

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16746

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害薬および血管新生阻害薬併用療法における線維細胞の機能解析

研究課題名（英文）The role of fibrocyte in combination treatment of immune checkpoint inhibitor with antiangiogenic agents

研究代表者

三橋 惇志（MITSUHASHI, Atsushi）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・特任助教

研究者番号：00833732

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：抗PD-L1抗体および抗VEGF抗体併用療法における線維細胞の機能を解明するべく、担癌マウスに抗VEGF抗体を投与したところ、腫瘍内にCOL1A1/CD45二重陽性線維細胞の集積が見られた。同モデルで抗VEGF抗体および抗PD-L1抗体を併用することで腫瘍抑制効果の増強が認められた。皮下移植した腫瘍組織近傍に、マウス肺組織より回収した線維細胞を移植し、抗PD-L1抗体との併用効果を検討したところ、併用群において腫瘍抑制効果の増強および腫瘍内へのCD8<sup>+</sup>T細胞集積を認めた。抗VEGF抗体治療により局所集積したPD-L1陽性線維細胞が抗PD-L1抗体の治療効果に寄与する可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

線維細胞（fibrocyte）は良性肺疾患の分野においては疾患病態との関連性が多数報告されているが、悪性腫瘍との関連性について着目した報告は乏しく、腫瘍内fibrocyteの解析を介して新規治療標的の探索も目的とした本研究の学術的意義は高い。今後肺癌治療の第一選択として、免疫チェックポイント阻害薬が血管新生阻害薬や細胞障害性抗癌剤といった既存治療と併用される機会が増加すると予想される。本研究の成果により、これら併用療法の治療効果を予測するバイオマーカーが同定される可能性があり、肺癌診療に与える影響は大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Recent clinical trials indicate the combination treatment with immune checkpoint inhibitor and antiangiogenic drug improves the prognosis of lung cancer patients. We focus on the fibrocytes (FCs) as the key mediators of anti-tumor immunity. We investigated the roles of FCs in the combination therapy with dual VEGF and PD-L1 blockade by using subcutaneous mouse model of mesothelioma. Tumor bearing mice were treated with anti-VEGF and anti-PD-L1 antibodies. To evaluate the roles of FCs on the effect of anti-PD-L1 antibody, we implanted the mouse lung FCs near the tumor tissue. Low dose anti-VEGF antibody increased the tumor infiltrated FCs and enhanced the effect of anti-PD-L1 antibody. Mouse FCs expressed PD-L1, and costimulatory molecules CD86. The FCs implantation improved the effect of anti-PD-L1 antibody, and increased the tumor infiltrated CD8<sup>+</sup>T cells. The combination blockade of VEGF and PD-L1 has potential to improve the anti-tumor immunity via recruiting the PD-L1<sup>+</sup>, CD86<sup>+</sup> FCs.

研究分野：肺がん

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 血管新生阻害薬 線維細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

線維細胞 (fibrocyte) は、骨髄に由来する一方でコラーゲン等の細胞外マトリックス産生能を有する細胞分画であり、単球および線維芽細胞双方の表面抗原を発現することで知られている。Fibrocyte は、そのコラーゲン産出能から創傷治癒や間質性肺炎、気管支喘息等の線維化を主体とする疾患病態への関与が報告されてきた。一方、fibrocyte の悪性腫瘍に対する影響については報告に乏しい。以前我々はヒト悪性胸膜中皮腫細胞株を免疫不全マウスに移植するモデルにて、血管新生阻害薬を長期投与した腫瘍組織内に fibrocyte が集積しており、fibrocyte が分泌する FGF-2 により血管新生阻害薬耐性化を来す結果を報告した (Mitsuhashi A, Goto H, et al. Nat Commun. 2015)。血管新生阻害薬による治療後に外科的切除されたヒトの肺がん組織においても同様に fibrocyte の集積を認めており、腫瘍内血管数との相関性も見られた。さらに、ヒト肺がん細胞株を fibrocyte と共培養することによりがん幹細胞様の sphere 形成細胞数が増加し、少数のがん細胞を fibrocyte と共に免疫不全マウスへ皮下移植することで腫瘍の生着率が上昇することを報告した (Saijo A, Mitsuhashi A, et al. Cancer Lett. 2018)。これらの結果から、fibrocyte は血管新生促進やがん幹細胞化の誘導等、複数の機序を介して腫瘍進展に多大な影響を与える可能性が示唆された。

### 2. 研究の目的

本研究は、血管新生阻害薬により腫瘍局所へ集積した骨髄由来 fibrocyte が、免疫チェックポイント阻害薬である抗 PD-L1 抗体の薬効に与える影響を解明することを目的としている。また、免疫チェックポイント阻害薬は現在の肺がん治療の中核を担っていることから、その効果を予測するバイオマーカーが広く検討されており、fibrocyte に有用性を見出し検討を行った。

### 3. 研究の方法

マウス中皮腫細胞株 AB1-HA を BALB/c マウスに皮下移植し、抗マウス VEGF 抗体、抗マウス PD-L1 抗体を継続的に腹腔内投与するとともに、腫瘍径の推移を評価することでこれらの薬剤の併用効果を検討した。腫瘍組織内における fibrocyte (COL1A1/CD45 二重陽性細胞) を免疫組織学的に評価した。また、マウス腫瘍皮下移植モデルにおいて、マウス肺組織より単離した fibrocyte を共移植することで、抗 PD-L1 抗体治療効果への影響を比較検討した。マウス fibrocyte は 20% ウシ胎児血清を添加した DMEM 培地を用いてフィブロネクチンコートディッシュ上で 1 週間培養し、付着細胞を CD45 磁気ビーズにて更に分離する方法で単離した。

### 4. 研究成果

(1) 担がんマウスに抗 VEGF 抗体を投与したところ、腫瘍抑制効果が見られない低用量においても血管新生が抑制され、免疫組織学的検討で腫瘍内に COL1A1/CD45 二重陽性 fibrocyte の集積が見られた。(図 1)

図 1. AB1-HA 皮下移植マウスモデルにおける抗 VEGF 抗体による腫瘍内 fibrocyte 集積

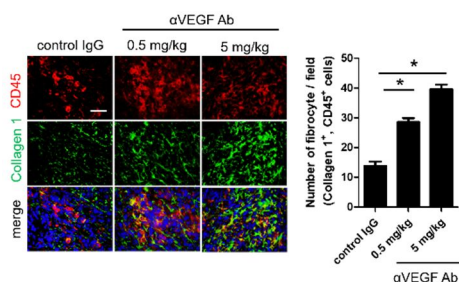
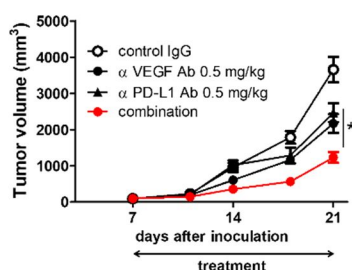


図 2. AB1-HA 皮下移植マウスモデルにおける抗 VEGF 抗体、抗 PD-L1 抗体の併用効果



(2) 担がんマウスに低用量の抗 VEGFA 抗体および抗 PD-L1 抗体を併用することで腫瘍抑制効果の増強が認められた。(図2)

(3)皮下移植した腫瘍組織近傍に、マウス肺組織より回収した fibrocyte を局所移植し、抗 PD-L1 抗体との併用効果を検討したところ、併用群において有意な腫瘍抑制効果の増強が認められた。(図3)また、抗 PD-L1 抗体単剤治療群に比して、fibrocyte の局所移植を併用することにより腫瘍内 CD8 陽性 T 細胞数の増加が認められた。(図4)以上より、抗 VEGF 抗体治療により局所集積した PD-L1 陽性 fibrocyte が抗 PD-L1 抗体の治療効果に寄与する可能性が示唆された

図3. AB1-HA 皮下移植マウスモデルにおける fibrocyte 局所移植、抗 PD-L1 抗体の併用効果

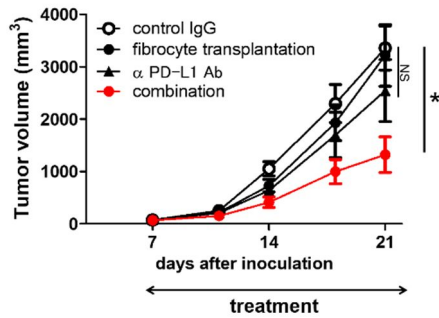
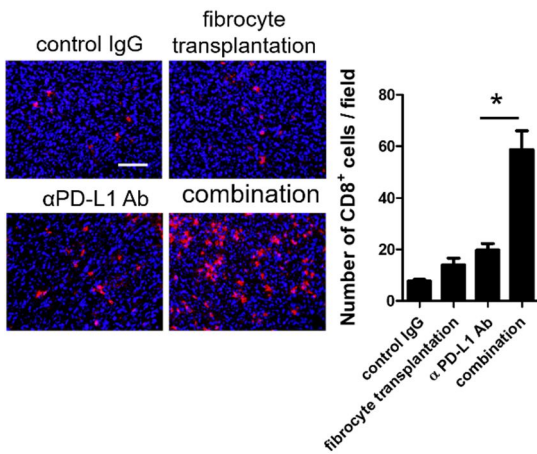


図4. Fibrocyte 局所移植、抗 PD-L1 抗体の併用による腫瘍内 CD8 陽性 T 細胞への影響



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三橋 惇志、後東 久嗣、荻野 広和、大塚 憲司、杉本 正道、根東 攝、西岡 安彦
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬および血管新生阻害薬併用療法における腫瘍内fibrocyteの機能解析
3. 学会等名 第23回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三橋 惇志、荻野 広和、大塚 憲司、木宿昌俊、西岡 安彦
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬および血管新生阻害薬による複合がん免疫療法における腫瘍内fibrocyte-like cellの機能解析
3. 学会等名 第32回日本バイオセラピー学会学術集会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 三橋 惇志、Tania Afroj、荻野 広和、大塚 憲司、杉本 正道、根東 攝、軒原 浩、西岡 安彦
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害薬および血管新生阻害薬併用療法における腫瘍内fibrocyte-like cellの機能解析
3. 学会等名 第24回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 A. Mitsuhashi, T. Afroj, A. Saijo, K. Otsuka, H. Yoneda, K. Koyama, M. Sugimoto, O. Kondoh, H. Nokihara, Y. Nishioka
2. 発表標題 The role of fibrocyte-like cells in combination treatment of immune checkpoint inhibitor with antiangiogenic agents
3. 学会等名 2020 ERS
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------