

[課程－ 2]

審査の結果の要旨

氏名 石井 太祐

悪性腫瘍を有する患者において慢性腎臓病(chronic kidney disease: CKD)の合併は予後不良因子であることが多くの先行研究で示されており、特に腎がん患者においてこの傾向が顕著である。しかし、CKD が腎がん進行に及ぼす生物学的な機序については明らかでない。

抗炎症作用を示す M2-like マクロファージは腎臓において線維化を促進する因子の 1 つである。悪性腫瘍においては悪性腫瘍の進展と共に M2-like マクロファージが腫瘍組織内に増加し腫瘍発達を促進させ、腎がんにおいても腫瘍発達に寄与している。しかし、障害腎における M2-like マクロファージによる腎がん発達への影響については今までに検討されていない。

本研究では、障害腎における M2-like マクロファージの存在が腎がん発達を促進させている可能性を検証するため、急性腎障害(acute kidney injury: AKI)後に CKD(AKI to CKD)へと進展するマウスモデルにマウス由来腎がん細胞株である RenCa 細胞を接種することで、腫瘍発達の変化及び腫瘍組織内の免疫細胞分布を評価した。

AKI to CKD の代表的なモデルである片側腎虚血再灌流(unilateral ischemia reperfusion injury: uIRI)モデルおよびアリストロキア酸腎症モデルを使用し、線維化を誘導した障害腎被膜下に RenCa 細胞を接種し腫瘍発達を評価した。障害腎では健常腎と比較して腫瘍発達が促進し、腫瘍内 F4/80lowLy6Clow マクロファージ分画が増加し、CD3+細胞、CD4+細胞、CD8+細胞の割合が低下した。

腫瘍から単離した F4/80lowLy6Clow マクロファージの養子移植実験により、腫瘍発達促進・腫瘍内 F4/80lowLy6Clow マクロファージの増加・CD3+細胞および CD4+細胞の低下が誘導され、F4/80lowLy6Clow マクロファージは M2-like マクロファージとして作用し、免疫抑制的な微小環境を再現することが示された。

次にクロドロネート(clodronate liposome: CL)を用いて uIRI 後に障害腎皮質から F4/80lowLy6Clow マクロファージを除去することで線維化が抑制されたことから、先行研究と合わせて F4/80lowLy6Clow マクロファージは障害腎においても M2-like マクロファージとして作用することがわかった。uIRI 後 CL 投与した腎被膜下に RenCa 細胞を移植すると、腫瘍発達抑制・F4/80lowLy6Clow マクロファージ減少・CD3+細胞および CD8+細胞割合増加が認められた。これに抗 CD8 抗体もしくは抗 CD4 抗体投与を組み合わせると、抗 CD8 抗体はマクロファージ除去による腫瘍抑制効果が打ち消したが、抗 CD4 抗体

は腫瘍発達に影響しなかった。これらの結果から障害腎皮質における F4/80^{low}Ly6C^{low} マクロファージの存在が、障害腎に移植された腎がんでの免疫抑制的な微小環境を形成する要因であり、特に CD8 T 細胞の浸潤抑制が腫瘍発達を促進していることが示された。

抗 PD-1 抗体は腎がんに対する重要な治療薬であるが一部で認められる治療抵抗性が課題となっており、その原因として T 細胞浸潤低下や M2-like マクロファージの存在が考えられている。本研究でも抗 PD-1 抗体は uIRI 腎で発達した腫瘍に対しては抗腫瘍効果を示さなかったが、uIRI 後に M2-like マクロファージを除去した腎臓で発達した腫瘍に対しては腫瘍縮小効果を示した。障害腎皮質における M2-like マクロファージは抗 PD-1 抗体への抵抗性にも寄与していることがわかった。

腎皮質および腎がん検体から uIRI 後の Ly6C^{low} マクロファージ、Sham 手術後の Ly6C^{low} マクロファージを単離し、total RNA シークエンスを実施した。uIRI 群の腎皮質検体および腎がん検体で共に発現上昇している 26 の遺伝子の中で Slc7a11 に着目し、Slc7a11 がコードするシスチン・グルタミン酸アンチポーターの阻害剤である sulfasalazine を用いた実験を行った。sulfasalazine 単独では RenCa 細胞に対して増殖抑制効果を示さないが、抗 PD-1 抗体と共に投与することで抗 PD-1 抗体抵抗性を改善させた。しかし、腫瘍内 F4/80^{low}Ly6C^{low} マクロファージ割合や T 細胞割合は変化しなかった。この効果は sulfasalazine が M2-like マクロファージの RenCa 細胞に対する腫瘍促進的な機能を阻害することによると考えられた。

以上より、障害腎における M2-like マクロファージの存在が腎がん組織内での M2-like マクロファージ増加を引き起こし、腫瘍組織内 M2-like マクロファージは腎がん細胞の増殖能を促進させるとともに、CD8 T 細胞浸潤を抑制することで腎がん発育を促進させ、抗 PD-1 抗体の効果を減弱させることが示された。本研究により、障害腎における腎がんでは健常腎における腎がんと比較して腫瘍免疫微小環境が異なり、このことが CKD を有する腎がん患者の予後悪化に寄与している可能性が示され、同患者に対する特異的な治療開発の必要性が示唆される。また、本研究で同定された Slc7a11 陽性マクロファージは抗 PD1 抗体抵抗性を予測するマーカーとなる可能性があり、これらのマクロファージを標的とする治療が抗 PD1 抗体抵抗性を示す腎がん患者では特に有用であることも期待される。本研究は腎障害を有する腎がんをはじめ、臓器障害を有するがん患者に対するさらなる研究の必要性を示すことで、今後のがん治療開発に貢献するものとする。よって本論文は博士（医学）の学位請求論文として合格と認められる。