

令和 2 年 5 月 19 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15209

研究課題名(和文) 白血病(幹)細胞を制御するがん微小環境の分子基盤の解明

研究課題名(英文) Uncover molecular basis on cancer microenvironment regulating leukemia stem cells

研究代表者

田中 宏樹 (TANAKA, HIROKI)

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：20725452

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々が独自に作成したsipa1遺伝子破壊マウスが慢性骨髄性白血病を拒絶することを見出した。さらに、そのメカニズムとしてSipa1遺伝子破壊マウスの腫瘍内の骨髄間葉系細胞と免疫細胞であるT細胞は活性化しており、増殖因子やケモカインに対する反応性が亢進していることを見出した。このように、Sipa1欠失により腫瘍局所の間葉系幹細胞とT細胞が共同して癌の排除に関与していることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々が明らかにした慢性骨髄性白血病を排除する機構を利用した新規創薬開発の可能性を見出した。それは、これまでの既存の薬剤とは異なる作用起点であることから、既存薬との併用により、より効率的にがんを制御できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Chronic myelogenous leukemia (CML) caused by hematopoietic stem cells expressing the Bcr-Abl fusion gene. We found that Sipa1 deficient mice reject CML cells expressing Bcr-Abl, which cause lethal CML disease in wild-type mice. Resistance requires both T cells and nonhematopoietic cells. Sipa1 deficient mesenchymal stroma cells (MSCs) show enhanced activation and directed migration to Bcr-Abl expressing cells in tumor tissue and preferentially produce Cxcl9, which in turn recruits Sipa1 deficient memory T cells that have markedly augmented chemotactic activity. Sipa1 deficiency uncovers a host immune mechanism potentially capable of eradicating Bcr-Abl expressing cells via coordinated interplay between MSCs and immune T cells.

研究分野：腫瘍学、免疫学

キーワード：間葉系幹細胞 T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がんの発生やその増殖・浸潤・転移は、遺伝子変異、染色体異常、microRNA の異常、DNA のメチル化異常などががん細胞になる細胞自体の特性によると考えられる。一方、がん細胞を取り巻く微小環境の異常によってもがんが発症することが分かりつつある。しかしながら、微小環境の構成因子がどのように相互作用してがんの発生や進展に関与しているのかについては未解明な部分が多く残されている。

我々はこれまでに、Ras ファミリーに属する Rap1 の制御因子 Sip1 遺伝子破壊マウスが慢性骨髄性白血病 (CML) 細胞に対して強い抵抗性を示すこと、この抵抗性に免疫担当細胞、骨髄ストローマ細胞、腫瘍細胞の相互作用が関与していることを明らかにしてきた。本研究では Rap1 の下流にある微小環境因子の機能および細胞間クロストークに關与する分子に着目して、微小環境による白血病の発生と進展の制御システムを細胞・分子レベルで明らかにする。

2. 研究の目的

我々はこれまでに、Ras ファミリーに属する Rap1 の制御因子 Sip1 遺伝子破壊マウスが慢性骨髄性白血病 (CML) 細胞に対して強い抵抗性を示すこと、その原因として造血・免疫系細胞、非造血細胞 (骨髄ストローマ細胞) の両者が関与していることが明らかにした。本研究では、Rap1 シグナル異常による免疫担当細胞および間葉系幹細胞の機能、および、これらの細胞と CML (幹)細胞との細胞間クロストークに關与する分子に着目して、微小環境による白血病(幹)細胞の制御機構を分子レベルで解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) Sip1 遺伝子破壊マウスの CML 抵抗性を担う免疫担当細胞の同定

免疫担当細胞の関与に関しては、各種免疫細胞を除去する抗体および特定の免疫細胞を欠く遺伝子改変マウスとの重変異マウスを作製し、どの免疫担当細胞が抗腫瘍効果に影響を与えるのか明らかにする。

(2) 皮下移植による組織学的な検討

Bcr-Abl+HPC を皮下に移植した結果、静脈からの移入と同様、Sip1 遺伝子破壊マウスにおいて CML 抵抗性が認められた。骨髄での腫瘍微小環境の検討は、骨という非常に硬い組織が存在するので詳細な解析が難しいので、皮下移植モデルを用いて、腫瘍微小環境の検討をおこなった。

(3) T 細胞および線維芽細胞の遊走能の検討

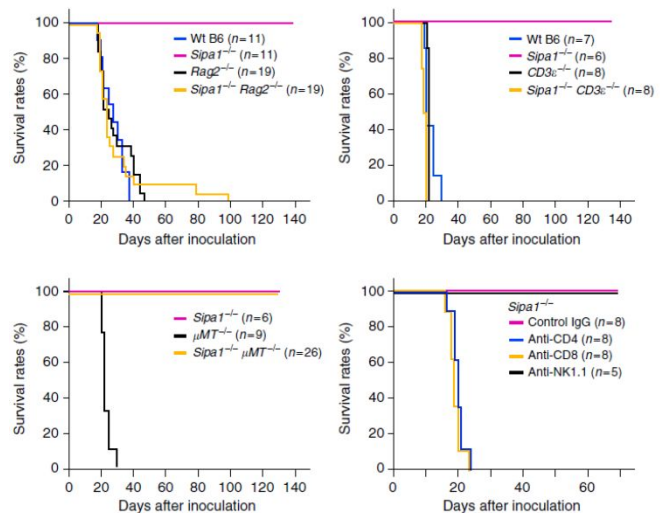
腫瘍細胞及び腫瘍内で発現が高い増殖因子、ケモカインに対する T 細胞、線維芽細胞の応答性を、遊走能、Haptotaxis assay を用いて検討した。

4. 研究成果

(1) Sip1 遺伝子破壊マウスの CML

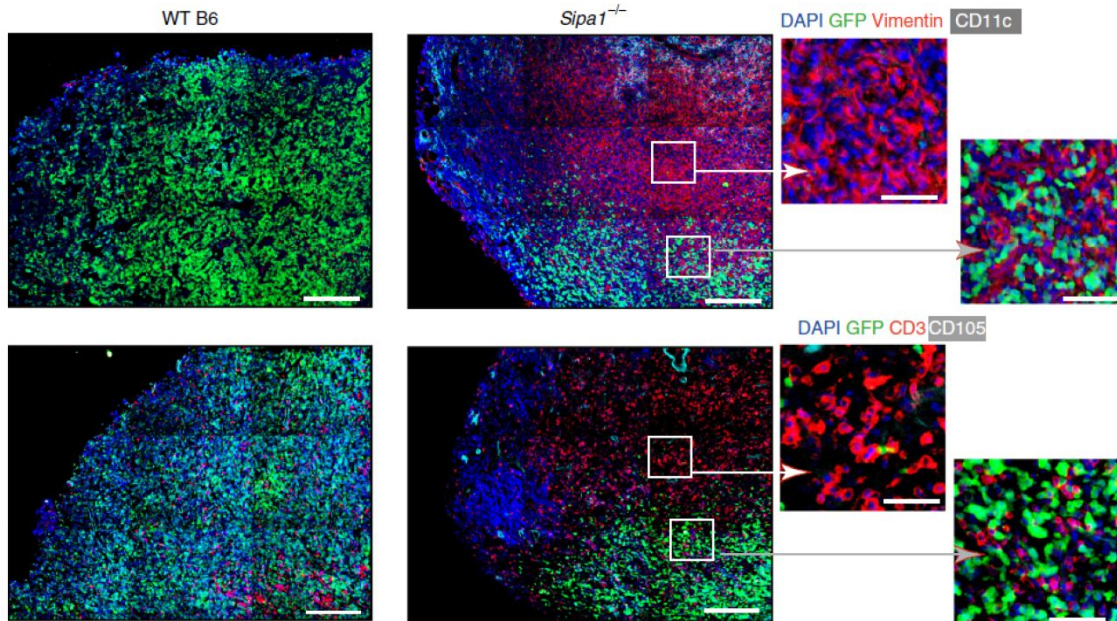
抵抗性を担う免疫担当細胞の同定

Sip1 遺伝子破壊マウス、Rag2 遺伝子破壊マウス、CD3ε遺伝子破壊マウス、 μ MT マウスおよびこれらの重変異マウスはすでに作製して、Bcr-Abl+HPC の移入実験をおこなった結果、Sip1 遺伝子破壊マウスの CML 抵抗性には T 細胞が CML(幹)細胞の排除に必要なことが明らかとなった。さらに、CD4、CD8、NK1.1 に対する細胞除去抗体を用いて、CML(幹)細胞の抵抗性に必要な細胞を検討したところ、CD4+T 細胞および CD8+T 細胞がともに必要であることが明らかとなった。また、NK1.1 を発現する NK 細胞や NKT 細胞は Sip1 遺伝子破壊マウスの CML(幹)細胞に対する抵抗性には、必要ではないことが明らかとなった。



(2) 皮下移植による組織学的な検討

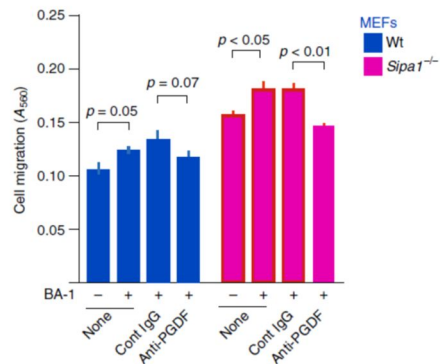
CML(幹)細胞をマウスの皮下に移植すると、野生型と異なり Sip1 遺伝子破壊マウスの腫瘍塊内には間葉系幹細胞および免疫細胞が認められ、腫瘍の排除を行っていることが明らかとなった。さらに、腫瘍内の T 細胞や間葉系幹細胞を解析すると、Sip1 遺伝子破壊マウスでは、T 細胞や間葉系幹細胞は活性化しており、CML(幹)細胞に対して細胞遊走能が亢進していることを見出した。



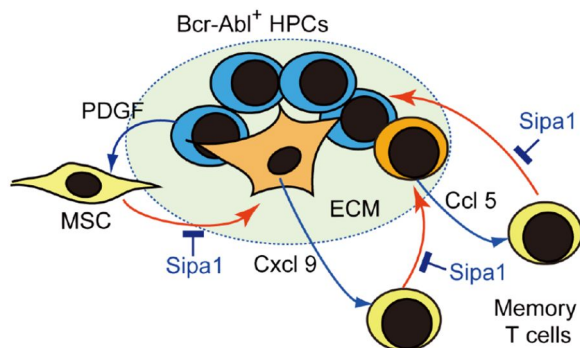
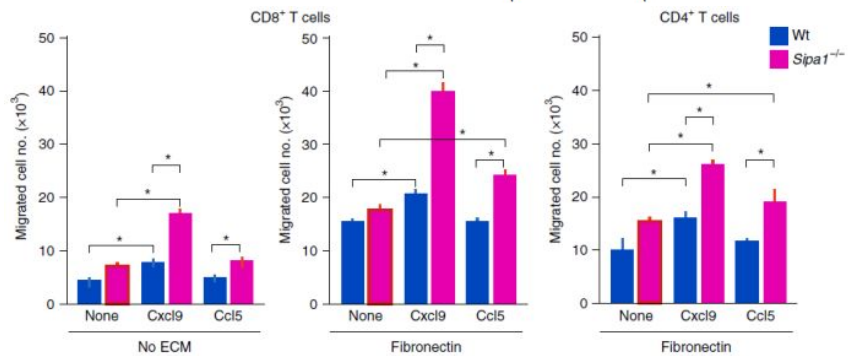
(3) T細胞および線維芽細胞の遊走能の検討

CML(幹)細胞、間葉系幹細胞、T細胞のクロストークを検討するため、CML(幹)細胞が産生するPDGF-AAに対して細胞遊走能が亢進しているか、マウス胎仔線維芽細胞(MEF)を用いて検討した。その結果、Sipa1遺伝子破壊マウスのMEFはPDGF-AAに対するHaptotaxisが亢進していることを見出した。

さらに、腫瘍内の間葉系幹細胞が産生するケモカインCxcl9に対して、Sipa1遺伝子破壊マウスのCD8+T細胞、CD4+T細胞は野生型に比べて強い遊走能を見出した。さらに、Sipa1遺伝子破壊マウスの



腫瘍内では、CCL5の発現が亢進しており、これに対してもCD8+T細胞、CD4+T細胞は野生型に比べて強い遊走能を見出した。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Xu Y, Ikeda S, Sumida K, Yamamoto R, Tanaka H, Minato N	4. 巻 9
2. 論文標題 Sipa1 deficiency unleashes a host-immune mechanism eradicating chronic myelogenous leukemia-initiating cells	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 914
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41467-018-03307-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Imai T, Tanaka H, Hamazaki Y, Minato N	4. 巻 110
2. 論文標題 Rap1 signal modulators control the maintenance of hematopoietic progenitors in bone marrow and adult long-term hematopoiesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1317-1330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13974	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Ryusuke Yamamoto, Yan Xu, Satoshi Ikeda, Kentaro Sumida, Hiroki Tanaka, Katsuto Hozumi, Akifumi Takaori-Kondo, Nagahiro Minato	4. 巻 203
2. 論文標題 Thymic Development of a Unique Bone Marrow-Resident Innate-like T Cell Subset With a Potent Innate Immune Function	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Immunology	6. 最初と最後の頁 167-177
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.4049/jimmunol.1900111.	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4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Hiroki Tanaka, Yan Xu, Satoshi Ikeda, Kentaro Sumida, Ryusuke Yamamoto, Nagahiro Minato
2. 発表標題 Sipa1 deficiency uncovers a host-immune mechanism eradicating CML-initiating cells
3. 学会等名 CSHL Meeting on Mechanisms & Models of Cancer（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yan Xu, Satoshi Ikeda, Kentaro Sumida, Ryusuke Yamamoto, Hiroki Tanaka, Nagahiro Minato
2. 発表標題 Sipa1 deficiency unleashes a host-immune mechanism eradicating chronic myelogenous leukemia-initiating cells
3. 学会等名 第47回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yan Xu, Satoshi Ikeda, Kentaro Sumida, Ryusuke Yamamoto, Hiroki Tanaka, Nagahiro Minato
2. 発表標題 Sipa1 deficiency unleashes a potent host anti-cancer immune mechanism
3. 学会等名 Keystone Symposia Cancer Metastasis: The Role of Metabolism, Immunity and the Microenvironment (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ikeda Satoshi, Yan Xu, Kentaro Sumida, Ryusuke Yamamoto, Hiroki Tanaka, Nagahiro Minato
2. 発表標題 Sipa1 deficient mouse rejects cancer cell through immune cell migration into the tumor tissue
3. 学会等名 CSHL Meeting on Biology of Cancer; Metastasis & Microenvironment (国際学会)
4. 発表年 2019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