腎臓と膀胱、これは排出されますから一部染まっているだけということで、画像診断にグルコースの取り込みはよく使われている。

ここまでは皆さん知っているかなと思うんですけども、これを見たときに我々免疫学者は何を感じるかというと、これだけたくさん癌があつて、そこの横には免疫細胞、キラーT細胞がいるだろうと。グルコースは全部癌に持っていかれてキラーT細胞をもらえない、食べる御飯がない、そういう状況で一体何が起こるんだろう。

と思っていたらこういう論文が出てきて、確かに腫瘍の中はグルコースの濃度がものすごく低い、血流と脾臓は高いですね。だから、免疫細胞というのはこういう環境で仕事をしていることになります。

これを見たら、0.5 ミリ以下、0.1 ミリとかそんな濃度です。0.1 ミリのときにT細胞を CD3、CD28 で刺激したときに、インターフェロン γ はほとんど出しません。10 ミリ、いっぱい出します。皆さんが使っている培養液、RPMI とかダルベッコ MEM とありますけれども、あれは 25 ミリなんです。だから、in vitro でものすごい活性の高いキラーができたといって喜んで、実際に現場に行ったら仕事ができないというのが一目瞭然なんですね。これがやっぱり腫瘍微小環境の特殊性ということになります。

キラーT細胞を活性化するとき、細胞内のカルシウムイオン濃度が上昇することが必要ということとは昔からわかっているんですけども、何と、培養液、グルコースが低いと α CD3、イオノマイシンを入れてもカルシウムは上がらないんですね。カルシウムが上がるためにはグルコースが要るんだと。グルコースをいっぱいやっても、T細胞の Glut-1、グルコースのトランスポーターをノックアウトするとこれも上がらないということで、どうもグルコースというのは基本T細胞の活性化にエッセンシャルであるということがわかります。

NFAT の核内移行、これは大事ですけども、10 ミリのグルコースだったら核内に移行するんですけども、0.1 ミリだったら核内に移行しないということで、結局はこの転写因子の核内移行するときにどうしてもグルコースが必要で、それはどうもカルシウムに関係があると。

さらに驚きのデータがありまして、私たちが免疫の教科書で習った CD3、CD28、この二つさえ入れておけばT細胞は安全なんだと言われるこの刺激も、低グルコース下でこれをやってしまったときに発現する遺伝子を見てみたら、ほとんどがアナジー。要するにトレランスですね。トレランスに関係する遺伝子発現ばかり増加してくるということで、自分的にはばっちり樹状細胞を患者さんに打って強力にT細胞活性化したつもりが、腫瘍局所ではグルコースがないので、トレランスを誘導していたということになるわけです。非常に恐ろしい話で、何とかしないと、幾ら頑張っても癌ワクチンしても何してもうまいこといかないのは当たり前だということがこれからもわかるわけです。

解糖系、グルコースって、何がそんなに大事なのということですけども、これはグルコースから Pyruvic acid、ピルビン酸ですね。いろんな代謝産物があります。私も覚えていません。

鍵となるエンザイムが幾つかありまして、HK、GAPDH、PEP(Phosphoenolpyruvate)、こんな

三つあって、それぞれのインヒビターがあります。そのインヒビターをT細胞に与えてイオノマイシンで刺激したときにカルシウムが上がります。かっって見ると、ブルーと緑は上がりません。要するに、2-デオキシグルコースとか IAA、この辺を抑えたらあまり上がらなくなるんです。でも、OXA を抑えたらオレンジのようにぐっと上がります。赤とオレンジは重なっています。OXA を抑えても影響なしということは、前の代謝産物あるいは前の代謝、この辺の代謝産物が何かしているのかなと思われますね。

活性化マーカーの CD40L を見てみると、たくさんグルコースがあるときにはこういうのが出ますけれども、そこに阻害剤を入れると途端に引っ込むんですね。でも、OXA を抑えてもやっぱり活性化している。だから、この前、GAPDH の後、PK の前、この辺の代謝産物がどうもT細胞の活性化に大事だぞと。結果、大事なものがわかりまして、これなんです。PEP、ホスホエノールピルビン酸を外から加えてやると、ものすごくT細胞が活性化するんですね。解糖系も何も関係なく、これがやる。

どういうメカニズムかというと、これは CD8 T細胞ですけども、癌抗原を認識する副刺激をもらう。いろんなシグナルが発生しますけれども、一つにはこの DAG と IP3。IP3 は小胞体に行ってそのレセプターに結合すると、カルシウムがぼんっと細胞質に放り出されますね。それをはかるとびゅっとピークが出ます。でも、あつという間に下がるんです。

何が起こったかという と、びゅっと出て SERCA というトランスポーターからまた中に入っちゃう。だから、びゅっと出てまたすぐ下がるんですけども、同時に、これが解糖系を回していると PEP というのが出てきますね。これが SERCA というトランスポーターにふたをどうもするようで、出たカルシウムが戻れないんです。そうすると小胞体の中のカルシウムが枯渇して、慌てて STIM1 を介して、ちょっとカルシウムが

減ったから細胞外から持ってきてというふうに CRACK チャンネルに手を伸ばす。そうすると、細胞外のカルシウムがぐわっと入ってきます。たくさん入ってきます。こうなるとカルシウムカルモジュリン系に作用して、結局 NFAT が核内に移行するんですね。これをセカンドウェーブと僕らは呼んでいますけれども、特殊な名前もあります。セカンドウェーブがこうやって出てくるわけですから、非常に大きなカルシウムのピークとして、解糖系が動いているときには見えるんですね。T細胞を本当に活性化したいと思ったら、TCR を刺激するだけではだめで、解糖系は動いてカルシウム濃度をある一定の量に保つことが大事で、そのためにこの解糖系が必要なんですよということに今はなっているわけです。なるほど、カルシウムをモニターすると、すなわち解糖系の状態をモニターできるし、そのことはなおかつT細胞の活性化をもモニターできる可能性があるのではないかなと考えたわけです。

ここから癌の患者さんの話をします。

これは、PMA というもので CD8 T細胞を刺激すると、びゅっとこうやってカルシウムが、これはファーストウェーブ、セカンドウェーブですね、こうやって出るんです。ところが、癌患者さん、こんな人が結構います。要するにファーストウェーブしかない。その中間の人がいるんですね。だから、このカルシウムのパターンをA、B、Cと分類して、ヘルシーボランティアとキャンサー・ペイシエントの人の末梢血で見たら、驚いたことに癌患者さんの半分以上が Type C なんです。カルシウム濃度が上がらないじゃないかと。健康人はやっぱり圧倒的に Type A が多いですけども、若干 Type B の人もいますね。

これはどうもカルシウムを見ることによって、ほんの数分間の実験で癌患者の末梢血 CD8 T細胞は優位に Type C が多いと、カルシウム動態のパターンを観察するだけでそのT細胞の疲弊具合がわかるのではないかと予測を立てたわけです。

カルシウムが低いということは、解糖系は回っていない。解糖系を回すためには糖質代謝の改善薬がいいということで、メトホルミンというのがございます。これは世界で最も飲まれているファーストチョイスのお薬で、私たちはこれで癌を治そうといろいろやっているんですけども、癌の患者さん、カルシウムはこういうパターンですが、メトホルミンで6時間培養するとセカンドウェーブが出てくるということで、確かにメトホルミンは糖代謝を改善できるんじゃないかと。

メトホルミン処理すると、そもそもこれは別のコホートですけども、10人の人がTypeCだったのが3人に減り、それがTypeB、TypeAに移動しますということが見られるわけです。TypeCの患者のうち70%はメトホルミンとの共培養によりカルシウム動態パターンが改善すると。カルシウム動態パターンを見ることにより疲弊の度合いとメトホルミンがその疲弊を改善できるか否かを知ることができる。メトホルミン治療対象の患者さんの選別ができるのではないかと考えているわけです。

これはまた別の、肺がんのグループのコホートですけども、StageがI、II、III、IVとあって、そのときのT細胞のカルシウムパターン。StageIというのはまだ早期の癌ですけどもAが多いんですね。ところが、II、III、IVとなりますとCパターンが非常に増えてきます。これらの患者さんのリンパ球をメトホルミンで培養すると、AはAですが、CがAになる、CがB、CがA、CがA、CがB、CがA、CがBということで、カルシウムのパターンが改善する。これは解糖系が動き出したんじゃないのと。

これはin vitroの培養の実験ですけども、実際に患者さんにメトホルミンを飲んでもらう、2週間3週間。それで、カルシウムフラックスをビフォーとアフターで見ると、これはまた別のコホートなので若干データが違いますが、StageIでもCという人がいて、これは飲んでも変わらない。でも、CがAになる、BがAになる、CがA、C

がA、BがA、BがAということで、介入試験の結果からも、カルシウム動態パターンが改善していることがわかる。

実際にサイトカインの多機能性といって、複数のサイトカインを同時にらせるということを指標に見てみると、Aにメトホルミンを加えた人は1.99%の人が3.26%に上がる。10%以上上がっている人をとっていますが、カルシウム濃度の改善、カルシウムフラックスの改善とサイトカイン多機能性が極めてパラレルに動いていることがわかりました。

末梢血を使って免疫をモニタリングしたいと、なかなか難しい。サイトカインがどうだこうだと言っても、どうやって培養しましたかという話になるんですが、このカルシウムのフラックスパターンを、動態パターンを見ることによって、かなり推定することが可能ではないかと思われるわけです。

肺がんの患者さん19名、健常人20名でメトホルミンを飲んでみて、サイトカインの多機能性、3種類のサイトカインを出しますか出しませんか。そうしますと非常に興味深いのは、健常人はメトホルミンを飲んでも飲まなくても出しません、非常にサイレントです、CD8T細胞。ところが、癌患者さんは結構出しているんですね。メトホルミンを飲んだらもっと出すようになるということで、このメトホルミンという薬は健常人には免疫学的に何の影響も与えないけれども、癌患者さんに限ってはサイトカイン多機能性を1.5倍ぐらい上昇させるということで、非常に不思議な薬効を示します。どうしてこの健常人のリンパ球は上がらないのと、その辺は後で出てきますけれど、こういうことがわかってきた。

カルシウムフラックスと代謝のことですが、この論文はさらにはっきりと物を言っていて、メタボリックコンペティションですね。誰と誰のコンペティションかということ、冒頭私がお話ししましたT細胞と癌細胞です。

ここで強調したいのはいろいろありますけれ

ども、チェックポイントブロッケード。本庶先生の PD-1 ブロッケードは、実は代謝のバランスを変えるんだと書いています。だから、正のシグナル、負のシグナルと違って言っても、どのシグナルパスウェイを使っていると言っても、結局は代謝の問題に帰着するということを言っているんです。

癌を試験管で培養してネズミに打つとこうやって大きくなります。ところが、あるときこんな拒絶するようなものがとれるんですね。遺伝子発現レベルは何も変わらない、あまり変わらない。ところが、これを培養して、例えばキラーT細胞と一緒に、Rというのはリグレッサー、Pというのはプログレッサー、これを普通の CD8 と一緒に培養して、1日2日してグルコース濃度をはかった。そうしますと、Pというのがものすごくグルコースを食べているんですね、なくなっている。リグレッサーは食べているけれどもPに比べたらあまり食べていないということで、悪性度の高いのがグルコースをたくさん消費しているということがわかります。

そのときにT細胞はどうしているのと。プログレッサーの中に潜んでいたT細胞をとってくると、この両者は mTORC1 の活性化の指標ですけども、これが減少しているんですね。ブルーはリグレッサー、ここに潜むT細胞は結構活性化しています。だから、青と赤のラインを見てもわかるように、赤のT細胞は非常に元気がない、mTORC1 の活性化が弱い。グルコースのアナログの NBDG というのを食べさせると、プログレッサーの CD8 はやっぱり食べないんですね。リグレッサーの CD8 は食べるということで、癌の解糖系が恐らく、癌がいっぱいグルコースを食べるときにはT細胞は食べない、食べられなくなるというのがかいま見える。

より積極的に癌細胞に解糖系に関する遺伝子をトランスセクションしています。もちろんグリコリシスはエンブティベクターに比べると全部解糖系が上がるんですけども、それをネズ

ミに打つてみる。エンブティベクターは大体みんな拒絶するんです。ところが、これらの遺伝子を入れるとあまり拒絶しなくなるんですね。

そのときにそこに浸潤したT細胞のグルコースの取り込みを見てみると、エンブティベクターに比べて軒並み低下しています。だから、癌の悪性度が増すときにはグルコースをたくさん食べ、そのかわりにT細胞はグルコースを食べられなくなるということで、要するに御飯の取り合いが起こっています。

チェックポイント阻害剤は何をしていますかと。治療しなければこんな大きくなるんですが、CTLA-4、PD-1、PD-L1、これで治療すると拒絶されます。そのとき何が起こったかという、チェックポイントを入れることによって腫瘍局所のグルコース濃度がまず上がります。そして、T細胞がそれを食べて解糖系が上がりました。解糖系が上がって、これらのときにはインターフェロンをたくさん出せるようになりましたということで、やっぱりメタボリックチェックポイント、特にこの場合はグルコースが大事だなと。チェックポイントをやっても、グルコースがもらえなかったら、それは効かないんですね。

ここから私たちの仕事の話です。

メトホルミンというのは、ガレガという草からとれて、これを食べると糖尿病の人の症状がやわらぐというのが中世ヨーロッパでわかっていたんですね。喉の渇くのがとまるとか。あと、この葉っぱを食べると牛の乳がよく出るということもわかっていた。何か不思議な葉っぱがあった。イェール大学のワタナベ先生という人が、糖尿病を治す成分を同定したらグアニジンだったんですね。グアニジンも非常に単純ですけども、それを二つ合わせてメチル基をつけて、分子メトホルミンとしてつくった。これが今世界で一番使われているお薬で、何億人と飲んでいます。

ところが、これをずっと飲んでいる人は発癌率、癌死亡率が低いという報告があちこちから出てきたんですね。私たちはそのことを知らなかった

んですけども、先ほどの Warburg effect を抑える薬としてメトホルミンというのを狙いを定めてネズミに飲ませた。メトホルミンを自由引水という形で飲ませると、1カ月かかって拒絶して非常に驚いたんですが、そのとき腫瘍をこの辺でくり抜いて見てみますと、PMA 刺激すると $\text{TNF}\alpha$ をたくさん出しているのがわかりました、メトホルミンを飲むとですね。

これをさらに、インターフェロン γ と IL-2 で染めるとこういうのが出る。要するに、3種類のサイトカインを出している。機能が非常に活性が高い。CD44 ポジで 62L なので、これはエフェクター・メモリーです。飲んでいないとセントラル・メモリーで、これは冒頭言いましたけれども、脂肪を食っているなって大体わかるんですね。これは糖を食っているなというのがわかります。それが機能に結びついているということで、代謝と機能が結びついているし、今臨床的にも問題になっているのは、腫瘍に浸潤したT細胞が3種類とか2種類のサイトカインを出せないということです。ネズミでそれが再現できます。そして、メトホルミンを飲むことによってこういうのが出現しますということで、免疫疲弊が問題になっていて、これを治すために PD-1 抗体を打つんですが、1錠 10 円のメトホルミンで疲弊の解除になりますということで、ネット上ですごいにぎわったときがあったんですね。それを書いたのは西川伸一先生という理研の、神戸におられた先生で、ものすごい、1日か2日で1,500回ぐらい閲覧されて大変なことになったんです。

メトホルミンを飲んだときに、増殖マーカーの Ki-67 というのが、癌は白く抜けるんですね。逆に、cleaved caspase-3 といってアポトーシスのマーカーになりますけれども、それは黒く染まるんですね。拡大するとこれです。メトホルミンを飲むと増殖できない、そのかわりアポトーシスに陥っている。 αCD8 で CD8T細胞を除くとこれが戻ってきます。細胞死が軽減できますということで、CD8T細胞があることによって腫瘍の増殖は

とまっていると、死んでいるということがわかってきたわけです。

おさらいですけども、セントラル・メモリーとエフェクター・メモリー。メトホルミンを飲んだら CD8 が出て、これは解糖系高いし、3種類のサイトカインを出すし、アポトーシスに強い。セントラル・メモリーのほうは全く逆で、実はどんどんと大きくなる腫瘍ではこういうのが増えているということでございます。

それで、もう少し積極的にグルコースのことを調べようと。これは腫瘍に浸潤した CD8tumor infiltrating lymphocyte と言いますが、このグルコーストランスポーターの発現をフローサイトメトリーで見たんですね。腫瘍細胞も同時に見たんです。最初はこの黒い実線のように、やっぱり腫瘍細胞のほうが Glut-1 の発現が高い。ところが、メトホルミンを飲ませて3日後ですが、Glut がぐっと出てきます、T細胞。腫瘍はぐんと引っ込むんですね。赤だけ比べると逆転しています。T細胞のほうがたくさんグルコースをとるようになっていきますね。 $\alpha\text{PD-1}$ 、同じです。T細胞は増え、癌細胞は減る。PD-1 とメトホルミンの併用療法、これはもっと増える、もっと減るということで、代謝のバランスが劇的に改変していることがわかります。

そして、このグルコーストランスポーターが減ったというのに着目して、これと同じ実験を SCID マウス、T細胞がないマウスでやったら、両方入れているんですけども、全く減りません。だから、癌細胞の Glut ダウンレギュレーションというのはT細胞依存性だということがわかりました。まず何かがT細胞に起こり、それが癌細胞に影響して解糖系を低下せしめているというふうに解釈できるわけですね。

グルコースのトランスポーターだけではわからないので、実際グルコース、アナログを取り込んだかどうかというのを見たのがこの実験です。

腫瘍に浸潤したT細胞は確かに、わずかな動きに見えますけれども取り込んでいるんですね。癌

細胞は取り込みが低下しています。メトホルミンと PD-1 を両方打つとやはり取り込みは上昇し、癌細胞は明らかに低下するということで、先ほどの Glut の動きと非常に似ています。ところが、PD-1 はあまり見えないんですね。だから、解糖系を動かす意味では、恐らくメトホルミンのほうが若干優位なのかなと思います。

そして、よく最近ミトコンドリアが大事だと、脂肪酸酸化が大事だという話を聞くんですけれども、draining lymph nodes のリンパ球はいかなる治療をしても、BODYPI という脂肪酸を食べているんですね。グルコースは食べていません。だから、draining lymph nodes は恐らく OXPHOS 優位にしてミトコンドリアを使いながら待機している状態で、癌に行くところある条件下で解糖系を回して癌細胞と闘う状態を起こしているとは思われます。

癌の中には、腫瘍の中には制御性 T 細胞とかいろいろあるじゃないかと、そんなのはどうなっていますかと。CD8 だけではだめでしょう。確かにそのとおりで。

ただ、これまた非常におもしろい。FOXP3、これが発現すると Treg になるんですね。この FOXP3 と代謝の関係はどうなっているのか。これも非常に驚きですけども、FOXP3 は T 細胞の代謝をローグルコース、ハイラクトレート環境下で十分機能できるように改変しますよと。

ぐちゃぐちゃとありますが、メッセージとしてはここですね。Foxp3 suppresses Myc gene expression and turns off glycolysis. Treg 細胞というのは Myc の発現が抑えられて、解糖系が起こっていないということを意味します。その結果、低グルコースと高乳酸環境、ここの中ではキラー T 細胞動かせませんけれども、レギュラトリー T 細胞は喜んでこの中で活動できるんですね。だから、FOXP3 というのは Treg のマスター転写因子と呼ばれていますけれども、実はやはりこれも代謝の問題に帰着されると。

非常に興味深い、Treg では Myc の発現が弱い、

コンベンショナル CD4 に比べて Myc の発現弱いんです。そして、チップアッセイで FOXP3 という転写因子は Myc の TATA 領域にどうも結合しているということがわかって発現を抑えている。グルコースを与えても Treg というのは解糖系が上がってきません。コンベンショナル CD4 はこうやって上がってきますということで、どうやら転写制御に効いて FOXP3 というのは解糖系を抑えている。だからこの Treg というのは抑制系に働く、脂肪酸を食べて生きているということがわかってきた。

私たちの実験ではどうか。腫瘍に浸潤した CD4 で FOXP3、これは Treg ですね。これがコンベンショナル CD4 で、横軸に Cleaved Caspase-3 の活性化を見たんですけども、上と比較して下は結構高いんですね。アポトーシスに陥っている、T 細胞。

メトホルミンのもとではどうなるか。何と逆転して、FOXP3 陽性が Cleaved Caspase-3 より高くなるんです、こっちよりもね。だから、全然代謝が入れかわって、逆に Treg がどうも死んでいるんじゃないのと。実際四つの腫瘍系で腫瘍に浸潤した Treg を見たんですけども、生きている Treg はやっぱりメトホルミンを飲むと減るんですね。ところが、脾臓とかリンパ節は全く減りません。これは腫瘍に局限した現象であると。

Treg というのは一つではなくて、KLRG1 とか CD103 で展開すると、腫瘍の中にある Treg はダブルポジというのが出てきて、これが極めて強い免疫抑制力を持っているんですが、何とメトホルミンを飲むことによってどうもこのダブルポジが減るということがわかりました。だから、最も強力に抑えていた免疫抑制をしていた Treg が減る。

ダブルポジというのは、リンパ節にはいないんですね。メトホルミンを飲んでも飲まなくても何の変哲もないけれども、腫瘍の中ではいろんなことが起こっている。Treg というのは、相手を抑制するときに IL-10 を出したり CTLA-4 を出したり

しているけれども、確かにこの腫瘍の中の Treg はこうやって出しているんですが、メトホルミンを飲むとこれが引っ込みますと。リンパ節とか脾臓はそもそも Treg であっても IL-10 を出していない。CTLA-4 も腫瘍内では出しているけれども、これがメトホルミンを飲むと引っ込むということで、エフェクター・モレкулはとにかくダウンレギュレーションがかかっている。

ミトコンドリアの機能を見ようということで、ミトコンドリアの膜電位をはかる TMRE という試薬がありますが、脾臓の Treg というのは非常に膜電位が高い、メトホルミンを飲んでも高い。ところが、腫瘍に浸潤した Treg は、何もしなければ高いけれども、メトホルミンを飲むと膜電位が非常に低くなる。OXPHOS がきちんと動いていれば活性酸素を出すんですが、Mito SOX、ミトコンドリアの活性酸素が見られるんですけども、腫瘍の中の Treg というのはたくさん活性酸素を出しているんですが、メトホルミンを飲むとこれが減るということで、これらを総合するとどうもミトコンドリア機能がメトホルミンで落ちていると、OXPHOS 落ちていると、Decreased OXPHOS、そういうのが見てとれると。

解糖系はどうなのということですが、解糖系を見るときに Glut-1 の発現を見ると、メトホルミンを飲ませると Glut-1 が若干ですが出てくるんですね。腫瘍の中だけです。SP はそういうことは起こりません。だから、これ解糖系をアップしている。Treg というのは、冒頭言いましたけれども、脂肪酸酸化と OXPHOS で頑張っている細胞ですが、メトホルミンで無理やり代謝を改変されるとどうも困ったことになるんじゃないかと。

mTOR の活性を見ると、メトホルミンを飲むことによって mTOR の下流の S6 リン酸化っていうのが増えるんですね。これ、mTOR 増えると Treg はできないということが言われていて、それは Foxp3 のデグラデーションが起こることなんです。これ全部 in vivo のデータですが、in

vitro で Treg を誘導する系にスイッチしたんですね。CD4 プラス CD25 マイナスのナイーブ CD4 を TCR で刺激し、TGF β を加えると、Foxp3 陽性の iTreg というのができてきます。

ところが、これを刺激する前にメトホルミンで処理すると激減します。メトホルミンというのはミトコンドリアの Complex I を標的としますが、rotenon なんていうのも Complex I を標的とするんですね。これをポジティブコントロールで使うと同じ結果になりますということで、どうやらミトコンドリアの同一の Complex I をターゲットにすることにより、Treg の iTreg の出現を抑えていると考えられる。

メトホルミンによって抑えられた Foxp3 は、AMP キナーゼの阻害剤とかラパマイシン、mTORC1 阻害剤でもとに戻りますということで、メトホルミンを入れて Treg 誘導できないところにどうも AMP キナーゼとか mTOR1 の活性化が関係しているという分子メカニズムの結果で、代謝を OXPHOS と解糖系で見ると、そのとき驚いたことにものすごいレベルが上がるんですね。だから、エネルギーレベルがものすごく上がった T 細胞になっています、メトホルミンを処理することによって。

だからいいんじゃないのと思うんだけど、こういうときには OCR と ECAR の比をとるんですね。そして、CD3、CD28、TGF β で Treg を誘導したら、OCR がドミナントになりました。ところが、メトホルミン前処理していると、これがこのレベルまで下がる。すなわち、メトホルミン処理することによって、本来あるべきクエン酸回路ドミナントな動きがどっちかというと解糖系のほうにシフトするよねということで、ここでも OXPHOS とグリコリシスのバランスが大事なんじゃないのということが見てとれるということです。

何を結局考えているかということ、もともと大きな癌というのはこういう構図があるんですけども、メトホルミンがこの代謝のリ・プログ

ラミングを起こし、腫瘍がグルコースをもらえなくなり、かわりに CD8 とか、今日はデータを出さなかったんですけども、M2 マクロファージが M1 マクロファージに変換します。Treg は死んでしまいます。MDSCs も数が減ります。これは全部代謝の改変で起こっている。

でも、これはいいけれども、腫瘍の中にはグルコースないと言っていたじゃないかと、グルコースなければできないんじゃないの。確かにそのとおりで、グルコースをサプリメントで与えようという実験をしたんですね。これは MethA という腫瘍ですけども、メトホルミンってちょっと厳しい条件でやるとこのぐらいしか効かないんです。グルコースは何かちょっと効いている。メトホルミンとグルコースをやると非常によく効くんですね。ここに α PD-1 を入れると全部拒絶するということで、全部寛解します。

だから、実はグルコース、糖質なんです。糖質ダイエットってありますけれども、あれはいいかどうかわかりません。グルコースだけ、甘いものを食べようと思うかもしれないけれども、それはだめで、ちゃんとメトホルミンを飲んでグルコースを利用することが大事なんですね。

グルコースを飲んだら血糖値上がるんじゃないのって、見たんですけども、血糖値は上がりません。むしろ驚いたのは、普通に癌を背中に打って大きくなったときに、何とマウスの血糖値はこうやって下がるんですね。だから、実は我々気づいていないけれども、癌がどんどん大きくなるに従って潜在的に血糖値は、恐らく癌が持つていくので低くなる。そうすると、当然免疫細胞が動けなくなるはずですね。でも、治療することによってある程度血糖値をずっと末期まで保っているというのが見えてくるということで、やはり血糖値は非常に大事だと。

今日はお話しできませんでしたが、実はメカニズムというのは、どうしてそんな機能がメトホルミンにあるのか。実は、これ Complex I を抑えて活性酸素ができるということがわかって

いて、これがどうやら抗酸化ストレスを起こして Nrf2 という転写因子を活性化しています。これが mTORC1 をどうも活性化しているようで。

それはなぜわかるかというと、この mTORC1 の活性化が Nrf2 のインヒビターを抑えられるからです。逆に、Nrf2 の活性化は mTORC1 のインヒビターで抑えられるんですね。これは両者にポジティブサーキットがどうもあるようで、ROS というのは Glut を表面に出させるということが有名で、解糖系を上げて NFAT からサイトカイン産生と。だから Nrf2 を活性化するので、増えた活性酸素を消去できます。そういう図柄が T 細胞解析で見えるんですね。

PD-1 というのは、この抗体が効くわけですけども、これは PI3K を復活させて、mTORC1 を活性化しますね。そうすると Nrf2 につながっていくということで、一方ではメトホルミンで Nrf2 を活性化し、PD-1 で mTOR を活性化し、この両者は併用療法で効きますよというのがここに、分子メカニズムがあるということになるわけですね。

PD-1 だけで Nrf2 は活性化しません。PD-1 だけだったらこういって、こういって、proliferation ですかね、ここでとまるんですけども、Nrf2 で解糖系を上げることによってどうもこういうことが起こる。

今岡山大学では、PD-1 抗体とメトホルミンの医師主導治験を行っております。これはたくさんのドクターを初めとする方が来てくださってさまざまな分野で実験をやってもらいましたし、あと、糞便の腸内フローラとかも慶應大学のグループと一緒にやっているところです。そして、岡山大学病院の多くのドクターと一緒に医師主導治験を行っているということで、代謝から見た腫瘍免疫学ということで、別のアングルから見るとこういうふうに見えるというお話でございます。

御清聴どうもありがとうございました。(拍手)

○司会 どうもありがとうございました。

内容が非常に盛りだくさんで、みんな一度は代謝の勉強をしたはずだと思いますけれども、そこには出てこなかった情報もたくさんあったかと思っています。

どうぞ、初歩的なことでも何でも結構ですから、御質問、コメントありましたらどんどんお願いしたいと思います。いかがでしょうか。

○ハヤシ 貴重なお話、ありがとうございました。

環境生物科学科3年のハヤシと申します。

すごく初歩的な質問ですけれども。

代謝ということで、先ほど、癌細胞が活性化したときに人間の血糖値がどんどん下がっていくという結果が出たんですけれども、人間は代謝において……。

○鶴殿 マウスです。人間では診ていないので。

○ハヤシ マウスでもそうだと思うんですけど。血糖値が下がった場合、血糖値が上がる処理が生体内では起こるはずだと思うんですけども、そういった処理ではやはりT細胞の活性化だったというのには追いつけないのでしょうか。生体内の処理だけでは。

○鶴殿 マウスのデータを見る限り、生体はそれをもとに戻す力は残っていないようですね。ずっと血糖値は下がっていて。

実際担癌マウスを見たことがあればわかると思うんですけども、彼らをさわると冷たいですね。腫瘍が小さいうちはまだ温かくて走り回っているけれども、だんだん腫瘍が大きくなってくると、活動がまず鈍くなって、そして皮膚をさわると冷たいです。かなり低体温になっている。要するにエネルギー産生が落ちている。よくよく見てみたら血糖値が下がっているということがどうもやっぱりあるようで、それは通常のフィジオロジカルなリバウンド力ではもとに戻れない。恐らく相当やっぱり癌の組織が悪いことをしているんだと思います。

○ハヤシ ありがとうございます。

○司会 ほかにいかがでしょうか。

○オオツカ 応用生物学部のオオツカと申します。

今年3回目です。

ヒートショックプロテインの関係で、20数年前からいろんなところでお会いしていますけれども、今日はメトホルミンと代謝系、癌と免疫系と代謝系ということで、非常に新しい観点からの治療法の展開が希望できるんじゃないかというすばらしいお話だったと思います。

質問は、メトホルミンが糖尿病に効くと。それはたしか AMPK を活性化して代謝を正常に戻すということで糖尿病を治す。今回は、免疫系の代謝系を活性化して癌細胞をやっつけるようにするということですね。

ヒートショックプロテイン関係の論文を読んでいたところ、メトホルミンが癌に効くというのが別のメカニズムでも起こると。メトホルミンが AMPK を活性化して、この AMPK がヒートショックファクターは熱ショック転写因子をリン酸化して不活性化すると、それで HSP が少なくなる。癌細胞は HSP とかに依存しているので、HSP とかが減ることで癌細胞が生存できなくなるんじゃないかというストーリーが、話があったんですね。メトホルミンはそういうことでも癌に効くのではないかなと思うんですけども。

もう一つは、その論文を読んでいたしたら、神経変性疾患の患者では AMPK が活性化しているという論文が2、3あるんですね。ひょっとしたらメトホルミンを飲むと AMPK が活性化してシャペロン系が低下して神経変性疾患が起りやすくなるんじゃないかということも考えられるとあったものですから、その点などはどうかと。

○鶴殿 貴重な御意見ありがとうございます。

メトホルミンで HSP のレベルが下がるかどうか、ちょっと私たちは診ていないんですね。HSF1のリン酸化は確かに、その話、私もちょっと聞いて、山口大学の中井先生とかが診ておられます。ディスカッションしたときに、多くのメトホルミンの実験はミリモルのオーダーで皆さんやって

おられて、血中濃度はせいぜい 10 マイクロモルなんですね。1000 倍違うから低い濃度でやってみてくださいと言っていたら、低い濃度でも HSF1 がリン酸化されたということは、やっぱり先生がおっしゃるように HSP が下がると。そうなるとやっぱり癌細胞は自滅するのかなと思うんですけども、SCID マウス、T 細胞欠損マウスに幾らメトホルミンを飲ませても全然小さくならないんですね。だから、腫瘍自体は自滅することは恐らくないだろうと。

ただ、だからといって腫瘍には全く影響を与えていないのかと、そこは今後いろんな角度から調べていこうと思っていてまして。実はこのメトホルミン研究と癌に関しては、ハーバード大学のグループが癌細胞に与える影響が大きいということでネイチャーなんかにもかなり出していて、抗癌剤だけだったら再発するけれども、メトホルミンと一緒にやっていると再発しないということでネイチャーなんかに出してて、それはヌードマウスを使ってやっているんですね。

ただ、血中濃度がこんなに低いのに何で効くのかというところは彼らも説明がつかないみたいで。私たちは免疫学者でもありますし、免疫に効いているよという話をしたら非常に驚いておったわけですけども、本当に癌細胞に何の影響があるのかというところを今後は詳しく調べていきたいと思います。

ありがとうございます。

神経変性疾患に関しましては、先生も御存じかなと思うんですけども、アルツハイマーとかあの辺はメトホルミンでよくなるという話があるんです。ただ、神経変性疾患を別の見方をすると脳神経細胞の糖尿病だと言う人もおられるので、糖の利用効率、要するに脳ってものすごく糖を利用するので、たんぱくのためり病なんですけど、実は代謝を見ると解糖系が落ちていて、それをメトホルミンで上げる。そういうこともあるので、やっぱり代謝っていうのは神経変性疾患にも関係してくると思います。

○司会 ほかにいかがでしょうか。

○◆◆ 非常におもしろく聞かせていただいたんですが、糖尿病との絡みもありまして、普通インスリンというのはやっぱり癌に対しては非常に増殖として働くと、インスリン耐性の問題とか、例えばメトホルミンだとそういう問題も出てきたりすると思うんですが、それとかあと、AKT なんかもやっぱりインスリンのシグナル系にも一部入っていると思うんですが、いわゆるインスリン系との関連性はこの系ではほとんど考えなくていいのかというのが 1 点。

もう一つ、ROS が一番起因になっていると。そうすると、ROS を上げるようなほかの手段はあり得ると思うんですが、そういった試みはあるかどうか。

○鵜殿 別の人が実験しているんですけども、インスリンはネズミに与えるともものすごく腫瘍の増殖がぐっと上がります。私たちが見る限りは、メトホルミンは AMPK 依存的に解糖能を上げる、インスリンは AMPK 非依存的に解糖能を上げるということで、両者の違いは AMPK が活性化されたかされないかです。

この AMPK の活性化の有無が抗腫瘍効果を全て左右するのかと。そこを当初すごく悩んだんですけども、どうしても AMPK だけで話を押し通そうとすると、AMPK を活性化すると mTOR1 の活性化が抑えられますので、そうすると私たちが見る CD8T 細胞は mTOR の活性化が起こっているんですね。AMPK 活性化も起こっているんです。どうしても矛盾して説明がつかないということで、これは別のパスウェイを考えないといけない。

そこでいろいろ見てみると、どうも活性酸素が抗酸化ストレスを起こしていると。そっちのほうから mTOR を活性化しているというところがわかってきましたので、従来テキストに書いてあるような AMPK を活性化して mTOR を抑えて癌が死にましたよという、それ一辺倒では多分説明がつかないことではないかなと思っております。

○司会 ほかにいかがでしょうか。よろしいでしょうか。

○ミヤチ 貴重なお話、ありがとうございました。
工学部応用化学科2年のミヤチと申します。

代謝に関しても免疫学に関しても自分自身知識が足りていないので、とても簡単な質問になってしまうと思うんですけど。

先生が講演の初めのほうで免疫学において副刺激が非常に大事だということをおっしゃっていたと思うんですけど、その副刺激が大事なのは、どういう面で免疫学において重要なのかということをお聞きしたいと思います。

○鵜殿 ありがとうございます。

もう一回おさらいしますけれども、学生さんに教えるときに、第1刺激は TCR シグナル、第2刺激が副刺激、CD28、この両者がそろわないと、CD28 がないとアナジーになりますよ、トレランスになりますよってずっと言っていたんですね。でも、何でそうなるかは私たちも知らずに言っていました。実験データがそうなるからそうなんだと。それがわかったのが最近で、CD28 から刺激が入らないと解糖系は動いていないよと、結局それだったんですよ。だから、あれだけ大事大事と言った副刺激は、結局は解糖系を動かすのが目的だったんです。

カルシウム濃度が上がりますね。転写因子核内移行しますね。副刺激がなかったら解糖系は回らないので、逆にトレランスになるという。チェックポイントブロッケードも結局副刺激のシグナルを、死んでいたものをもう一回復活させるということみたいなので、確かに副刺激は非常に大事ですけども、つまるところは代謝に行き着くということになるわけです。

この説明でいいですかね。

○司会 ほかにいいでしょうか。

ナイーブな質問していいですか。

CD8 のTセルというか活性のあるやつと癌が共通して解糖系に依存している。ほかの抑制系のものが酸化的リン酸化、TCA サイクル依存的にな

っている。そもそもそれがなぜそうなっているかという。

現象的にすごくアグレッシブなやつはどうも解糖系が必要なんだなという印象を受けるんですけども、そんなふうに考えていいですか。

○鵜殿 何か不思議ですよ。子供が成長するときには解糖系を使っているそうです。年とってくるとだんだんクエン酸回路から OXPHOS、どうもエイジによっても違う。

何でそうなっているかと言われると私も困るんですけども、恐らく自律神経と免疫というのが関係していますよね。解糖系とクエン酸回路、OXPHOS というのは、恐らく自律神経の交感、副交感で制御されているんだろうと思うんですね。

おもしろい話があって、自律神経どちらかを遮断すると癌が黙ってても拒絶するとかいうエビデンスもあるみたいなので、結局メンタルというのはかなり代謝を変動させ、それが影響を及ぼす。何かあれば、ストレスじゃないのって、ごみ箱的診断になりますが、そこに科学的根拠を与えるとすればそういうところだろうし、やっぱりメンタルストレスっていうのもばかにできないというのはあるのかなと思うんです。

なぜそうなっているかと言われると、ちょっと私もわかりません。

○司会 ほかによろしいでしょうか。

それでは、お時間も来ましたので、先生どうもありがとうございました。

今後の発展をお祈りしております。(拍手)