

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K16454

研究課題名（和文）大腸癌の腫瘍免疫抑制細胞群プロファイルによる免疫療法の応用

研究課題名（英文）Immunosuppressive cells in the tumor microenvironment in colorectal cancer

研究代表者

遠藤 英成（Endo, Eisei）

福島県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：80836271

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：当研究者らは近年、マイクロサテライト不安定な大腸癌において、TGF- β 依存的な癌関連線維芽細胞の活性化を示すサブグループを報告した。本研究では、予後や治療効果（特に免疫チェックポイント阻害剤）の異なる大腸癌サブグループにおける免疫抑制性細胞群の意義に着目した。遺伝子発現解析および免疫組織学的検討により、TGF- β による間質活性化を示す大腸癌は、免疫抑制的なM2マクロファージ浸潤が高度で、免疫チェックポイント分子であるTIM-3が高発現であることを示した。また単球のTGF- β 処理やM2マクロファージ分化誘導によりTIM-3発現が亢進することを見出した。大腸癌における抗TIM-3治療の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、一部の大腸癌において、免疫チェックポイント分子が高発現すること、またその発現制御においてTGF- β が関連する可能性を示した。本研究の結果が将来、大腸癌の微小環境の理解と、個別的な免疫療法の可能性に資するものと考えられる。

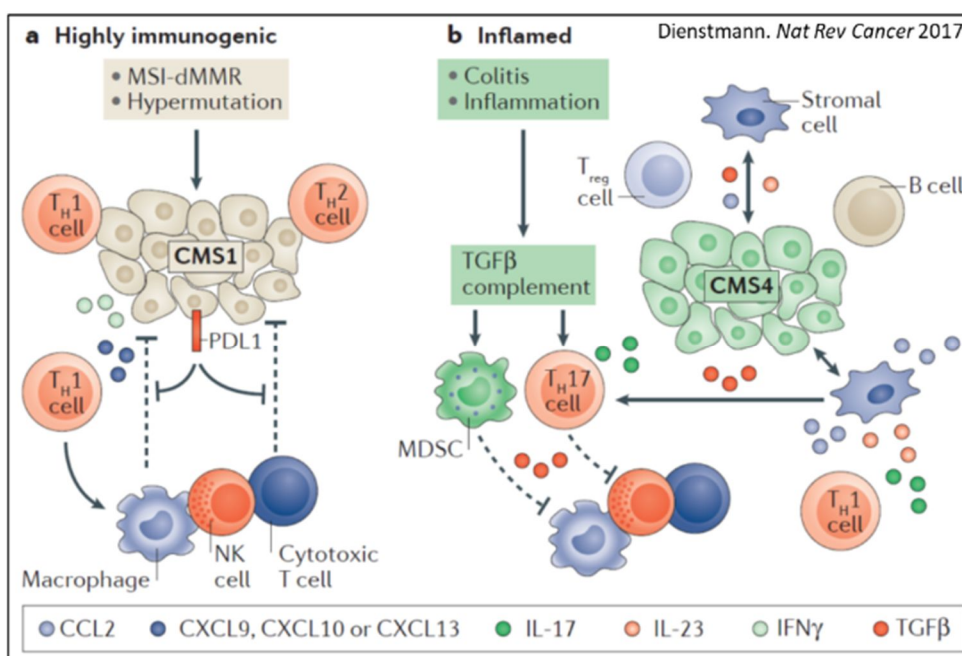
研究成果の概要（英文）：We have recently reported a subgroup of microsatellite unstable CRC exhibiting TGF- β -dependent activation of cancer-associated fibroblasts. In the present study, we focused on the significance of immunosuppressive cell populations in CRC subgroups with different prognoses and therapeutic responses, especially to immune checkpoint inhibitors. We found that CRCs showing TGF- β -responsive stromal activation were associated with M2 macrophage infiltration, as well as high levels of an immune checkpoint molecule, TIM-3. M2-polarized macrophages and TGF- β treated monocytes showed increased TIM-3 expression, indicating the possibility of anti-TIM-3 therapy in CRC.

研究分野：大腸癌

キーワード：大腸癌 マクロファージ 腫瘍微小環境

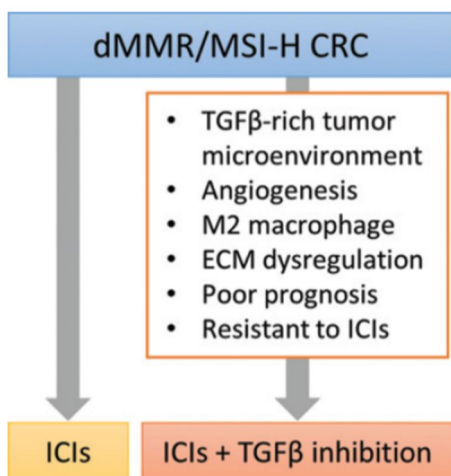
1. 研究開始当初の背景

大腸癌は、発癌の分子メカニズムおよびゲノム・エピゲノム異常に基づいて研究されてきた。近年、大規模な大腸癌トランスクリプトームデータ集積により、腫瘍微小環境 (tumor microenvironment: TME) を軸として理解の変革が起きている。転写レベルで予後不良サブタイプを規定するのは腫瘍細胞ではなく、癌間質に由来する遺伝子発現であり、その主役を担うのが癌関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblast: CAF) であることが示された (Calon et al. *Nat Genet* 2015, Isella et al. *Nat Genet* 2015)。一方、近年提唱された CMS サブタイプ (CMS1-4: Consensus Molecular Subtype) は網羅的遺伝子発現解析に基づいており、癌細胞だけでなく腫瘍微小環境における免疫・間質細胞由来の遺伝子発現プロファイルを含んでいる (Guinney et al. *Nat Med* 2015)。下図に示すように、例えば CMS1 大腸癌はゲノムレベルでは MSI-H および高頻度の変異を示し、免疫原性が高く、免疫細胞浸潤とともに免疫チェックポイント分子の高発現を伴う。免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitor: ICI) が有効な群である。一方、CMS4 大腸癌は腫瘍細胞や間質細胞から分泌される TGF β により CAF が活性化され、腫瘍免疫は抑制されており、高悪性度で予後不良な群である。



当研究者らは近年、MSI-H/CMS1 大腸癌におけるサブグループとして、TGF β 依存的な癌間質・CAFの活性化を特徴とし、予後不良でICIに不応であるCMS4-likeな集団を同定し報告している (下図、Endo E et al. *Mol Cancer Res* 2020)。このサブグループはCD8 $^{+}$ T細胞浸潤、

TMB、PD-L1発現、BRAF変異等の既知のマーカーとも独立している。これらの患者はTGF β 阻害剤とICIの併用が有用な可能性が示唆されている。



MSI-H 大腸癌に対するICIの適応とその著しい腫瘍縮小と予後延長効果は大腸癌臨床におけるパラダイムシフトをもたらしたとはいえ、MSI-HにおけるICIの奏効率は60%程度にとどまるのが現状である。従って、ICIが奏功する症例を抽出すること、異なるICIや分子標的薬の組み合わせによりいかに治療効果を最大化するか、などが大きな課題となっている。当研究者らの上記報告はこのような課題を解決する糸口となる可能性があると考えている。一方で、左図に示すような予後や治療抵抗性の異なるサブグループを特徴づけるのが、いかなる免疫担当細胞、特に免疫抑制細胞なのかということは十分に明らかではない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、予後や治療効果（特に ICI）の異なる大腸癌サブグループを規定するような免疫抑制性細胞群の同定、その各群における割合や機能の検証である。究極的には個別的な抗 TME 治療を目指すものである。

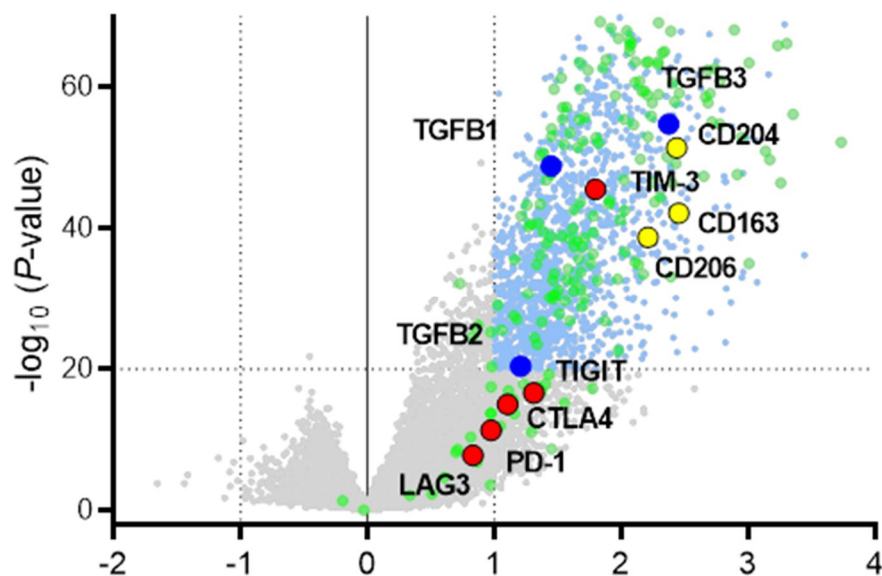
また当初の目的として、種々の抑制性免疫担当細胞として Treg、TAM、MDSC などを想定していたが、後述するように主たる対象をマクロファージとするに至った。

3. 研究の方法

本研究では下記のような方法を用いる（詳細は研究成果の欄に述べる）。

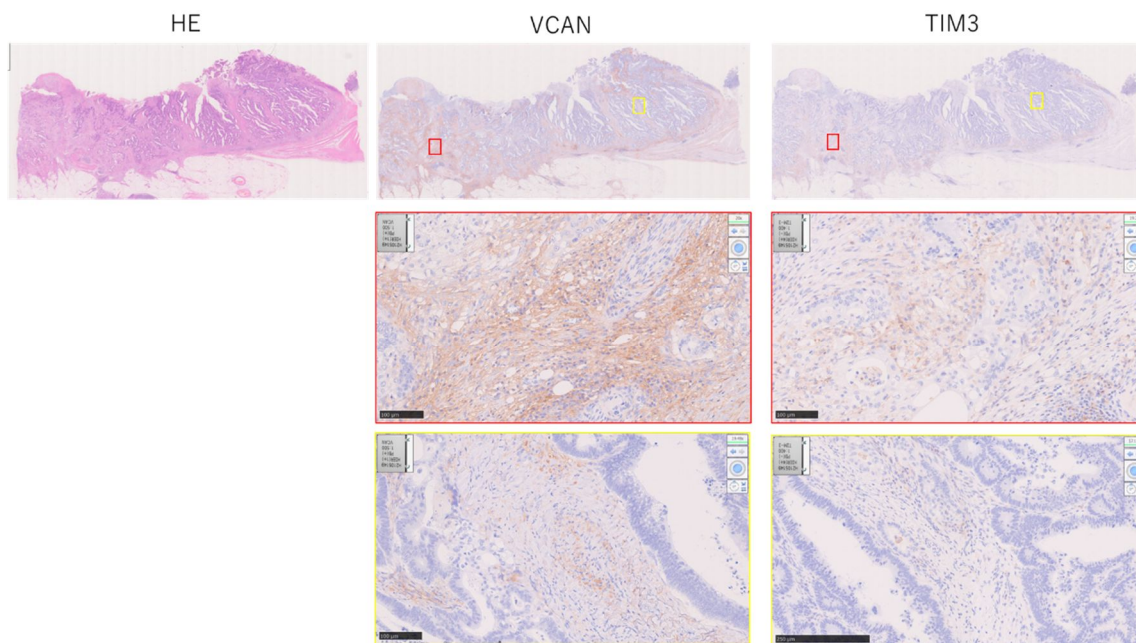
- 網羅的データ解析（マルチオミクスデータとして、マイクロアレイ、RNA シークエンス）
- 各種統計解析
- ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）切片を用いた免疫組織学的検討
- 臨床病理学的情報、予後、分子マーカー等の検討
- 分子生物学的解析、免疫細胞の検討（PBMC の採取と免疫細胞の分化、大腸癌細胞株との共培養）

4. 研究成果

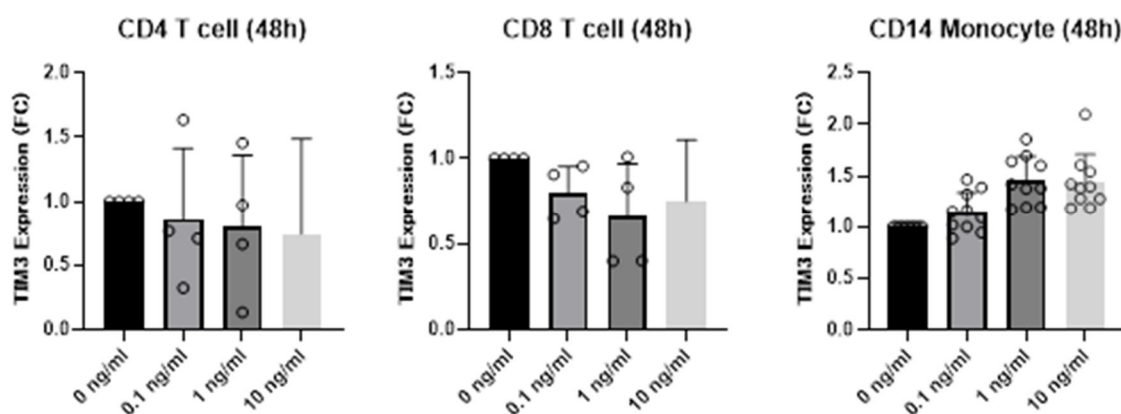


当研究者らによる近年の解析結果（*Mol Cancer Res* 2020）から、TGF 依存的な CAF 活性化を示す大腸癌は、腫瘍促進的・免疫抑制的な M2 マクロファージ浸潤が高度であり、かつ免疫チェックポイント分子である TIM-3 発現が高値である可能性が示唆されていた。本研究はこの知見をもとに大規模なデータ解析に展開し、TGF、M2 マクロファージ、TIM-3 の関連について検討するに至った。上図に示すように、TME において TGF が豊富で間質が活性化している大腸癌では、黄色で示すような M2 マクロファージ関連遺伝子、TGF リガンド遺伝子、および TIM-

3 遺伝子が際立って高発現していることがわかる。一方で、PD1 や CTLA4 といった他の免疫チェックポイント分子の発現は目立たない。M2 マクロファージは腫瘍促進的・腫瘍免疫抑制的な TAM 様のマクロファージ分画であり、M2 マクロファージ上に発現する TIM-3 が TGF によって誘導され、またそれが ICI の標的となる可能性が示唆された。



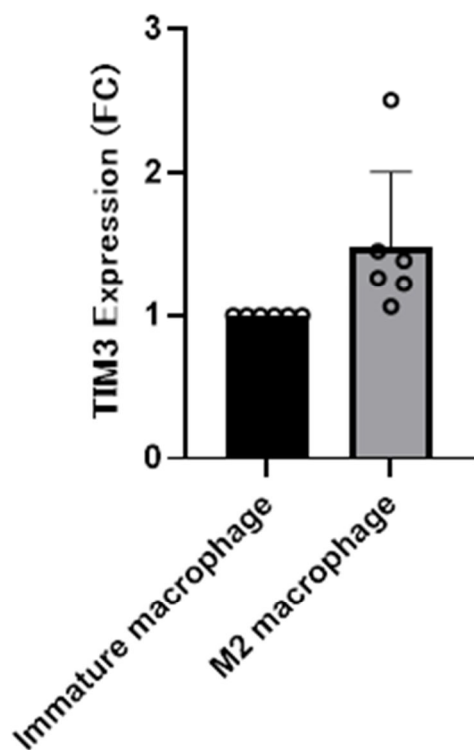
上図のように、大腸癌組織を用いて免疫組織学的検討を行った。TIM-3 および、TGF によって CAF に誘導される VCAN タンパクを染色した。TIM-3 陽性免疫細胞は VCAN 陽性の腫瘍間質に一致して認められることを示した。



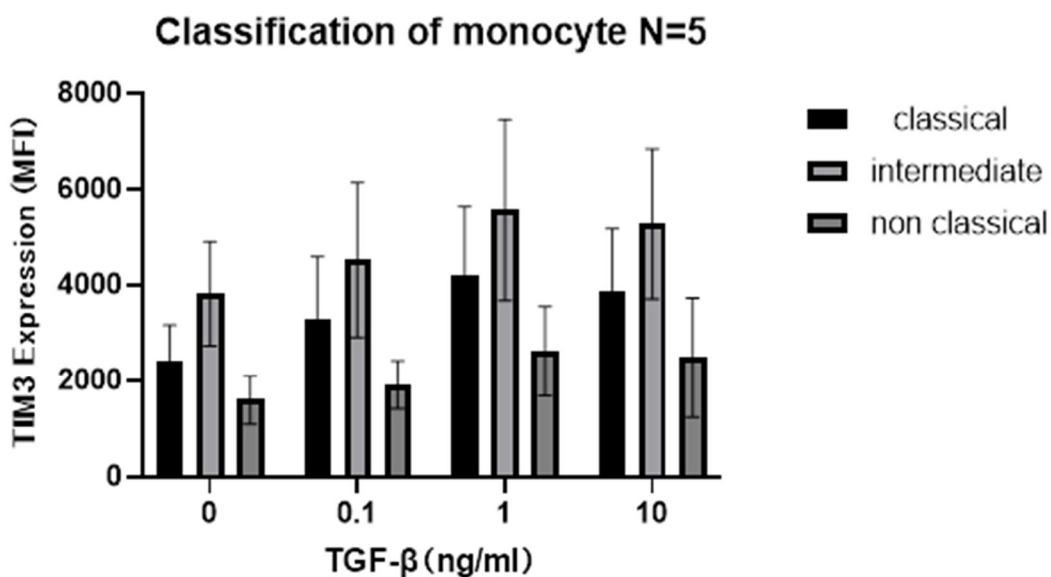
PBMC から CD4 + T 細胞、CD8 + T 細胞、単球を採取した。In vitro で各免疫細胞に TGF 刺激を行うことで、単球上に濃度依存的に TIM3 発現が亢進することを見出した。一方、CD4 + T 細胞、CD8 + T 細胞においては TGF 刺激による細胞表面の TIM-3 発現上昇は明らかではなかった。

また下図のように、in vitro で単球から分化誘導した M2 マクロファージでは著明に TIM-3 発

現が上昇していた。M1 マクロファージにおいては
明らかな TIM-3 発現の上昇はなかった。



一方、単球の各分画 (classical, intermediate, non-classical) を検討したが、TGF β による TIM-3 の
上昇について明確な意義を確認するには至らな
かった。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Katagata Masanori, Okayama Hirokazu, Nakajima Shotaro, Saito Katsuharu, Sato Takahiro, Sakuma Mei, Fukai Satoshi, Endo Eisei, Sakamoto Wataru, Saito Motonobu, Saze Zenichiro, Momma Tomoyuki, Mimura Kosaku, Kono Koji	4. 巻 15
2. 論文標題 TIM-3 Expression and M2 Polarization of Macrophages in the TGF β -Activated Tumor Microenvironment in Colorectal Cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 4943 ~ 4943
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers15204943	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 Nakajima Shotaro, Kaneta Akinao, Okayama Hirokazu, Saito Katsuharu, Kikuchi Tomohiro, Endo Eisei, Matsumoto Takuro, Fukai Satoshi, Sakuma Mei, Sato Takahiro, Mimura Kosaku, Saito Motonobu, Saze Zenichiro, Sakamoto Wataru, Onozawa Hisashi, Momma Tomoyuki, Kono Koji	4. 巻 15
2. 論文標題 The Impact of Tumor Cell-Intrinsic Expression of Cyclic GMP-AMP Synthase (cGAS)-Stimulator of Interferon Genes (STING) on the Infiltration of CD8 $^{+}$ T Cells and Clinical Outcomes in Mismatch Repair Proficient/Microsatellite Stable Colorectal Cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2826 ~ 2826
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers15102826	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 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡山洋和, 松本拓朗, 遠藤英成, 金田晃尚, 伊藤美郷, 齋藤元伸, 佐瀬善一郎, 門馬智之, 三村耕作, 河野浩二.
2. 発表標題 Targeting the tumor immune microenvironment in colorectal cancer
3. 学会等名 第77回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2022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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------