

令和 2 年 6 月 5 日現在

機関番号：13601

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16023

研究課題名(和文) 悪性黒色腫の局所性レニン-アンジオテンシン系を介した線維芽細胞の腫瘍免疫応答解析

研究課題名(英文) Immunosuppressive roles of fibroblasts in a local renin angiotensin system in cancer microenvironments

研究代表者

中村 謙太 (Nakamura, Kenta)

信州大学・医学部・助教(特定雇用)

研究者番号：90804170

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：がん関連線維芽細胞は、アンジオテンシン受容体を発現しており、腫瘍免疫応答に与える影響を解析した。結果、線維芽細胞はレニン-アンジオテンシン系の刺激で、ケモカインの一つであるCCL5を産生し、アンジオテンシン受容体阻害薬の投与でCCL5の産生は減少した。悪性黒色腫を移植したマウスモデルにおいて、アンジオテンシン受容体阻害薬の投与で、血中のCCL5の低下と、腫瘍内の浸潤T細胞の増加や、制御性T細胞の減少と、腫瘍抗原特異的なT細胞応答の増加がみられた。また、アンジオテンシン受容体阻害薬と抗PD-1抗体の併用療法を行い、単剤療法より有意な腫瘍増殖抑制がみられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究結果より、アンジオテンシン受容体阻害薬の投与で、腫瘍免疫応答を増強することができ、抗PD-1抗体との併用効果が示された。抗PD-1抗体は、様々な種類のがんで適応が拡大されており、その治療効果を増強することができれば、多くのがん症例の治療に有益な効果をもたらす可能性がある。また、アンジオテンシン受容体阻害薬は、降圧薬として保険適応があり、併用療法を行うハードルは低いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Cancer-associated fibroblasts (CAF) that are present in the tumor environment also express angiotensin receptors, and analyses of the effects of CAF on tumor immune responses were performed. Consequently, results showed that, upon stimulation of the renin-angiotensin system, fibroblasts produced CC motif chemokine ligand 5 (CCL5), and CCL5 production was reduced upon administration of an angiotensin receptor inhibitor (ARB). In a mouse model transplanted with malignant melanoma, ARB administration resulted in a decrease in CCL5 in the blood, an increase in tumor-infiltrating T cells, and a decrease in regulatory T cells. Increases in tumor antigen-specific T-cell responses were also observed upon ARB administration. Moreover, an ARB and anti-PD-1 antibody were administered in combination, which resulted in significant tumor growth inhibition over monotherapy.

研究分野：皮膚科

キーワード：レニンアンジオテンシン CCL5 抗PD-1抗体 悪性黒色腫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 悪性黒色腫をはじめ、非小細胞肺癌、腎細胞がん、ホジキンリンパ腫、頭頸部がん、胃がん、悪性胸膜中皮腫、食道がん、膀胱がんなど、免疫チェックポイント阻害薬（抗 PD-1 抗体）の適応は拡大している。しかし、免疫チェックポイント阻害薬の奏効率は 2-4 割程度で、治療効果の改善が望まれる。免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を減弱させる要因に、腫瘍微小環境の免疫抑制状態がある。そのため、腫瘍微小環境の免疫抑制のメカニズムを解析し、抑制を解除することが重要である。

(2) 近年、体液のバランスを調整する全身性のレニン-アンジオテンシン系だけでなく、様々な組織に局所性のレニン-アンジオテンシン系が存在することが報告されている。私たちは、腫瘍微小環境のマクロファージや骨髄由来免疫抑制細胞が、この局所性のレニン-アンジオテンシン系を介して、様々な免疫抑制因子を産生して、腫瘍抗原特異的な腫瘍免疫応答を抑制していることを示した。その際に、がん関連線維芽細胞もアンジオテンシン受容体を発現していることを報告した。近年、腫瘍内の線維芽細胞が腫瘍微小環境の免疫抑制に重要な役割を果たしていることが知られている。しかしながら、がん関連線維芽細胞が、レニン-アンジオテンシン系を介して腫瘍免疫へ与える影響やメカニズムの解析の報告は少ない。

## 2. 研究の目的

本研究は、アンジオテンシン受容体を発現する線維芽細胞が、レニン-アンジオテンシン系の刺激で産生する液性因子に注目して、線維芽細胞が腫瘍免疫に与える影響を解析した。解析結果から、レニン-アンジオテンシン系を制御することで免疫抑制を解除できれば、既存の降圧薬であるアンジオテンシン受容体阻害薬：Angiotensin receptor blocker (ARB)を用いることができ、臨床応用できるメリットがある。

## 3. 研究の方法

(1) まず、*in vitro* でヒト線維芽細胞とマウス線維芽細胞の培養液に、Angiotensin (100nM) と、ARB として Valsartan (100 $\mu$ M) をそれぞれの組み合わせで添加し、72 時間後の、培養上清中の CCL5 を ELISA を用いて解析した。

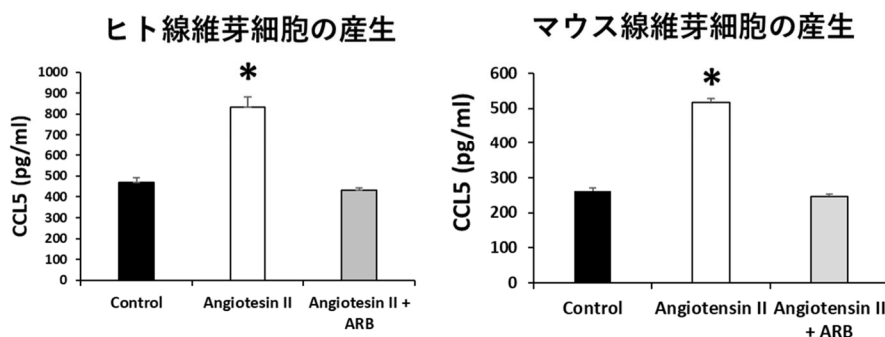
(2) 次にマウス悪性黒色腫細胞株 (B16) を、C57/B6 マウスに皮下移植し、ARB を投与した。過去の報告を参考に、ARB として Valsartan を滅菌水にて 200mg/L で溶解し、3 日おきに交換し飲水させた。腫瘍サイズは、3 日おきに測定した。

(3) さらに、抗 PD-1 抗体療法との併用を行った。マウス悪性黒色腫細胞株 (B16) を、C57/B6 マウスに皮下移植し、ARB と抗 PD-1 抗体を投与した。腫瘍サイズは、3 日おきに測定した。

## 4. 研究成果

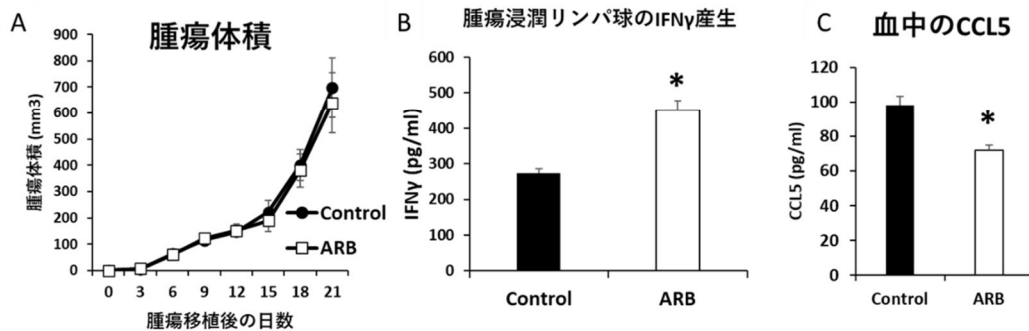
(1) *in vitro* での実験から、ヒト線維芽細胞とマウス線維芽細胞は、Angiotensin II 刺激で CCL5 を産生し、ARB の投与で CCL5 の産生は阻害された (図 1)。

図1 線維芽細胞は、レニン-アンジオテンシン系によってCCL5の産生が制御される



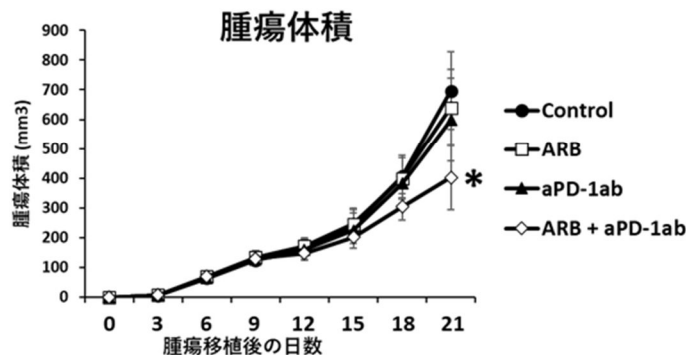
(2) また、悪性黒色腫を移植したマウスモデルでは、ARB 投与群とコントロール群間で、腫瘍のサイズは有意差がなかった (図 2A)。一方、腫瘍内において、腫瘍抗原(gp100)特異的 T 細胞応答を IFN 産生能で比較すると、コントロール群に比較して ARB 投与群で腫瘍抗原(gp100)特異的 T 細胞応答の増加がみられた (図 2B)。また、血漿中の CCL5 を ELISA で測定したところ、コントロール群に比較して ARB 投与群で有意に血漿中の CCL5 が減少した (図 2C)。

図 2 悪性黒色腫を移植したマウスモデルで、ARBの投与は、腫瘍免疫応答を増強させる



(3) さらに、ARB と抗 PD-1 抗体療法との併用を行った。ARB と抗 PD-1 抗体の併用療法群は、それ以外の群に比べて、有意に腫瘍増殖を抑制した (図 3)。

図3 アンジオテンシン受容体阻害薬と抗PD-1抗体との併用で、腫瘍増殖を抑制した



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>中村 謙太                                    |
| 2. 発表標題<br>悪性黒色腫の局所性レニン アンジオテンシン系を介した線維芽細胞の腫瘍免疫応答解析 |
| 3. 学会等名<br>第83回日本皮膚科学会東京・東部支部合同学術大会                 |
| 4. 発表年<br>2019年                                     |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Nakamura Kenta   |
| 2. 発表標題<br>Analysis of the tumor immunity that fibroblasts are associated with through a localized renin-angiotensin system in the malignant melanoma |
| 3. 学会等名<br>日本研究皮膚科学会 第44回年次学術大会・総会  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Nakamura Kenta  |
| 2. 発表標題<br>Chemokine-based prediction of the therapeutic efficacy of anti-PD-1 antibody therapy for malignant melanoma |
| 3. 学会等名<br>24th World Congress Of Dermatology (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|                                     |
|-------------------------------------|
| 1. 発表者名<br>中村 謙太                    |
| 2. 発表標題<br>ケモカインによる抗PD-1抗体療法の治療効果予測 |
| 3. 学会等名<br>第35回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会       |
| 4. 発表年<br>2019年                     |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>中村謙太                           |
| 2. 発表標題<br>ケモカインによる悪性黒色腫の抗PD-1抗体療法の治療効果予測 |
| 3. 学会等名<br>第46回日本臨床免疫学会                   |
| 4. 発表年<br>2018年                           |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

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