

アドレナリン依存性内皮細胞Immunogenic reprogrammingを介した腫瘍免疫機構の解明

早河 翼

東京大学 消化器内科

【研究の背景】

胃癌は本邦で多い癌種であり、患者数、死亡数ともに上位を占める。一般に治療抵抗性であり、ステージ 4 症例では平均生存期間は 2 年に満たない。よって、特に進行癌に対する新規薬物標的治療の開発が待たれている。

進行胃癌に対する薬物治療は、通常の細胞障害性抗癌剤と分子標的薬剤に分けられる。細胞障害性抗癌剤は全身への副作用の観点から投与量が制限されやすく、また治療後も抗癌剤耐性の癌幹細胞が残存し、腫瘍の再増殖・再進展をもたらすという欠点がある。胃癌に対する分子標的薬剤は抗 HER2、抗 VEGFR 治療、また、最近 PD-L1 を標的とした抗腫瘍免疫療法の併用が行われているが、その効果は十分だとは言えない。

【目 的】

申請者は、胃内幹細胞領域にケモカイン CXCL12 を発現する血管内皮細胞と、その受容体である CXCR4 を発現する免疫細胞が集簇して粘膜恒常性に寄与していることを報告した(Hayakawa et al., 2015)。これまでにを行った遺伝子発現解析の結果、CXCL12 陽性内皮細胞はアドレナリン受容体である Adrb2 を高発現し、腫瘍内でアドレナリン刺激を受けて CXCL12 や他のケモカイン(CXCL2/10/13)、サイトカイン(IL6/1b/33)、表面抗原(CD80/86)の発現を増加させることが分かった。これにより腫瘍内に多様な免疫細胞・免疫反応が誘導され、この Adrb2 依存的腫瘍内免疫応答の変化を内皮細胞のアドレナリン依存性 Immunogenic reprogramming と称する。本研究では腫瘍免疫を制御するアドレナリン依存性血管内皮細胞の Immunogenic reprogramming 機構の解明と、治療応用への探索を目的とした。

【方 法】

マウス胃癌モデルとして、2 カ月以内に前庭部に 1cm 大の肉眼的胃腫瘍を形成する Mist1-CreERT; ApcF/F マウスモデルと、4 カ月以内に体部に広範な炎症性腫瘍を発生する IL-1b 過剰発現マウスを用いた。また、Apc、Kras、p53、Tgfr2 遺伝子(KPAT)の合計 4 種の主要遺伝子変異を同時に生じさせた胃腫瘍オルガノイドを樹立し、この KPAT オルガノイドは C57BL6 バックグラウンド(=正常の免疫系を持つ)のマウスにも移植が可能であった。この KPAT オルガノイドを皮下注射した Xenograft モデルも用いた。これらの腫瘍モデルに、アドレナリンシグナル阻害として Adrb2 特異的阻害薬 ICI118551 持続投与及び Adrb2 ノックアウトマウスを用いた。また、アドレナリンシグナル阻害と抗腫瘍免疫療法の併用による治療効果解析のため、抗 PD-L1 抗体、抗 CTLA-4 抗体も併用して解析を行った。これらの胃腫瘍内で生じている免疫プロファイルのアドレナリン活性状態による変化を解析した。好中球系免疫細胞を標識する CXCR4-GFP マウス、血管内皮細胞の一分画を標識する CXCL12-RFP マウスを用い、腫瘍内の CXCL12/CXCR4 シグナル分布を解析した。

【結 果】

腫瘍内では CXCR4 陽性好中球系免疫細胞、CXCL12 陽性血管内皮細胞の活性型分画が増加・進展していた。活性化内皮細胞の働きによって、正常状態と比してより多彩な免疫細胞、とくに PD-L1 を発現する細胞群が腫瘍内に誘導され、

PD-L1 を発現する骨髓球系細胞が多く含まれていた。Adrb2 阻害剤と抗 PD-L1 抗体を投与したマウスではアドレナリン依存性 Immunogenic reprogramming が抑制され、腫瘍内 PD-L1 陽性細胞の減少と CD8 陽性 T 細胞の増加を認めたことから、Adrb2 を介した免疫制御機構が腫瘍免疫に関与していると考えられた。また血管内皮細胞中の CXCL12 をノックアウトしたマウスでは、KPAT 胃癌オルガノイドの Xenograft モデルで、ノックアウトによる腫瘍抑制効果を確認した。同様に、IL1b マウス胃炎モデルにおいて Adrb2 をノックアウトしたマウスでは、胃炎組織において好中球の減少・T 細胞の増加を認めた。Adrb2 阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤の併用投与を行ったところ、コントロールおよび Adrb2 阻害剤/免疫チェックポイント阻害剤単剤群に比べより効果的な腫瘍サイズ縮小効果が認められた。以上の結果は、Adrb2 阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤の併用を含めた CIN・GS 型胃癌に対する新規治療法の可能性を提示することができた。

【考 察】

Adrb2 阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤の併用は特に CIN・GS 型胃癌に対する新規治療法として有効である可能性を提示することができた。申請者は、胃内の幹細胞領域にケモカイン CXCL12 を発現する血管内皮細胞が集簇しており、その受容体である CXCR4 を発現する免疫細胞との相互作用を介して粘膜恒常性に寄与していることを報告した (Hayakawa et al., 2015)。同様の CXCL12/CXCR4 依存性血管周囲ニッチの存在は造血幹細胞領域でも認められている (Ding and Morrison, 2013)。腫瘍内血管の重要性は主に血管新生の観点から注目されることが多いが、申請者は内皮細胞による傍分泌的免疫修飾の観点から研究を進めている。

また、最近申請者らの報告により神経細胞による腫瘍進展制御機構が明らかになり、アセチルコリンによる胃腫瘍増殖作用や (Hayakawa et al., 2017; Zhao et al., 2014)、アドレナリンによる膵臓及び前立腺の腫瘍増殖作用 (Magnon et al., 2013; Renz et al., 2018) が認められている。またアドレナリンによる血管新生促進作用も報告されている (Hayakawa and Wang, 2017; Zahalka et al., 2017)。アドレナリンによる腫瘍免疫修飾機構は、新規の神経・腫瘍相互作用と考えられ、本研究領域において重要な知見となると期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

神経ストレスと悪性腫瘍の相互作用については以前から注目されている研究分野の一つであり、最近の解析手法の進化に伴いその関連性がより科学的に証明されてきている (Hayakawa et al., 2017; Zhao et al., 2014)。本研究では Adrb2 を選択的に阻害する薬剤・ノックアウトマウスを用いてその有効性を証明したが、実臨床においてはすでに広く使われている β ブロッカーと各種抗癌剤の併用によって患者の予後延長に資する可能性があり、前向き・後ろ向きの臨床研究の展開が期待できる。また一般的に言えば、古くから伝わる「病は気から」という格言の信ぴょう性についてある程度の解を与える研究成果であり、広く人々の興味を引き新たなイノベーションの開発につながる可能性がある。

【参考・引用文献】

Ding, L., and Morrison, S.J. (2013). Haematopoietic stem cells and early lymphoid progenitors occupy distinct bone marrow niches. *Nature* 495, 231-235.

Hayakawa, Y., Ariyama, H., Stancikova, J., Sakitani, K., Asfaha, S., Renz, B.W., Dubeykovskaya, Z.A., Shibata, W., Wang, H., Westphalen, C.B., et al. (2015). Mist1 Expressing Gastric Stem Cells Maintain the Normal and Neoplastic Gastric Epithelium and Are Supported by a Perivascular Stem Cell Niche. *Cancer Cell* 28, 800-814.

Hayakawa, Y., Sakitani, K., Konishi, M., Asfaha, S., Niikura, R., Tomita, H., Renz, B.W., Taylor, Y., Macchini, M., Middelhoff, M., et al. (2017). Nerve Growth Factor Promotes Gastric Tumorigenesis through Aberrant Cholinergic Signaling. *Cancer Cell* 31, 21-34.

Hayakawa, Y., and Wang, T.C. (2017). Nerves switch on angiogenic metabolism. *Science* 358, 305–306.

Magnon, C., Hall, S.J., Lin, J., Xue, X., Gerber, L., Freedland, S.J., and Frenette, P.S. (2013). Autonomic nerve development contributes to prostate cancer progression. *Science* 341, 1236361.

Renz, B.W., Takahashi, R., Tanaka, T., Macchini, M., Hayakawa, Y., Dantes, Z., Maurer, H.C., Chen, X., Jiang, Z., Westphalen, C.B., *et al.* (2018). beta2 Adrenergic–Neurotrophin Feedforward Loop Promotes Pancreatic Cancer. *Cancer Cell* 33, 75–90 e77.

Zahalka, A.H., Arnal-Estapé, A., Maryanovich, M., Nakahara, F., Cruz, C.D., Finley, L.W.S., and Frenette, P.S. (2017). Adrenergic nerves activate an angio–metabolic switch in prostate cancer. *Science*, In press.

Zhao, C.M., Hayakawa, Y., Kodama, Y., Muthupalani, S., Westphalen, C.B., Andersen, G.T., Flatberg, A., Johannessen, H., Friedman, R.A., Renz, B.W., *et al.* (2014). Denervation suppresses gastric tumorigenesis. *Science translational medicine* 6, 250ra115.