

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K18594

研究課題名（和文）がん微小環境改善薬による腫瘍免疫活性化機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of tumor immunoactivation mechanism by cancer microenvironment improving drug

研究代表者

西出 峻治（Shunji, Nishide）

大阪市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：10803132

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）：申請者らはこれまでに、プロリル水酸化酵素（PHD阻害薬）を用いて腫瘍環境を改善し、腫瘍増殖を抑制することを見出した。その際に腫瘍内マクロファージにおける、がん細胞への貪食活性が上昇していることを明らかとした。本研究では今までの研究結果をもとに、PHD阻害薬にPD-1抗体、CD47抗体を併用することで腫瘍増殖をさらに抑制しえるかを検討した。さらに、PHD阻害薬を投与することでマクロファージの遺伝子変化を評価することで、PHD阻害薬により活性化したマクロファージによる腫瘍増殖抑制の機序を解析している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、腫瘍内で貪食が活性化した腫瘍関連マクロファージによって、組織障害性細胞（T細胞やNK細胞など）を活性化する詳細な機序が明らかにすれば、PHD阻害薬によるマクロファージの貪食活性を基盤とした新たな免疫療法が開拓できると考える。

研究成果の概要（英文）：Macrophages, which are abundant in tumors, promote tumor growth and metastasis in a hypoxic tumor environment, and are a major factor in deteriorating the prognosis of cancer patients. To. Applicants have previously found that PHD inhibitor improve the tumor environment and suppress tumor growth. In this study, based on the results of previous studies, we investigated whether the combined use of PD-1 antibody and CD47 antibody with PHD inhibitors could further suppress tumor growth.

Furthermore, by evaluating genetic changes in macrophages by administering PHD inhibitors, we are analyzing the mechanism of tumor growth suppression by macrophages activated by PHD inhibitors.

研究分野：泌尿器科

キーワード：腫瘍免疫 低酸素応答 マクロファージ PHD阻害薬

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん微小環境と腫瘍関連マクロファージ

腫瘍組織内の血管は正常血管と異なり、脆弱かつ不規則に走行し血流が乏しい。それ故、腫瘍組織は低酸素・低栄養といった、がん微小環境と呼ばれる特殊な環境を形成している。この環境下に存在する腫瘍関連マクロファージは、抗炎症型となり腫瘍増殖を促す性質をもつ。しかし、がん微小環境を改善することで、腫瘍内のマクロファージは炎症型にかわり、腫瘍増殖を抑制するとの報告がある (Park JS, et al: *Cancer Cell*, 2016)。

腫瘍関連マクロファージと細胞傷害性リンパ球

腫瘍関連マクロファージは貪食したがん細胞を T 細胞に提示する。その際に T 細胞の活性を抑制する補助因子により、T 細胞は活性化できない状態となる。このため、PHD 阻害薬によるマクロファージの貪食活性が、T 細胞など他の細胞障害性リンパ球を活性するか否かは明らかでない。そこで、本研究の核心をなす学術的「問い」は、**PHD 阻害薬によるマクロファージを基盤とした腫瘍増殖の抑制がどういった経路を介しているのか**、である。

2. 研究の目的

申請者らはこれまでに、PHD 阻害薬を使用したがん微小環境の改善 (図 1) により、マクロファージの貪食活性化、腫瘍増殖の抑制 (図 2) を明らかにした。本研究では **PHD 阻害薬により活性化したマクロファージが、腫瘍の増殖をどのように抑制するか詳細な機序を解明すること**を目的としている。

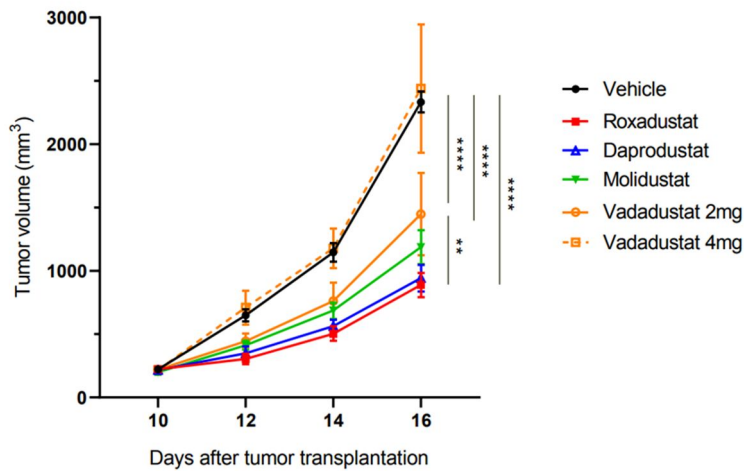
3. 研究の方法

PHD 阻害薬により活性化したマクロファージが、腫瘍の増殖をどのように抑制するか詳細な機序を明らかにするために以下のことを行う。1 × 10⁶ 細胞数のルイス肺がんをマウスに皮下担癌させ、第 10 日目に PHD 阻害薬を投与した。PHD 阻害薬として Roxadustat, Daprodustat, Molidustat, Vadadustat を用いた。さらに、T 細胞、マクロファージとの関係を確認するために第 10 日目に PHD 阻害薬 (FG4592) を投与、さらに第 10、13 日目に PD-1 抗体を腹腔内投与し、腫瘍増殖を評価した。また、第 16 日目に対象群 / PHD 阻害薬 (FG4592) 投与群の腫瘍を摘出し、過去の我々の研究結果を参考にし、Ly6C^{low} マクロファージを抽出したのち RNA-seq 解析にて遺伝子の解析を行った。

4. 研究成果

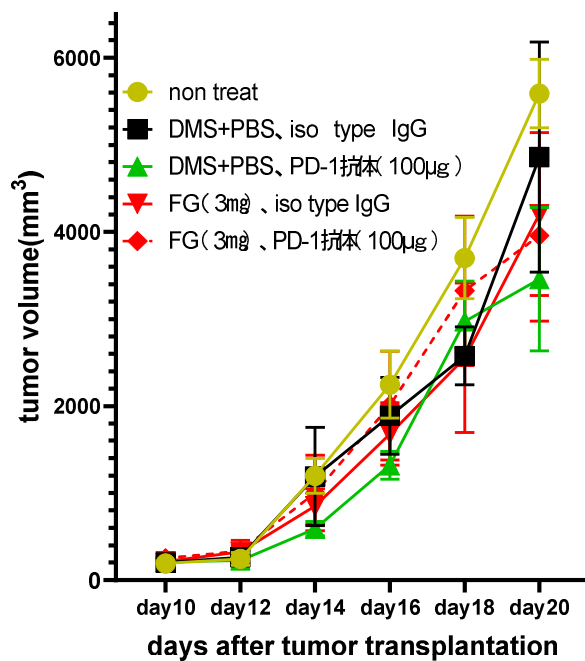
PHD 阻害薬が腫瘍にもたらす影響

PHD 阻害薬として Roxadustat, Daprodustat, Molidustat, Vadadustat を用い、腫瘍増殖に与える影響を比較検討したところ、腫瘍増殖抑制については Roxadustat, Daprodustat, Molidustat 投与群に認められたが、Vadadustat 投与群の腫瘍増殖抑制効果は乏しく、PHD 阻害薬によって腫瘍増殖の抑制効果には差を認めた。



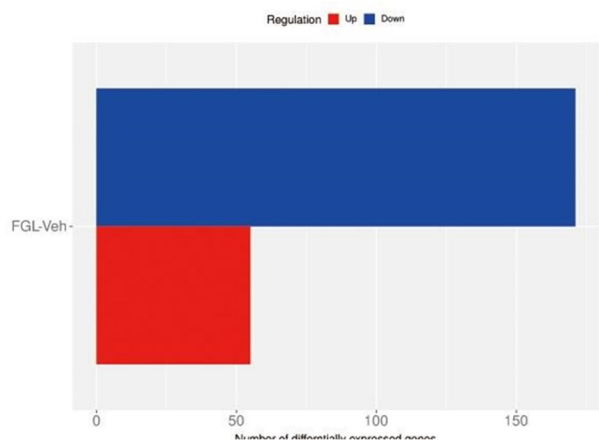
PHD 阻害薬 (FG4592) と PD-1 抗体の併用

PHD 阻害薬 (FG4592) を第 10 日目から 7 日毎に、PD-1 抗体を 3 日毎に腹腔内投与し、腫瘍増殖を評価した。PHD 阻害薬投与により腫瘍増殖が抑制されたが、PHD 阻害薬に PD-1 抗体を併用しても腫瘍増殖抑制の増強は認めなかった。



Ly6C^{low} マクロファージにおける RNA-seq 解析

過去に我々の研究グループは PHD 阻害薬 (FG4592) を投与することで Ly6C^{low} マクロファージの活性を上昇させることを見出した。本研究では活性化した Ly6C^{low} マクロファージの性質を評価するために RNA-seq 解析を用いた。解析の結果、HIF (低酸素誘導因子) に関連する遺伝子の発現上昇が 55 個、発現低下するものが 171 個見つかった。現在、発現変化する遺伝子について詳細を解析中である。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nishide S, Matsunaga S, Shiota M, Yamaguchi T, Kitajima S, Maekawa Y, Takeda N, Tomura M, Uchida J, Miura K, Nakatani T, Tomita S.	4. 巻 19
2. 論文標題 Controlling the Phenotype of Tumor-Infiltrating Macrophages via the PHD-HIF Axis Inhibits Tumor Growth in a Mouse Model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 940-954
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2019.08.033.	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 -

1. 著者名 Nishide S, Uchida J, Matsunaga S, Tokudome K, Yamaguchi T, Kabei K, Moriya T, Miura K, Nakatani T, Tomita S.	4. 巻 20
2. 論文標題 Prolyl-hydroxylase inhibitors reconstitute tumor blood vessels in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Pharmacological Sciences	6. 最初と最後の頁 30026-30028
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jphs.2020.02.010.	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 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Shunji Nishide, Shinji Matsunaga, Takehiro Yamaguchi, Norihiko Takeda, Junji Uchida, Katsuyuki Miura, Tatsuya Nakatani, Shuhei Tomita
2. 発表標題 Alteration the phenotype of tumor-infiltrating macrophages via the PHD-HIF axis inhibits tumor growth in mice
3. 学会等名 Hypoxia; KEYSTONE SYMPOSIA（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西出 峻治、内田潤次、島田久生、香束昌宏、壁井和也、岩井友明、熊田憲彦、長沼俊秀、武本佳昭、仲谷達也
2. 発表標題 新規経口腎性貧血治療薬による 腫瘍への影響
3. 学会等名 第53回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西出 峻治、内田 潤次、松永 慎司、島田 久生、香束 昌宏、壁井 和也、岩井 友明、長沼 俊秀、武本 佳昭、富田 修平、仲谷 達也
2. 発表標題 新規の経口腎性貧血治療薬Roxadustatによる 免疫系への影響
3. 学会等名 第55回日本移植学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西出 峻治、内田 潤次、松永 慎司、島田 久生、香束 昌宏、壁井 和也、岩井 友明、長沼 俊秀、武本 佳昭、富田 修平、仲谷 達也
2. 発表標題 腎性貧血治療薬Roxadustatを用いた 新たな腫瘍免疫療法の開拓
3. 学会等名 第69回 日本泌尿器科学会 中部総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 西出 峻治、浅井利大、香束 昌宏、壁井 和也、岩井 友明、長沼 俊秀、武本 佳昭、内田潤次
2. 発表標題 経口腎性貧血治療薬による腫瘍免疫強化療法の開発
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 西出 峻治、浅井利大、香束 昌宏、壁井 和也、岩井 友明、長沼 俊秀、武本 佳昭、内田潤次
2. 発表標題 新規腎性貧血治療薬のPHD阻害薬が腫瘍にもたらす影響
3. 学会等名 第66回日本透析医学会学術集会・総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 西出 峻治、浅井利大、香束 昌宏、壁井 和也、岩井 友明、長沼 俊秀、武本 佳昭、内田潤次
2. 発表標題 新規腎性貧血治療薬4種類が腫瘍にもたらす影響の比較検討
3. 学会等名 第54回日本臨床腎移植学会
4. 発表年 2021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
---------	---------