

令和 6 年 6 月 26 日現在

機関番号：32659

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19387

研究課題名（和文）炎症によるがん転移促進の核心を担う制御性単球の機能

研究課題名（英文）The role of immunoregulatory monocytes in cancer progression

研究代表者

田中 正人（Tanaka, Masato）

東京薬科大学・生命科学部・教授

研究者番号：00294059

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、炎症に伴うがん転移促進機構における制御性単球の関与を明らかにすることを旨として研究を行った。その結果、がん原発巣に対する外科治療や放射線治療に伴う炎症によって増加する制御性単球が、前転移ニッチ形成に寄与していること、および、制御性単球によるがん転移促進の分子機構を明らかにした。さらに、同単球が、骨髄において通常の単球とは異なる前駆細胞から分化することを見出すとともに、同単球の分化促進因子の同定に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、炎症の収束や組織修復に関わる制御性単球が、前転移ニッチの形成に重要な役割を担うことが明らかとなった。本研究成果は、がん治療に伴う炎症によって増産される制御性単球を標的とした新しいがん治療戦略の開発につながる。具体的に、制御性単球の分化機構の制御、あるいは制御性単球の機能分子の制御を機序とした新規がん免疫療法の開発が期待できる。

研究成果の概要（英文）：This study was conducted to elucidate the role of immunoregulatory monocytes in the mechanisms of cancer progression induced by inflammation. As results, immunoregulatory monocytes, which is increased in number in inflammatory conditions induced by surgical or radiation therapy for primary tumor, contribute to the formation of premetastatic niche. We also revealed the molecular mechanisms for cancer progression promoted by immunoregulatory monocytes. In addition, we identified the progenitor of immunoregulatory monocytes in bone marrow as well as the factor for the differentiation of these cells.

研究分野：免疫学

キーワード：がん 転移 単球 制御性 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

### 1) 炎症によるがん転移の促進

がんの遠隔転移は、がん患者の予後を規定する最も重要な要素の1つであり、転移メカニズムの解明と制御法の開発は、がん治療における喫緊の課題である。がん転移が成立するためには、転移先の臓器にがん細胞が生着しやすい環境が整う(前転移ニッチ)ことが必要と考えられている。これまでの研究により、この前転移ニッチは、炎症によって形成が促進されること、さらに、その形成促進にミエロイド系の細胞が重要な役割を担うことが報告されている。臨床的に、がん患者では慢性炎症がみられることや、がんの外科的切除が炎症を惹起することを考慮すると、炎症に伴う前転移ニッチ形成機構の解明は、がん転移制御の観点から極めて重要な課題である。しかし、この前転移ニッチ形成の鍵となるミエロイド系細胞のサブセットは未解明であり、このことが、がん転移機構解明の大きな障壁となっている。

### 2) 新規制御性単球による前転移ニッチの形成

我々はこれまでに、傷害組織の局所に集積する単球およびマクロファージの解析を端緒として、これまで知られていた炎症性単球とは正反対の機能を有する、制御性単球サブセット( $Ym1^+Ly6C^+$ 単球)を同定した (*Science Immunol.* 2018)。この制御性単球は、健常時の末梢血中にはほとんど存在しないが、組織傷害が起きると、その回復期に骨髄で急激に増産され傷害組織に浸潤する。浸潤した制御性単球は、抗炎症性サイトカインや組織修復因子を産生することで、炎症の収束と組織修復に寄与する。我々は、最近、この  $Ym1^+Ly6C^+$ 制御性単球が、炎症に伴う前転移ニッチの形成に重要な役割を担っていることを示唆する知見を得た。マウスに全身性の炎症を誘導すると、肺に前転移ニッチが形成され、がんの肺転移が促進される。我々が作製した  $Ym1$  発現細胞可視化マウス( $Ym1$ -Venus マウス)を用いた検討により、炎症により多数の  $Ym1^+Ly6C^+$ 制御性単球が肺に浸潤すること、および、 $Ym1^+Ly6C^+$ 制御性単球を選択的に消去したマウス( $Ym1$ -DTR マウス)では、がんの肺転移が著明に減少することが明らかとなった。さらに、 $Ym1^+Ly6C^+$ 制御性単球を分取し、これを健常マウスに移入するだけで、肺転移が促進されることを見いだした。これらの知見は、 $Ym1^+Ly6C^+$ 制御性単球が、炎症により誘導される前転移ニッチ形成に必要十分であり、がん転移促進の鍵となる細胞であることを明確に示している。

## 2. 研究の目的

このような背景のもと、本研究では、 $Ym1^+Ly6C^+$ 制御性単球による前転移ニッチ形成のメカニズムを以下の3点の解析により明らかにする(図1)。

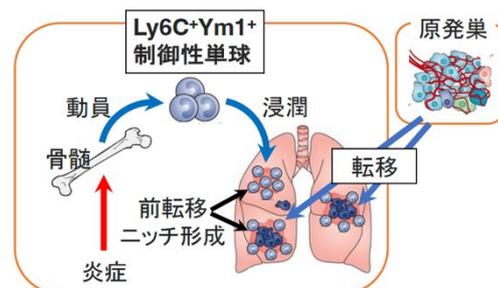


図1: 本研究で想定するがん転移促進機構

1. 前転移ニッチ形成における制御性単球の動態解明
2. 制御性単球による前転移ニッチ形成メカニズム解明
3. 制御性単球の骨髄における分化機構の解明

### 3. 研究の方法

遺伝子改変マウスを用いて、原発巣形成、炎症誘導、前転移ニッチ形成、がん転移巣の増殖のそれぞれの過程における Ym1<sup>+</sup>Ly6C<sup>+</sup>制御性単球の動態を解析する。さらに、転移部位に集積する Ym1<sup>+</sup>Ly6C<sup>+</sup>制御性単球の遺伝子発現を解析する。これらの解析結果より、Ym1<sup>+</sup>Ly6C<sup>+</sup>制御性単球の機能に關与する分子を解析する。

前転移ニッチ形成抑制の有力な戦略の1つは、Ym1<sup>+</sup>Ly6C<sup>+</sup>制御性単球の骨髄における分化、あるいは転移巣における形質決定に関わる因子を同定し、これを制御することである。そこで、単球の前駆細胞である MDP、GMP および cMoP の解析を行うことで、制御性単球の分化経路と分化制御因子等について検討を行う。

### 4. 研究成果

#### 1) 前転移ニッチ形成における制御性単球の動態と前転移ニッチ形成メカニズム

がんの進展や治療における制御性単球の動態を Ym1 発現細胞可視化マウス等を用いて解析したところ、がん原発巣に対する治療に伴う炎症によって、制御性単球の増加がみられ、これが前転移ニッチ形成に寄与していることを明らかにした。また、制御性単球によるがん転移促進の分子機構を明らかにする目的で、肺に浸潤する制御性単球との遺伝子発現を解析したところ、転移関連遺伝子として報告されているマトリックスメタロプロテアーゼ9 (MMP-9) およびリポカリン2 (LCN2) の発現が高いことがわかった。LCN2は、MMP-9を安定化させることによりMMP-9活性を亢進することが報告されている。実際、LCN2<sup>-/-</sup> LPS MoのMMP-9のタンパクレベルは、LCN2<sup>+/+</sup> LPS Moのタンパクレベルよりも低いことを確認した。さらに、阻害剤あるいは欠損マウスの解析により、制御性単球由来MMP-9およびLCN2が肺転移の促進に必須であり、がん進展抑制の有力な治療標的であることが明らかになった。

#### 2) 制御性単球の分化機構

制御性単球の分化阻害は、炎症あるいは原発腫瘍の治療に伴うがん進展抑制のための有力な戦略となる可能性があるため、本研究では、骨髄における制御性単球の分化機構の解明を試みた。LPS 投

与後の Ym1-Venus マウスの骨髄細胞を、12 種類の骨格マーカーと、約 250 種類のパネル抗体で染色し、フローサイトメトリーで解析した。表面タンパク質発現パターンを機械学習させ、UMAP アルゴリズムを用いて次元圧縮し、UMAP プロット上に、各種前駆細胞、分化途上ならびに成熟後の単球、好中球のクラスターを示し、同時に、表面発現パターンに基づき、pseudo-time 解析で分化経路を予測した。この予測により、制御性単球は、通常の炎症性単球の分化経路とは全く異なる経路で分化する可能性をつきとめた。具体的に、炎症性単球が MDP-cMoP 経路を介して分化するのに対し、制御性単球は、GMP-proNeu1 (好中球前駆細胞)から特殊な単球前駆細胞(GMP-MoP と命名)を経て分化することが予測され、実際に、これらの細胞が *in vivo* で制御性単球に分化することを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Ikeda N. Kubota H. Suzuki R. Morita M. Yoshimura A. Osada Y. Kishida K. Kitamura D. Iwata A. Yotsumoto S. Kurotaki D. Nishimura K. Nishiyama A. Tamura T. Kamatani T. Tsunoda T. Murakawa M. Asahina Y. Hayashi Y. Harada H. Harada Y. Yokota A. Hirai H. Seki T. Kuwahara M. Yamashita M. Shichino S. Tanaka M. Asano K.	4. 巻 42
2. 論文標題 The early neutrophil-committed progenitors aberrantly differentiate into immunoregulatory monocytes during emergency myelopoiesis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 112165 ~ 112165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2023.112165	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Camara Abdouramane, Lavanant Alice C., Abe Jun, Desforges Henri Lee, Alexandre Yannick O., Girardi Erika, Igamberdieva Zinaida, Asano Kenichi, Tanaka Masato, Hehlhans Thomas, Pfeffer Klaus, Pfeffer S?bastien, Mueller Scott N., Stein Jens V., Mueller Christopher G.	4. 巻 119
2. 論文標題 CD169 <sup>+</sup> macrophages in lymph node and spleen critically depend on dual RANK and LTbetaR signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2108540119	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Song Xiaojia, Li Na, Liu Yuan, Wang Zehua, Wang Tixiao, Tan Siyu, Li Chunyang, Qiu Chunhong, Gao Lifan, Asano Kenichi, Tanaka Masato, Liang Xiaohong, Liu Xinyong, Ma Chunhong	4. 巻 15
2. 論文標題 CD169-positive macrophages enhance abscopal effect of radiofrequency ablation therapy in liver cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Translational Oncology	6. 最初と最後の頁 101306 ~ 101306
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tranon.2021.101306	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Akhmetzyanova Ilseyar, Aaron Tonya, Galbo Phillip, Tikhonova Anastasia, Dolgalev Igor, Tanaka Masato, Aifantis Iannis, Zheng Deyou, Zang Xingxing, Fooksman David	4. 巻 5
2. 論文標題 Tissue-resident macrophages promote early dissemination of multiple myeloma via IL-6 and TNF	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Blood Advances	6. 最初と最後の頁 3592 ~ 3608
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1182/bloodadvances.2021005327	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Honda Fumika, Tsuboi Hiroto, Ono Yuko, Abe Saori, Takahashi Hiroyuki, Ito Kiyooki, Yamada Kazunori, Kawano Mitsuhiro, Kondo Yuya, Asano Kenichi, Tanaka Masato, Malissen Marie, Malissen Bernard, Matsumoto Isao, Sumida Takayuki	4. 巻 23
2. 論文標題 Pathogenic roles and therapeutic potential of the CCL8?CCR8 axis in a murine model of IgG4-related sialadenitis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Arthritis Research & Therapy	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-021-02597-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda Hitomi, Uchida Hiroaki, Okubo Yu, Shibata Tomoko, Sasaki Yasuhiko, Suzuki Takuma, Hamada-Uematsu Mika, Hamasaki Ryota, Okuda Kosaku, Yamaguchi Miki, Kojima Masaki, Tanaka Masato, Hamada Hirofumi, Tahara Hideaki	4. 巻 95
2. 論文標題 Antibody Screening System Using a Herpes Simplex Virus (HSV)-Based Probe To Identify a Novel Target for Receptor-Retargeted Oncolytic HSVs	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01766-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tokuhiko Takuto, Ishikawa Akane, Sato Haruka, Takita Shunya, Yoshikawa Ayuri, Anzai Ryoko, Sato Shinichi, Aoyagi Ryohei, Arita Makoto, Shibuya Takumi, Aratani Yasuaki, Shimizu Shigeomi, Tanaka Masato, Yotsumoto Satoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Oxidized Phospholipids and Neutrophil Elastase Coordinately Play Critical Roles in NET Formation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2021.718586	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shibuya Takumi, Kamiyama Asami, Sawada Hirotaka, Kikuchi Kenta, Maruyama Mayu, Sawado Rie, Ikeda Naoki, Asano Kenichi, Kurotaki Daisuke, Tamura Tomohiko, Yoneda Atsuko, Imada Keisuke, Satoh Takashi, Akira Shizuo, Tanaka Masato, Yotsumoto Satoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 Immunoregulatory Monocyte Subset Promotes Metastasis Associated With Therapeutic Intervention for Primary Tumor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2021.663115	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田中正人
2. 発表標題 組織傷害における制御性単球の役割
3. 学会等名 第85回インターフェロン・サイトカイン学会
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
---------	---------