

令和 3 年 8 月 20 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16808

研究課題名(和文) Regulation of oxidative metabolic product-mediated immune suppressive tumor microenvironment to improve the efficacy of immune checkpoint blockade therapy in cancers.

研究課題名(英文) Regulation of oxidative metabolic product-mediated immune suppressive tumor microenvironment to improve the efficacy of immune checkpoint blockade therapy in cancers.

研究代表者

Sayem Mohammad Abu (Sayem, Mohammad Abu)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・特任助教

研究者番号：80772920

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)：免疫療法は癌の有望な治療法です。この研究は、免疫抑制微小環境の生成に部分的に関与している血管接着タンパク質1の阻害が、好ましくない免疫環境を逆転させ、現在承認されている免疫療法と相乗効果を発揮できることを示しました。さらに、酸化的小環境が抗腫瘍免疫の潜在的な誘導を減少させる可能性があることも示しました。

研究成果の学術的意義や社会的意義

This study showed that oxidative tumor microenvironment can generate immunosuppressive element. This immunosuppression can be altered by inhibiting a particular adhesion protein. This information may help to revise patient care for immunotherapy.

研究成果の概要(英文)：Immunotherapy is a promising treatment modality for cancer. In this study we showed that inhibition of vascular adhesion protein 1, partly responsible for generating immunosuppressive microenvironment, can reverse the unfavorable immune-environment and synergize with current approve immunotherapy.

研究分野：Tumor immunotherapy

キーワード：VAP-1 inhibitor Immunosuppression H2O2 CTLs ICIs

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) による免疫療法は、癌の治療における有望なモダリティです。ただし、抗 PD-1 / PD-L1 および CTLA4 抗体を含む ICI による治療に対する持続的な反応は、限られた数の患者でのみ観察されています。免疫抑制腫瘍微小環境 (TME) の変調は、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) の抗腫瘍効果を高めるために不可欠です。一部の癌および腫瘍血管内皮細胞で発現する接着分子および血管接着タンパク質-1 (VAP-1) などの酵素は、免疫抑制 TME の産生に関与している可能性があります。

2. 研究の目的

この研究プロジェクトの目的は、VAP-1 阻害の抗腫瘍効果のメカニズムと、それが ICB の抗腫瘍効果と相乗作用するかどうかを特定することです。

3. 研究の方法

この研究では、TME における VAP-1 の役割が、2 つのマウス結腸癌モデルとヒト癌細胞で調査されました。VAP-1 特異的阻害剤 U-V296 の腹腔内投与は、IFN- γ 産生腫瘍抗原特異的 CD8 + T 細胞を増強することにより、マウスの腫瘍増殖を阻害しました。U-V296 は、ICI との有意な相乗的抗腫瘍効果を示しました。U-V296 で処理されたマウス TME は、M2 様マクロファージ、Th2 細胞 (Il4, Retnla、および Irf4)、血管新生 (Pecam1)、および線維症 (Acta2、Loxl2) に関連する遺伝子の発現を有意に減少させました。Th1 / Th2 バランスが増加しました。マウス Th2 による IL-4 産生を促進する VAP-1 の酵素産物である H₂O₂ は、マウス Th1 およびヒト腫瘍浸潤リンパ球による IFN- γ を阻害し、腫瘍内で減少しています。CD31 + 腫瘍血管内皮細胞は、VAP-1 阻害剤で治療されたマウスで減少しました。TCGA データベース分析は、VAP-1 発現がヒト癌の負の予後因子であり、IL-4、IL4R、および IL-13 発現と有意な正の相関があり、IFN- γ 発現と負である。これらの結果は、VAP-1 が H₂O₂ 関連の Th2 / M2 状態を介して免疫抑制 TME に関与しており、ICI との併用癌免疫療法の開発の魅力的なターゲットである可能性があります。

4. 研究成果

VAP-1 は、腫瘍に関連するものを含むさまざまな炎症条件下で、好中球、顆粒球、マクロファージ、およびリンパ球の遊走を調節することが以前に報告されています。炎症性骨髄細胞 (TAM など) の浸潤、血管新生、線維症を阻害することによる腫瘍増殖。VAP-1 阻害剤を使用した 2 つのマウス腫瘍モデルで同様の腫瘍増殖の低下が観察されました。U-V296 を介した抗腫瘍効果は、IFN- γ 産生腫瘍抗原特異的細胞傷害性 CD8 + T 細胞に依存していました。VAP-1 阻害は、TAM、MDSC、B 細胞、NK 細胞などの浸潤した免疫抑制細胞の数に最小限の違いしかもたらしませんでした。しかし、VAP-1 処理マウスの腫瘍における遺伝子発現分析により、Th1 / Th2 比の増加、IL-4 および Th2 に関連する他の遺伝子の発現の減少など、腫瘍浸潤免疫細胞の機能的変化が明らかになりました。IL4 は、代替的に活性化されたマクロファージ (M2 様マクロファージ) の分化を引き起こし、腫瘍細胞の炎症性血管新生と免疫回避に寄与します。VAP-1 は、炎症部位

への M2 マクロファージの浸潤を仲介することが報告されています。転写因子 IRF4 は、FIZZ1 (Retnla) などの M2 特異的マーカー遺伝子のセットの IL-4 依存性誘導に関与しています。発現の増強 VAP-1 阻害剤投与後のマウスの TME で IRF4 と Retnla の発現が観察されました。

VAP-1 誘導免疫抑制 (Th2 / M2 免疫細胞表現型を伴う) の根本的なメカニズムに関して、我々の遺伝子発現分析は、U-V296 処理腫瘍において ROS によって誘導される Cav3 遺伝子発現の減少を示しました。H₂O₂ は VAP-1 の酵素産物であり、T 細胞の機能に悪影響を与えることが報告されています。活性化された顆粒球に由来する H₂O₂ は、進行がん患者の T 細胞の機能を抑制しました。さらに、細胞外 H₂O₂ は、おそらく CD3-ζ鎖のダウンレギュレーションを通じて T 細胞の抗腫瘍機能を低下させる可能性があります。研究では、VAP-1 阻害剤による腫瘍溶解物または内皮細胞の治療は H₂O₂ の産生を減少させ、T 細胞の機能が H₂O₂ レベルの減少によって部分的に改善される可能性があることを示しています。

いくつかの報告では、免疫抑制性 TME における H₂O₂ の役割について議論されています。H₂O₂ は、Th2 や肥満細胞などのさまざまな免疫細胞からの IL-4 の放出を阻害し、インターロイキン-12 p40/p70 の分子比を増加させることにより、マウスで Th2 優勢応答を誘導したことが報告されました。阻害剤 BHA は、GM-CSF または M-CSF によって媒介される M2 分極を阻害しましたが、M1 によっては阻害しませんでした。ROS 産生酵素のノックアウトにより、Th1 表現が発生することが報告されました。肝臓類洞における Th2 細胞のローリングを効果的に阻害しますが、コンカナバリン A 誘発性肝障害モデルの Th1 細胞のローリングには影響しませんでした。これらの報告は、VAP-1 によって産生される H₂O₂ が IL4 関連 Th2-M2 応答を誘発することを示しています。それによって Th1 応答を阻害します。この研究では、U-V296 が *in vitro* で腫瘍溶解物の H₂O₂ 産生を減少させ、*in vivo* で Th1 細胞スコアと Th1 / Th2 サイトカインバランスを増強し、Il-4、Irf4、および Retnla の発現を減少させることを示しました。この研究では、VAP-1 基質ポリアミンと VAP-1 生成物 NH₃ の可能な役割も評価されました。ポリアミンはさまざまな正常細胞の成長と機能に不可欠であり、TME で調節不全になっています。NH₃ は樹状細胞に影響を与えて腫瘍のリンパ球を刺激すると報告されています。NH₃ と主要なポリアミン代謝酵素の産生に違いは見られませんでした。これらの結果は、VAP-1 阻害が Th2 / M2 関連免疫抑制によって引き起こされる H₂O₂ 産生を阻害することにより、MC-38 / B6 および CT26 / BALB / c モデルの TME における抗腫瘍 T 細胞応答を増強することを示しました。

また、ヒトの癌における VAP-1 / AOC3 の役割を評価しました。さまざまなヒトの癌の TCGA データベース分析により、VAP-1 / AOC3 の発現は、結腸直腸癌、腎臓癌、および尿路上皮癌の患者の負の予後因子であることが明らかになりました。VAP-1 とチェックポイント阻害剤への反応との関係はまだ評価されていません。VAP-1 発現と TME43 における H₂O₂ の推定活性、およびカベオリンと Th2 / M2 関連サイトカインの発現との有意な正の相関が観察されました。対照的に、VAP-1 と IFN- γ の発現の間には負の相関が観察されました。したがって、同様の VAP-1 駆動型免疫抑制メカニズムが一部のヒトの癌に関与している可能性があります。

これらの結果は、VAP-1 が H₂O₂ を介した免疫抑制性 Th2 / M2 TME の生成に関与していることを示しています。U-V296 は抗腫瘍を強化しました。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kinoshita Tomonari, Sayem Mohammad Abu, Yaguchi Tomonori, Kharma Budiman, Morii Kenji, Kato Daiki, Ohta Shigeki, Mashima Yukihiko, Asamura Hisao, Kawakami Yutaka	4. 巻 112
2. 論文標題 Inhibition of vascular adhesion protein 1 enhances the anti tumor effects of immune checkpoint inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1390 ~ 1401
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.14812	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------