

研究題目 腫瘍組織の免疫応答における特徴的血管機能の生体イメージング解析

研究組織

研究代表者：木戸屋浩康（大阪大学微生物病研究所）

共同研究者：岡崎拓（徳島大学先端酵素学研究所）

研究分担者：村松史隆（大阪大学微生物病研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

腫瘍血管は機能的および構造的に異常性を示すため、癌組織への免疫細胞の浸潤が困難となることが知られている(Carmeliet P. Nat Rev Drug Discov. 2011)。このような「腫瘍血管の異常性」は血管新生阻害剤(VEGF 阻害剤)の投与によって解消され、「腫瘍血管の正常化(Vascular normalization)」と呼ばれている。実際に、VEGF 阻害剤による血管正常化が CD8+T 細胞の腫瘍組織内への浸潤を促進させ、がん免疫応答を促進させることが報告されている。

(Fukumura D. Nat Rev Clin Oncol. 2018)。しかしながら、その実態には多くの不明瞭な点がある。例えば、組織学解析から観察される T 細胞の浸潤部位には偏りが認められ、正常化する血管の特異性が示唆される。腫瘍血管の正常化がどのようにして進行して T 細胞の浸潤促進へと繋がっていくかを知るために、生体イメージング解析にて血管と免疫細胞の両方の挙動を同時に解析する必要がある。

申請者はこれまでの研究から、腫瘍血管にて特異的に蛍光を発する血管イメージングマウスを作成した。さらに、このマウスにがん細胞を移植することで胆癌モデルを作成し、腫瘍血管を観察可能とする実験系を構築している。本研究では、この胆癌モデルマウスの血管イメージング系を用いることで、VEGF 阻害剤(Axitinib)の投与によってどのように血管正常化が誘導され、その結果として免疫細胞の浸潤がどのように変化していくのか時空間的に解析する。また、申請者がこれまでに同定した血管正常化誘導分子である Apelin(Kidoya H.

Oncogene. 2012)などの投与による効果についても同様に解析する。それぞれの解析系にて撮影された動画から、T 細胞の浸潤を可能とする正常血管がどの時期にどの部位に出現するかを比較し、がん免疫療法にとって効果的な血管正常化の誘導法を解明する。

[1-2]研究の方法・経過

腫瘍血管の動態を経時的に観察するため、多光子共焦点レーザー顕微鏡 (Leica、TCS SP8 system) を用いた生体イメージングによる経時的な解析を行った。我々が作成した血管イメージングマウスを用いて、iRFP 蛍光タンパクを発現させた GL261 グリオーマ細胞もしくは LLC 肺がん細胞の頭蓋骨内表層部への移植による担癌モデルを作成して撮影を行った。72 時間以上の長時間にわたる撮影を行うことで、腫瘍組織内で血管形成が進行している様子が確認できた。また、この腫瘍イメージング解析系を用いて、胆癌モデルマウスに VEGF 阻害剤である Axitinib を連日投与し、血管形態にどのような変化が起きるかを解析した。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

腫瘍組織の生体内イメージング解析においては、予想されたような腫瘍増大に伴う血管新生の進行過程を観察することができた。さらに、VEGF 阻害剤の投与は血管新生の特徴である血管の発芽を完全に抑制し、未熟で細い血管の退縮を促進することが確認できた。また、その結果として太くて成熟した血管が腫瘍内に残存し、「腫瘍血管の正常化(Vascular normalization)」

と呼ばれている状況へと変化していることを明らかにすることができた。

[2-2] 本共同研究による波及効果及び今後の発展性

これまでの本共同研究によって、VEGF 阻害剤による血管の正常化がどのように生体内で進行していくかを知ることができた。これまで、血管の正常化は、未熟な血管が成熟していくことで誘導されていると考えられてきたが、実際は成熟血管が選択的に残存する結果であることを示すことができた。引き続き、本研究の目的である免疫細胞の浸潤過程の解析を進め、癌免疫療法による治療効果がどのように得られているのかを明らかにしたい。その成果は、現在の癌治療において最も有望視されている癌免疫療法の治療効果のさらなる改善に繋がるものとして期待できる。

【3】主な発表論文等

[3-1] 論文発表

- 1) [雑誌] Komabayashi-Suzuki M, Yamanishi E, Watanabe C, Okamura M, Tabata H, Iwai R, Ajioka I, Matsushita J, Kidoya H, Takakura N, Okamoto T, Kinoshita K, Ichihashi M, Nagata KI, Ema M, Mizutani KI. Spatiotemporally Dependent Vascularization Is Differently Utilized among Neural Progenitor Subtypes during Neocortical Development. *Cell Rep.* 29(5):1113-1129. 2019.
- 2) [雑誌] Jia W, Hsieh HY, Kidoya H, Takakura N. Embryonic expression of GINS members in the development of the mammalian nervous system. *Neurochem Int.* 129:104465. 2019.
- 3) [雑誌] Kivelä R, Hemanthakumar KA, Vaparanta K, Robciuc M, Izumiya Y, Kidoya H, Takakura N, Peng X, Sawyer DB, Elenius K, Walsh K, Alitalo K. Endothelial Cells Regulate Physiological Cardiomyocyte Growth via VEGFR2-Mediated Paracrine Signaling. *Circulation.* 139(22):2570-2584. 2019.
- 4) [書籍] 木戸屋浩康. 血管形成におけるApelin/Elabela-APJ シグナルの役割. 医学のあゆみ. 医歯薬出版株式会社. 270巻1号. 2019年

[3-2] 学会発表

- 1) 木戸屋浩康.腫瘍血管形成の真実に迫るレトロスペクティブ4D イメージング解析.大阪大学タンパク質研究所セミナー「がん研究の新機軸」. 大阪. 7月4日. 2019年
- 2) 木戸屋浩康.造血幹細胞の恒常性維持に必須

となる転写ネットワーク制御機構の解明. 第40回日本炎症・再生医学会. 神戸. 7月16日. 2019年

3) 木戸屋浩康. 癌微小環境遷移への適応を導く腫瘍血管のダイナミクス. 第8回 生命科学阿波おどりシンポジウム. 徳島. 8月16日. 2019年

4) 木戸屋浩康. 血管形成の時空間的ダイナミクスを司る新規ミエロイド系細胞群の同定. 第92回日本生化学会大会. 横浜. 9月18日. 2019年

5) 木戸屋浩康. 白血病の発症に関する新規の転写ネットワーク制御機構の解明. 第78回日本癌学会学術総会. 京都. 9月26日. 2019年

6) 木戸屋浩康. 血管新生阻害薬への治療抵抗性を生む腫瘍血管のダイナミクス. 関西血管生物研究会 2019. 大阪. 9月28日. 2019年

1) 木戸屋浩康. アンジオクラインファクターが保つ組織微小環境の調和. 42回日本分子生物会年会. 福岡. 12月3日. 2019年

[3-3] 成果資料等 なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

これまでの研究により、腫瘍血管の動態を観察するイメージング系は確立できており、血管新生阻害剤に応じた変化も観察できている。その一方で、腫瘍組織内のT細胞を観察する条件についてはまだ定まっておらず、条件検討を重ねる必要がある。引き続き研究を進めることで、腫瘍組織内のT細胞の動態を解明し、免疫チェックポイント阻害剤を用いたがん免疫療法の効果改善に繋げていきたい。