

加齢に関連した 免疫老化ならびに C57BL/6J 同系モデルにおける 抗がん剤の毒性および有効性

著者：Jiwon Yang, Andrew Schile, Mingshan Cheng, James G. Keck

The Jackson Laboratory, Sacramento, California

翻訳：順天堂大学国際教養学部 久原 孝俊

要旨

高齢者におけるがんの発生率が高くなるにつれ、高齢者におけるがんの免疫療法が広く適用されるようになってきた。しかし、抗がん剤の毒性や有効性を調べるための前臨床試験の多くは、若い健常なマウスを用いておこなわれてきた。本論文においては、われわれは、老齢マウスにおける腫瘍モデルを開発した。このマウスにおいては、免疫老化、すなわち加齢とともに徐々に進む免疫機能の低下がみられる。この老齢マウスは、がん患者の病態をより忠実に再現するので、加齢や免疫老化が抗がん剤の毒性や有効性に及ぼす影響を調べることができる。

本研究においては、われわれは、若齢（7週齢）、中間年齢（54～58週齢）、ならびに老齢（76～78週齢）の雌 C57BL/6J マウスを用いた。さらにわれわれは、異なる3種類のマウスがん細胞株（B16-F10 メラノーマ、MC38 大腸腺がん、E0771 乳がん）を用いて、同系腫瘍モデルを確立した。それぞれの腫瘍モデルごとに、加齢にともなう腫瘍増殖キネティクスは異なる。具体的には、B16-F10 メラノーマにおいては、加齢は腫瘍増殖キネティクスに影響を及ぼさなかった。他方、加齢マウスにおいては、MC38 大腸腺がんの増殖は遅く、E0771 乳がんの増殖は速かった。薬剤の最大耐量を評価するために、若齢および老齢マウスに標準治療で使われる抗がん剤（ドセタキセル、シスプラチン、またはドキソルビシン）を投与して、週3回体重を測定した。若齢マウスにくらべて、老齢マウスにおいては、標準治療薬に対するより強い毒性がみられた。つぎに、われわれは、チェックポイント阻害薬を使って有効性試験を実施した。MC38 大腸腺がんを有する若齢、中間年齢、老齢のマウスに週2回、3週間にわたって抗 PD1 抗体を静脈内に注射した。対照マウスには、同じアイソタイプの抗体を注射した。全血および腫瘍サンプルを採取し、免疫細胞のプロファイリングを調べた。さまざまな週齢の実験群（マウス）における PD1 応答を比較すると、MC38 大腸腺がんを有するすべての週齢のマウスにおいて、抗 PD1 抗体処置は、腫瘍の増殖を有意に抑制した。最も大きな効果は、老齢マウスにおいてみられた。また、抗 PD1 抗体で処置をすると、腫瘍組織中への浸潤 T 細胞数が増加していた。他方、老齢マウスにおいては、腫瘍組織中の制御性 T 細胞の数が減少していた。

結論として、われわれは、老齢マウスを用いて同系腫瘍モデルを確立することができた。老齢マウスにおいては、抗がん剤に対する毒性がより強く発現した。さらに、加齢が腫瘍増殖キネティクスに及ぼす影響には、モデルによる違いが認められた。腫瘍組織中に浸潤している免疫細胞の違いは、加齢にともなう抗 PD1 抗体処置に対する反応の違いをひき起こす基盤となっているのかもしれない。がんの研究に加齢の要素を取り入れることによって、前臨床研究と臨床のアウトカムとのあいだに存在する溝を埋めることができる可能性がある。

方法

本研究においては、若齢（7週齢）、中間年齢（54～58週齢）、および老齢（76～78週齢）の雌 C57BL/6J（JAX Stock #000664）マウスを使用した。

A. 最大耐量試験

- a. 若齢および老齢マウスに標準治療で使われる抗がん剤（ドセタキセル、シスプラチン、またはドキソルピシン）を週1回、3週間にわたって静脈内に投与した。
- b. 薬剤の毒性を調べるために体重を測定した。

B. 腫瘍増殖キネティクス試験

- a. 若齢および老齢マウスの右脇腹にがん細胞を移植した。
- b. 週3回、体重および腫瘍サイズの測定ならびに臨床症状の観察をおこなった。

C. 薬剤有効性試験

- a. 腫瘍を移植した若齢、中間年齢、および老齢マウスに抗 PD1 抗体または対照のアイソタイプ抗体を週2回、3週間にわたって静脈内に注射した。
- b. 週3回、体重および腫瘍サイズの測定ならびに臨床症状の観察をおこなった。
- c. 最後の薬剤投与の1週間後に腫瘍および全血を採取し、フローサイトメトリーで解析した。

D. 人道的エンドポイントの基準

- a. 20% 以上の体重減少
- b. 2000 mm³ 以上の腫瘍容積
- c. 腫瘍の潰瘍化
- d. 獣医師の勧告

結果

図 1.

(A) 体重変化（実験前とくらべた %） - 平均値± SEM

(B) 生存曲線

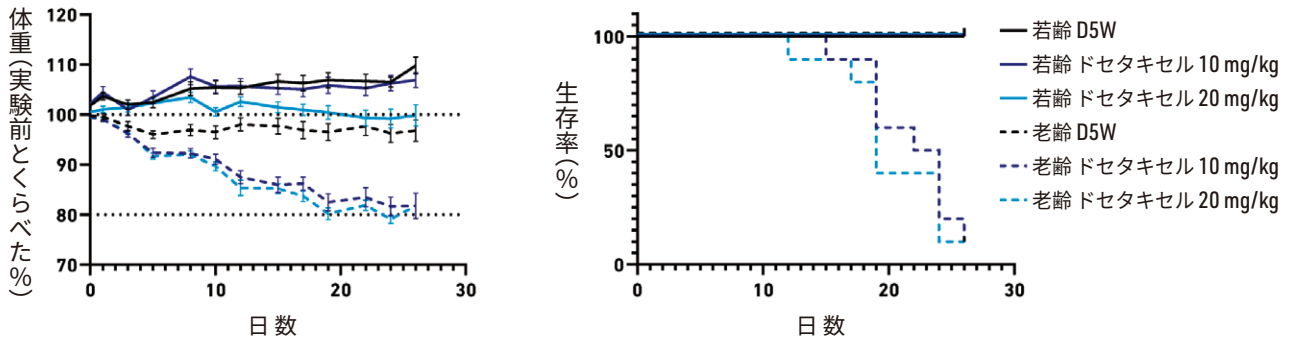


図 1. 老齢マウスにおいては、若齢マウスにくらべて、ドセタキセルによる毒性および死亡率が高いことが示された。

(A) 老齢マウスにおいては、対照の D5W にくらべて、10 mg/kg または 20 mg/kg のドセタキセルを投与すると、有意な体重減少がひき起こされた。(B) 老齢マウスにおいては、若齢マウスにくらべて、高い死亡率が示された。

図 2.

(A) 体重変化（実験前とくらべた %） - 平均値± SEM

(B) 生存曲線

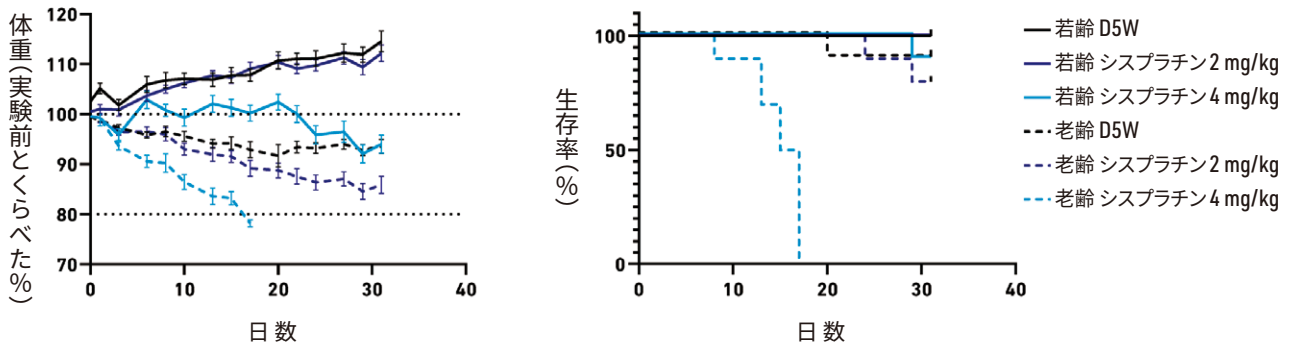


図 2. 老齢マウスにおいては、若齢マウスにくらべて、用量依存性にシスプラチンによる毒性および死亡率が高いことが示された。

(A) 老齢マウスにおいては、4 mg/kg のシスプラチンを投与すると、有意に強い毒性が示された。他方、2 mg/kg のシスプラチンを投与した場合は、毒性は比較的軽度であった。若齢マウスに 4 mg/kg のシスプラチンを投与した場合は、毒性は比較的軽度であったが、2 mg/kg のシスプラチンを投与したときは、対照の D5W にくらべて、有意な毒性は認められなかった。(B) 老齢マウスにおいては、4 mg/kg のシスプラチンを投与した場合は、若齢マウスにくらべて、有意に高い死亡率が示された。

図 3.

(A) 体重変化（実験前とくらべた %） - 平均値 ± SEM

(B) 生存曲線

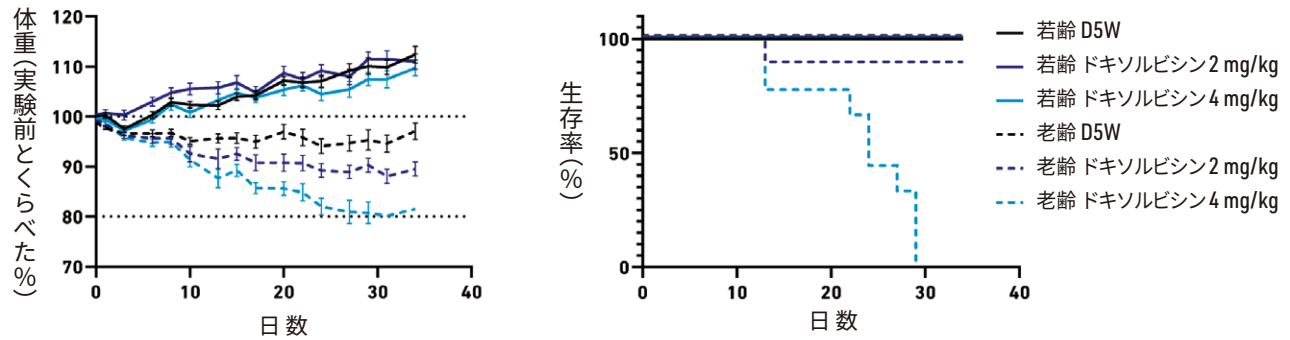


図 3. 老齢マウスにおいては、用量依存性にドキソルビシンによる毒性および死亡率が高いことが示された。

(A) 老齢マウスにおいては、ドキソルビシンは、用量依存性に毒性を示した。他方、若齢マウスにおいては、体重の減少はみられなかった。(B) 老齢マウスにおいては、ドキソルビシンは用量依存性に有意に高い死亡率を示した。

図 4.

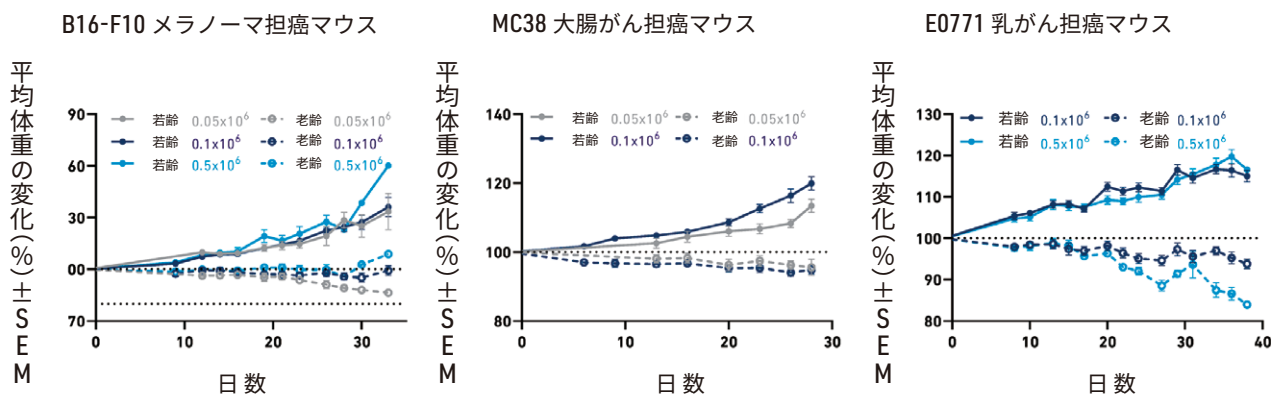


図 4. 老齢の担癌マウスにおいては、体重の減少がみられた。

若齢マウスおよび老齢マウスに異なる細胞数の B16-F10 メラノーマ細胞株、MC38 大腸がん細胞株、または E0771 乳がん細胞株を移植した。老齢マウスにおいては、時間の経過とともに体重が減少した。他方、若齢マウスの体重は増加した。

図 5.

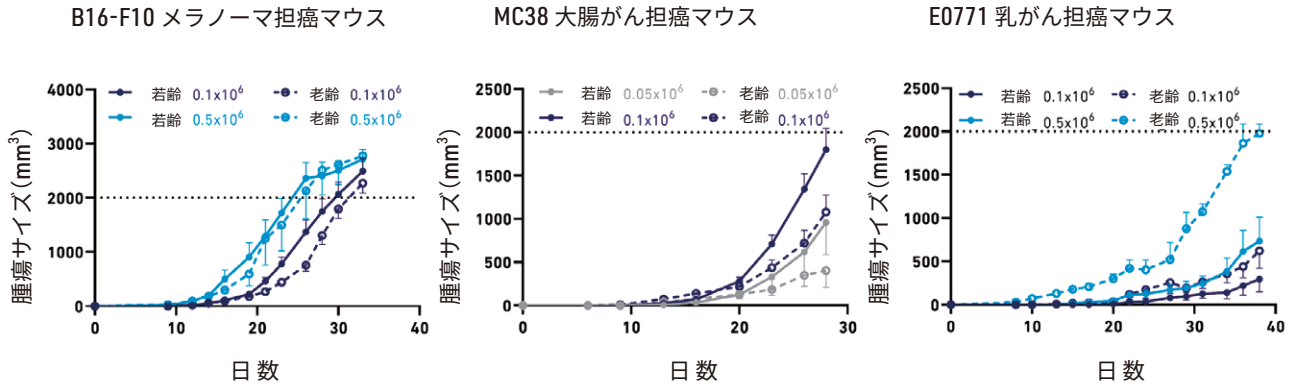


図 5. 齢依存性の腫瘍増殖キネティクスは、腫瘍モデルごとに異なる。

若齢マウスおよび老齢マウスに異なる細胞数の 3 種類の腫瘍細胞株を移植した。B16-F10、MC38 がん細胞株の増殖キネティクスには、週齢による有意差はみられなかった。E0771 乳がん細胞株の増殖は、若齢マウスにおいて遅かった。

図 6.

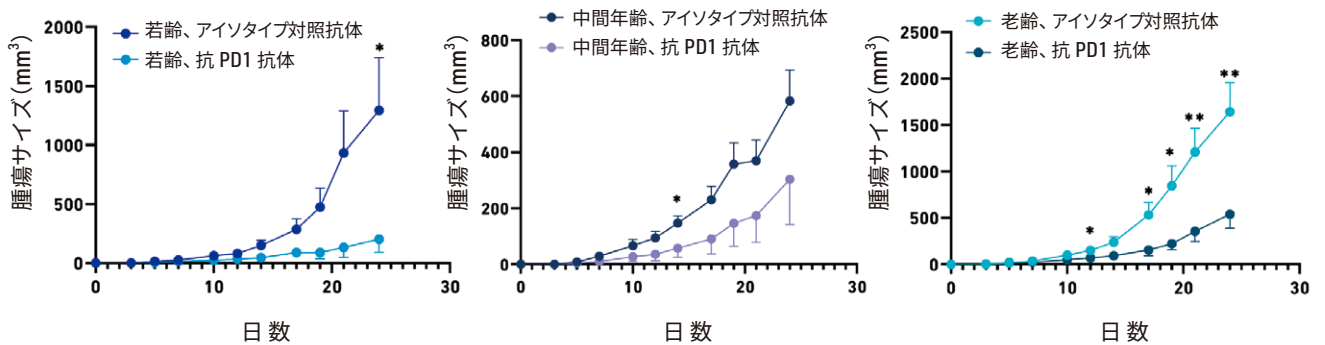


図 6. MC38 腫瘍細胞株に対する抗 PD1 抗体の抗腫瘍効果は、老齢マウスにおいて最大であった。

MC38 腫瘍細胞株を移植した若齢、中間年齢、ならびに老齢マウスを抗 PD1 抗体またはアイソタイプ対照抗体によって処置をした。すべての週齢のマウスにおいて、抗 PD1 抗体は、腫瘍の増殖を抑制した。最大の抑制効果は、老齢マウスにおいてみられた。

図 7.

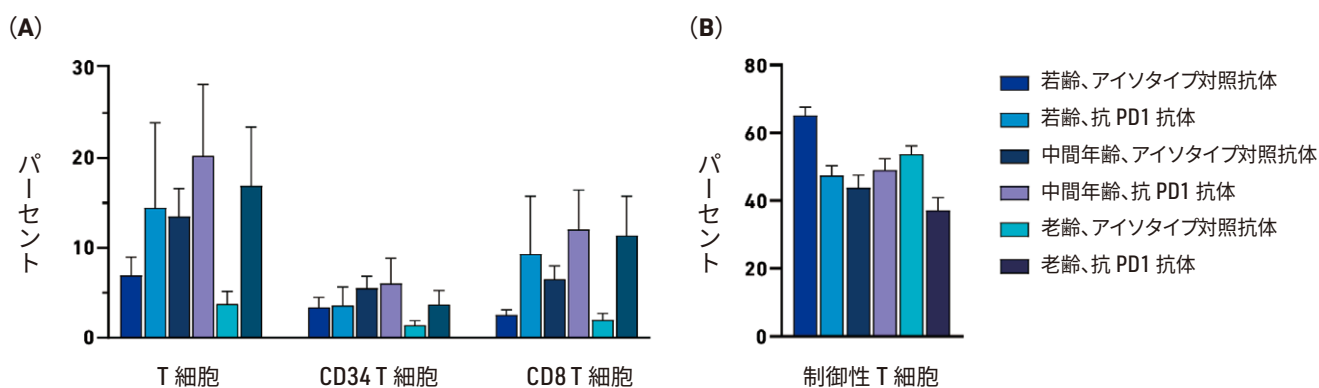


図 7. 抗 PD1 抗体で処置をすると、MC38 大腸がん組織中に浸潤する T 細胞数が増加した。

老齢マウスにおいては、制御性 T 細胞の浸潤は減少していた。抗 PD1 抗体で処置をすると、すべての週齢のマウスにおいて、腫瘍組織中に浸潤する T 細胞数(おもに CD8⁺ T 細胞)が増加していた。老齢マウスにおける増加が最大であった。全体としては、老齢マウスにおいては、若齢マウスおよび中間年齢のマウスにくらべて、制御性 T 細胞数は減少していた。

図 8.

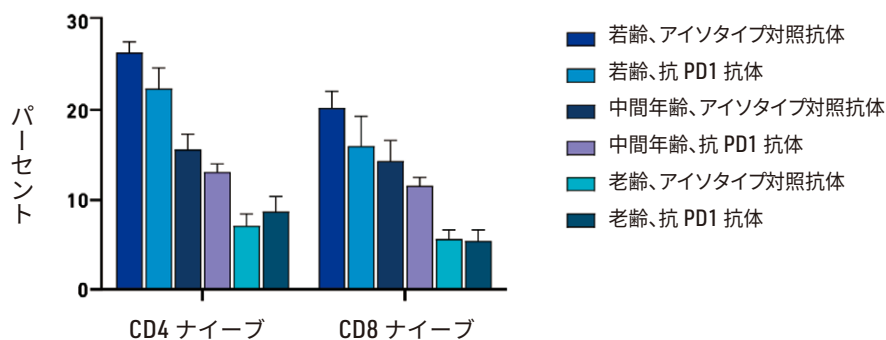


図 8. 老齢マウス血中のナイーブ T 細胞数は減少していた。

血中のナイーブ T 細胞数は、加齢とともに減少していた。抗 PD1 抗体で処置をしても、ナイーブ T 細胞数には有意な影響はみられなかった。

まとめと結論

- 老齢マウスにおいては、若齢マウスにくらべて、標準治療で使われる抗がん剤（ドセタキセル、シスプラチン、またはドキソルビシン）に対するより強い毒性がみられた。
- 本研究においては、さまざまな腫瘍を移植された老齢マウスにおいては、体重が減少していた。他方、さまざまな腫瘍モデルにおいて、若齢マウスでは体重が増加していた。これは、がんに関連した悪液質の初期の徴候であるかもしれない。
- われわれは、老齢マウスにおいては、免疫老化の徴候がみられることを確認した。たとえば、血中におけるナイーブ T 細胞や制御性 T 細胞の減少などである。