

令和 4 年 6 月 27 日現在

機関番号：82713

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17635

研究課題名(和文) アルギナーゼの活性化を介した大腸がん肝転移における新規制御機構の解明

研究課題名(英文) Activation of arginase-1-mediated arginine metabolism regulates metastatic colonization of colon cancer cells

研究代表者

項 慧慧 (Huihui, Xiang)

地方独立行政法人神奈川県立病院機構神奈川県立がんセンター(臨床研究所)・臨床研究所・技師・研究員

研究者番号：80869793

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)：本研究では、大腸がん肝転移巣マウスモデルを作出し、アルギナーゼ阻害剤を投与したところ、肝臓における転移巣形成が著しく抑制されるとともに、成熟型樹状細胞とパーフォリンおよびグランザイムBを発現する抗腫瘍エフェクターT細胞がより腫瘍組織内に浸潤した。本研究結果から、大腸がんにおいて、アルギナーゼの阻害は抗腫瘍免疫を賦活するだけでなく、転移巣形成を抑制する新たな治療標的とな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

がんの再発・転移の制御は、がん疾患の克服において、非常に重要な課題の一つである。そこで本研究では、担がん生体でのアルギナーゼの活性化に着目し、大腸がんの肝転移巣形成におけるアルギナーゼの関与を確認した。大腸がんの転移巣形成を制御する新たな標的としての有用性を示した。アルギナーゼ活性化の阻害による抗腫瘍メカニズムを解明したにより、大腸がんの肝転移巣形成を制御する科学的エビデンスの蓄積と考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, a mouse model of colorectal cancer liver metastasis was generated. Treatment with an arginase inhibitor significantly suppressed metastasis formation in liver, and elevated expression levels of MHC class II in mature dendritic cells, as well as perforin and granzyme B in anti-tumour effector T cells that infiltrated into the tumour tissue. These results suggest that inhibition of arginase may not only activate antitumor immunity but also be a new therapeutic target for suppressing metastatic colonization in colorectal cancer.

研究分野：消化器外科学

キーワード：大腸がん 転移性肝がん 肝転移 アルギナーゼ 樹状細胞 キラーT細胞

## 1. 研究開始当初の背景

現在、日本人の死亡原因の第一位はがんで、特に大腸がんの発生、罹患率は年々増加している。肝転移は大腸がん患者の約 30%に認められ、大腸がんによる死亡の少なくとも 3 分の 2 を占める。再発・転移の過程における機構の解明による、病態の改善効果を持つ治療法を目指すの開発は、非常に重要である。また、腫瘍を攻撃するキラーT細胞の機能不全状態を解除する免疫チェックポイント阻害薬が開発され、これまでに優れた治療効果が報告されているが、全てのがん患者を救済するまでには至っていない。従って、現在、がん疾患克服のためには、さらなる新しい視点、方策での免疫応答の制御による、がん免疫治療法の開発が必要であると考えられている。

最近、申請者らは、マウス骨髄由来樹状細胞や担がんマウスモデルの腫瘍組織に浸潤している樹状細胞において、担がん生体で産生される炎症性サイトカインIL-6の刺激により、尿素回路の代謝酵素アルギナーゼが発現誘導されることが見出されるとともに、腫瘍微小環境でのアルギニンの枯渇により樹状細胞を介した抗腫瘍エフェクターT細胞応答が抑制されていること、本モデルマウスに対して、アルギナーゼ阻害剤を投与した結果、腫瘍形成が著しく抑制されることが報告されていた。

アルギナーゼは一般的に尿素回路に関連する酵素の一つで、アルギニンを分解しL-オルニチンの生成・代謝に関与することが知られている。また最近の研究で、担がん生体において誘導される免疫抑制性のミエロイド系細胞がアルギナーゼの活性化を介して抗腫瘍免疫を抑制することが報告されている。しかしながら、免疫細胞、特に樹状細胞を介した抗腫瘍免疫エフェクターT細胞の制御に関しては報告が少なく、さらにアルギナーゼの活性化と大腸がん細胞の肝転移巣の形成との関連については未解明である。

そこで本研究において、担がん環境下におけるアルギナーゼの活性化と肝転移に関する詳細な作用メカニズムとその制御因子を明らかにすることで、大腸がん肝転移を対象とした、既存の方法とは全く異なる新規がん治療法の確立に貢献する科学的エビデンスが蓄積できると考えられる。

## 2. 研究の目的

大腸がん転移は、最も多く転移がみられる臓器が「肝臓」である。転移・再発したがんを克服するための第一歩として、浸潤・転移を解明する研究を重要な課題の一つになる。

本研究では、担がん生体でのアルギナーゼの活性化に着目し、大腸がんの肝転移におけるアルギナーゼの作用メカニズムを明らかにすることを目的とした。アルギナーゼの活性化による肝転移および宿主抗腫瘍免疫の新しい制御メカニズムの解明を目指し、はじめに大腸がん肝転移マウスモデルを使用して検証した。

さらにヒト大腸がん細胞株及びヒト臨床検体を使用して検証することで、アルギナーゼの発現レベルは、大腸がんの悪性化、転移の発生について制御する新たな分子標的薬やバイオマーカーとしての有用性を検討した。

## 3. 研究の方法

本研究では、まず蛍光タンパク遺伝子を導入したCT26マウス大腸がん細胞株を脾臓内投与し、これらの転移巣があるマウスについて、血清中遊離アミノ酸レベル、細胞内アルギナーゼ活性を測定した。次に、これらの大腸がんマウス肝転移モデルを用いて、アルギナーゼ阻害剤を投与し、病態の改善・治療効果を検証のため、生存率、in vivoイメージングによる腫瘍の計測、免疫組織染色を行ない、肝転移

を解析・評価した。また、これら免疫制御機構を明らかにするため、腫瘍組織に浸潤している各種免疫担当細胞について免疫組織染色を行った。肝臓の組織から、大腸がん細胞および各種リンパ球を回収し、in vitroで抗CD3抗体を用いて刺激を行い、パーフォリンやグランザイムなどの細胞傷害分子の産生レベルをフローサイトメトリーで評価した。これらの結果から、肝転移巣を形成する過程におけるアルギナーゼの宿主免疫応答への効果を確認した。

さらにヒト臨床検体のデータを活用し、ARG1の発現量が、大腸がん患者の腫瘍形成及ぼす肝転移の促進効果を確認した。大腸がん患者の非がん部大腸組織、原発巣腫瘍組織、肝転移巣腫瘍組織におけるアルギナーゼの発現と病性の関係を検討した。またヒト大腸がん細胞株におけるアルギナーゼの阻害による、悪性化への作用効果を調べるため、in vitro培養系で、がん細胞増殖、生存、細胞遊走能の制御効果を検証した。

#### 4. 研究成果

大腸がん肝転移巣形成モデルマウスと正常マウスと比べると、肝転移巣形成モデルマウスの及ぼす肝臓組織におけるアルギナーゼ活性が高く、血中L-アルギニンレベルが低いことが明らかになった。

次に、大腸がん肝転移巣形成マウスモデルに対してアルギナーゼ1阻害剤を投与したところ、肝転移巣の形成が著しく抑制されるとともに、MHCクラスIIを高発現する成熟型樹状細胞とパーフォリンおよびグランザイムBを発現する抗腫瘍エフェクターT細胞がより腫瘍組織内に浸潤することが分かった。

また、大腸がん患者の非がん部大腸組織、原発巣腫瘍組織、肝転移巣腫瘍組織におけるアルギナーゼ1の発現と病性の関係を検討した結果、大腸がん組織は隣接する非がん部組織に比べてアルギナーゼ1タンパク質の発現レベルが亢進していること、アルギナーゼ1は、ステージII期の患者で有意に過剰発現し、III期やIV期の患者でも過剰発現する傾向があることが明らかとなった。

最後に、アルギナーゼ1の阻害によって、ヒト大腸がんHCT116細胞の細胞増殖や生存、細胞遊走能が抑制されることを確認した。

以上の研究結果から、大腸がんにおいて、アルギナーゼの制御が、新たな大腸がん・肝転移治療法開発への応用に有用である可能性が考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Xiangdong Wang, Huihui Xiang, Yujiro Toyoshima, Ko Sugiyama, Shunsuke Shichi, Shen Weidong, Shigenori Homma, Akinobu Taketomi, Hidemitsu Kitamura
2. 発表標題 Blockade of arginase-1 reduces metastatic colonization of colon cancer cells in tumor-bearing host
3. 学会等名 第79回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 王向東, 項慧慧, 豊島雄二郎, 杉山昂, 志智俊介, 沈輝棟, 本間重紀, 武富紹信, 北村秀光
2. 発表標題 尿素回路・オルニチン代謝関連酵素であるアルギナーゼ1遺伝子の発現は大腸がんの転移巣形成と関連する
3. 学会等名 第24回 日本がん免疫学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Huihui Xiang, Rika Kasajima, Tetsuro Sasada, Yohei Miyagi
2. 発表標題 A novel prognostic gene signature of amino acid metabolism in lung adenocarcinoma
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北村秀光, 王向東, 項慧慧, 豊島雄二郎, 沈輝棟, 杉山昂, 志智俊介, 木村沙織, 本間重紀, 武富紹信
2. 発表標題 アルギナーゼ1の発現とアルギニン代謝の活性化は、がんの悪性化と抗腫瘍免疫の抑制に関連する
3. 学会等名 第25回日本がん免疫学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Xiangdong Wang, Huihui Xiang, Yujiro Toyoshima, Shunsuke Shichi, Ko Sugiyama, Shen Weidong, Saori Kimura, Shigenori Homma, Akinobu Taketomi, Hidemitsu Kitamura
2. 発表標題 Arginine metabolism in the tumor-bearing state is related to the metastatic colonization of cancer cells
3. 学会等名 第50回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北村秀光、王向東、項慧慧、豊島雄二郎、沈輝棟、志智俊介、中本裕紀、木村沙織、杉山昂、本間重紀、宮城洋平、武富紹信
2. 発表標題 アルギナーゼ1を介したアルギニン代謝の活性化は大腸がんの肝転移巣形成と抗腫瘍免疫を制御する
3. 学会等名 第26回日本がん免疫学会
4. 発表年 2022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
---------	---------