

令和 5 年 5 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19H03452

研究課題名(和文)慢性炎症を基盤としたリプログラミングの可視化と腫瘍の解析

研究課題名(英文)Analysis of tumor and reprogramming based on chronic inflammation

研究代表者

森井 英一 (Morii, Eiichi)

大阪大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：10283772

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：慢性炎症から惹起される腫瘍は多様性に富む。多様性は遺伝子発現パターンの違いにより生み出されるが、本研究では腫瘍の多様性を生み出すepigeneticな制御機構を病理検体を用いて検討した。その結果、ヒストンH3の27番目のリジンにメチル化を生じさせるEZH2と、H3K27にトリメチル化が入ったH3K27me3の発現パターンが相互排他的であること、SWI/SNF複合体の中でATPase活性をもつSMARCA2とSMARCA4の2種類の因子の量比が腫瘍の悪性度と相関することを見出した。さらに肺胞と気管支各々のオルガノイドの作成にも成功し、慢性炎症が遺伝子発現に及ぼす影響を研究するモデル系を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

慢性炎症を背景に発生する腫瘍は予後不良で形態学的にも多様性に富んでいる。多様性とは発現する遺伝子パターンの違いに帰着でき、慢性炎症と遺伝子発現パターンを制御する因子との間に何らかの関係があることが予想される。それを解析するためには、まず腫瘍の多様性と遺伝子発現パターン制御因子を調べる必要がある。遺伝子発現パターンの制御はepigeneticなレベルで起こっている。そこで、epigeneticな状況を制御する様々な因子と腫瘍形態との関連を病理検体を用いて解析した。その結果、多様性を生み出す因子と腫瘍形態との相関性があることがわかり、この制御により腫瘍の予後を改善することが期待される。

研究成果の概要(英文)：Tumors induced by chronic inflammation are highly diverse. The diversity is generated by differences in gene expression patterns. In this study, we investigated the epigenetic regulatory mechanisms that generate tumor diversity using pathological specimens. We found that the expression patterns of EZH2, which causes methylation of the 27th lysine of histone H3, and H3K27me3, which trimethylates H3K27, are mutually exclusive. We further found that the ratio of the amount of SMARCA2 and SMARCA4, two factors with ATPase activity in the another epigenetic regulator SWI/SNF complex, correlated with tumor grade. Furthermore, we succeeded in generating organoids for each alveolar and bronchial organ and established a model system to study the effects of chronic inflammation on gene expression.

研究分野：病理学

キーワード：慢性炎症 腫瘍 遺伝子発現制御

1. 研究開始当初の背景

慢性炎症と腫瘍は関連することが知られていた。肺腫瘍は形態と予後とが比較的相関する腫瘍であるが、慢性間質性肺炎を基盤として発生する腫瘍は多様な組織型をとり予後が比較悪いことが報告されていた。しかし、慢性炎症を基盤として発生する腫瘍がなぜ多様な組織型をとるのかは知られていなかった。多様性とは発現する遺伝子パターンの違いに帰着でき、慢性炎症と遺伝子発現パターンを制御する因子との間に何らかの関係があることが予想されていたが、その実態は明らかではなかった。また、慢性炎症と関連する腫瘍における形態的な多様性と遺伝子発現パターンを制御する因子との間の関係も不明であった。

2. 研究の目的

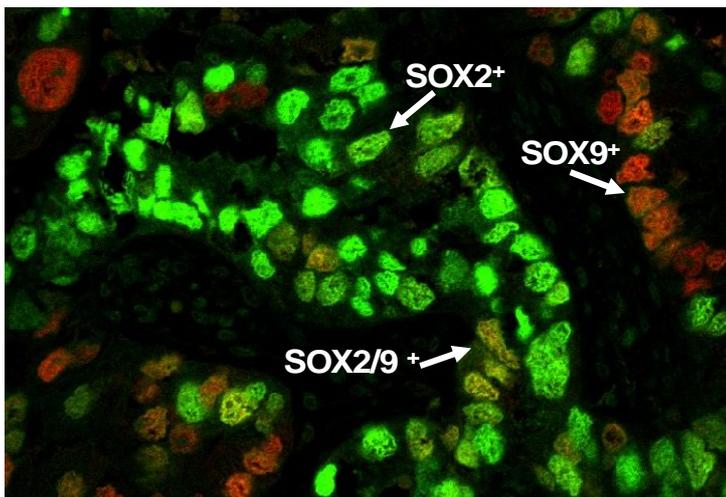
ヒト病理組織検体を用いて実際の腫瘍と炎症における種々の遺伝子発現パターンを調べることにより、慢性炎症を基盤として発生する腫瘍はなぜ多様性をもつのかを明らかとすることを目的とする。

3. 研究の方法

ヒト病理組織検体におけるタンパク発現を免疫組織化学的手法により解析する。具体的には慢性炎症により細胞が未熟化することも考え、臓器発生過程で発現する種々のマーカーの発現を慢性間質性肺炎と、それが惹起する腫瘍で検討する。さらにヒト病理検体より樹立したオルガノイドなどを用いて、慢性炎症と形質変化との関連を調べる。

4. 研究成果

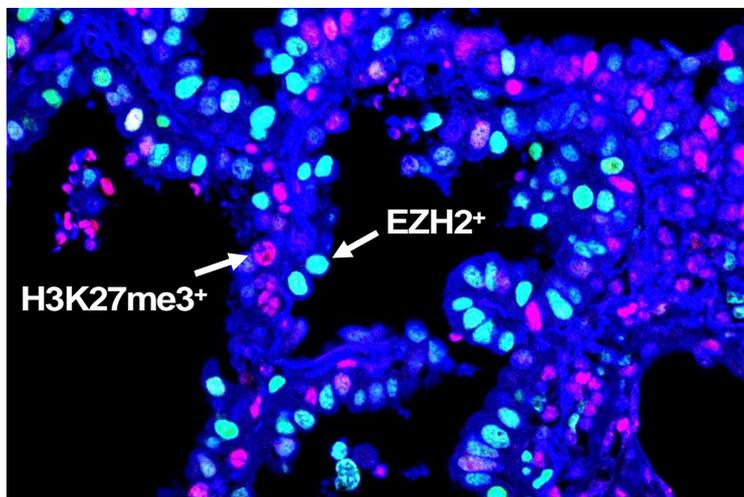
慢性炎症疾患として、慢性間質性肺炎に着目し、慢性間質性肺炎に合併する肺腫瘍を含む病理検体の解析を行った。肺の発生過程において、気管支上皮には Sox2 が発現し、その先端部分が Sox9 陽性になり肺胞が発生することが知られている。ヒトにおいては Sox2, Sox9 の両者を発現する細胞群も肺の発生過程では存在すると言われているが、成人の炎症を起こした肺組織、およびそれに付随する腫瘍組織におけるこれらの因子の発現については知られていない。そこで、慢性間質性肺炎合併肺腫瘍組織で、Sox2, Sox9 の発現を検討したところ、化生により肺胞領域が気管支様の形態をとる部分では Sox2 が、それ以外の肺胞領域では Sox9 が陽性になることがわかった。腫瘍における発現形態は多様であり、Sox9 陽性細胞が主体を占めているが、部分的に Sox2 陽性細胞が混在していることがわかった。両者を二重染色することにより、Sox2 と Sox9 を同時に発現する細胞が存在しているかどうかの検討を行ったところ、両者が発現する細胞が炎症巣では存在することがわかった。



また、epigenetic な変化により遺伝子発現調節を行うクロマチンリモデリング因子について、慢性肺炎を基盤に発生するヒト肺腫瘍での発現動態を検討した。ヒストン 3 における 27 番目のリジン残基にメチル化を入れる酵素である EZH2 と、EZH2 が作用した結果である H3K27me3 の発現を検討した。その結果、腫瘍において両者を共発現する細胞はないことが明らかとなった。lepidic subtype という組織亜型においては細胞の形態だけをみれば EZH2 陽性細胞と H3K27me3 陽性細胞の判別はできないが、免疫染色を行うことにより、EZH2 陽性細胞と H3K27me3 陽性細胞が混在していることがわかった。その状況でも、EZH2 と H3K27me3

の両者を発現する細胞はなかった。両者は酵素と基質の関係であることから、発現において何らかの negative feedback がかかっていることが予想された。遺伝子発現を制御するクロマチンリモデリング因子自身の発現も複雑な制御機構があることが示された（文献 1）。

さらに、epigenetic な変化を惹起するリモデリング因子として、SWI/SNF 複合体のメンバーについての発現も解析した。SWI/SNF 複合体には ATPase 活性をもつサブユニットとして、



SMARCA2 と SMARCA4 の 2 種類がある。この両者は一つの細胞で共発現しているが、その量比の意義については不明であった。未熟な腫瘍のいくつかでは、この SMARCA2 と SMARCA4 の発現が失われているが、今回、この両者の量比の意義についても検討した。その結果、卵巣腫瘍において SMARCA2-high, SMARCA4-low の状況では化学療法に対する抵抗性が増し、悪性化の程度がより高度になることがわかった。SMARCA2 も SMARCA4 もクロマチン構造を変化させる役割を有しているため、クロマチン構造の変化を解析する ATAC-seq を行ったところ、SMARCA2-high, SMARCA4-low の状況では FGF シグナルが増強されていることがわかった。以上のことより、SMARCA2 と SMARCA4 の量比は腫瘍の悪性化に関与することが明らかとなった（文献 2）。

病理検体より病態を解明するためには、培養可能な検体を得ることが重要である。近年、臓器類似のオルガノイドを培養する技術が進んでいる。そこで、慢性間質性肺炎の病理検体より、肺胞類似のオルガノイド、気管支上皮類似のオルガノイドを樹立できないか検討した。

種々の条件検討を行った結果、現在、ヒト病理検体より肺胞類似のオルガノイド、気管支上皮類似のオルガノイドを樹立できる条件を決定し、安定したオルガノイド樹立が可能となっている。これらを利用して、慢性間質性肺炎における肺胞領域の気管支上皮化生の機構を調べ、慢性炎症とそれを基盤として発生する化生、および腫瘍の関係を検討している最中である。



肺胞類似オルガノイド



気管支上皮類似オルガノイド

（引用文献）

- 1) Onishi T, Takashima T, Kurashige M, Ohshima K, **Morii E**. Mutually exclusive expression of EZH2 and H3K27me3 in non-small cell lung carcinoma. *Pathol Res Pract*. 2022 Aug 12;238:154071. doi: 10.1016/j.prp.2022.154071.
- 2) Kido K, Nojima S, Motooka D, Nomura Y, Kohara M, Sato K, Ohshima K, Tahara S, Kurashige M, Umeda D, Takashima T, Kiyokawa H, Ukon K, Matsui T, Okuzaki D, **Morii E**. Ovarian high-grade serous carcinoma cells with low SMARCA4 expression and high SMARCA2 expression contribute to platinum resistance. *J Pathol*. 2023 May;260(1):56-70. doi: 10.1002/path.6064.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計19件（うち査読付論文 19件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 12件）

1. 著者名 Kiyokawa H, Abe M, Matsui T, Kurashige M, Ohshima K, Tahara S, Nojima S, Ogino T, Sekido Y, Mizushima T, Morii E.	4. 巻 22
2. 論文標題 Deep Learning Analysis of Histologic Images from Intestinal Specimen Reveals Adipocyte Shrinkage and Mast Cell Infiltration to Predict Postoperative Crohn Disease	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Am J Pathol .	6. 最初と最後の頁 106-7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ajpath.2022.03.006.	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 -
1. 著者名 Ohshima K, Oi R, Nojima S, Morii E.	4. 巻 256
2. 論文標題 Mitochondria govern histone acetylation in colorectal cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Pathol.	6. 最初と最後の頁 164-173
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5818.	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 -
1. 著者名 Ohshima K, Oi R, Okuzaki D, Motooka D, Shinohara M, Nojima S, Morii E.	4. 巻 125
2. 論文標題 Mitochondrial matrix protein C14orf159 attenuates colorectal cancer metastasis by suppressing Wnt/ -catenin signalling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Br J Cancer .	6. 最初と最後の頁 1699-1711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-021-01582-9.	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 -
1. 著者名 Tahara S, Nojima S, Ohshima K, Hori Y, Sato K, Kurashige M, Matsui T, Okuzaki D, Morii E.	4. 巻 10
2. 論文標題 Nicotinamide N-methyltransferase is related to MELF pattern invasion in endometrioid carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med .	6. 最初と最後の頁 8630-8640
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.4359	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 Kusumoto S, Kurashige M, Ohshima K, Tahara S, Matsui T, Nojima S, Hattori S, Morii E.	4. 巻 10
2. 論文標題 An immature inhibin- ⁻ -expressing subpopulation of ovarian clear cell carcinoma cells is related to an unfavorable prognosis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med .	6. 最初と最後の頁 1485-1500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3801.	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 Tahara S, Kohara M, Sato K, Morii E.	4. 巻 229
2. 論文標題 Strong expression of PD-L1 in invasive front of MELF pattern in endometrioid carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathol Res Pract .	6. 最初と最後の頁 153699
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prp.2021.153699.	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 -

1. 著者名 Kusumoto S, Kurashige M, Ohshima K, Tahara S, Matsui T, Nojima S, Hattori S, Morii E.	4. 巻 10
2. 論文標題 An immature inhibin- ⁻ -expressing subpopulation of ovarian clear cell carcinoma cells is related to an unfavorable prognosis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Med	6. 最初と最後の頁 1485-1500
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cam4.3801.	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 Moribe F, Nishikori M, Takashima T, Taniyama D, Onishi N, Arima H, Sasanuma H, Akagawa R, Elloumi F, Takeda S, Pommier Y, Morii E, Takaori-Kondo A, Murai J.	4. 巻 16
2. 論文標題 Epigenetic suppression of SLFN11 in germinal center B-cells during B-cell development.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS One.	6. 最初と最後の頁 e0237554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0237554.	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 該当する

1. 著者名 Ohshima K, Morii E.	4. 巻 11
2. 論文標題 Metabolic Reprogramming of Cancer Cells during Tumor Progression and Metastasis.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Metabolites.	6. 最初と最後の頁 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/metabo11010028.	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 -

1. 著者名 Luo W, Tahara S, Kawasaki K, Kobayashi A, Nojima S, Morii E.	4. 巻 63
2. 論文標題 The expression of trefoil factor 3 is related to histologic subtypes and invasiveness in lung adenocarcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 OncoL Lett.	6. 最初と最後の頁 63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2020.12325.	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 該当する

1. 著者名 Tone M, Tahara S, Nojima S, Motooka D, Okuzaki D, Morii E.	4. 巻 111
2. 論文標題 HTR3A is correlated with unfavorable histology and promotes proliferation through ERK phosphorylation in lung adenocarcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 3953-3961.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14592.	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 Hori Y, Hirose K, Aramaki-Hattori N, Suzuki S, Nakayama R, Inoue M, Matsui T, Kohara M, Toyosawa S, Morii E.	4. 巻 15
2. 論文標題 Fibro-adipose vascular anomaly (FAVA): three case reports with an emphasis on the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diagn Pathol.	6. 最初と最後の頁 98
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13000-020-01004-z.	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 -

1. 著者名 Kawashima A, Kanazawa T, Kidani Y, Yoshida T, Hirata M, Nishida K, Nojima S, Yamamoto Y, Kato T, Hatano K, Ujike T, Nagahara A, Fujita K, Morimoto-Okazawa A, Iwahori K, Uemura M, Imamura R, Ohkura N, Morii E, Sakaguchi S, Wada H, Nonomura N.	4. 巻 10
2. 論文標題 Tumour Grade Significantly Correlates With Total Dysfunction of Tumour Tissue-Infiltrating Lymphocytes in Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep .	6. 最初と最後の頁 6220
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-63060-1.	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 Kimura Kenji, Matsumoto Shinji, Harada Takeshi, Morii Eiichi, Nagatomo Izumi, Shintani Yasushi, Kikuchi Akira	4. 巻 111
2. 論文標題 ARL4C is associated with initiation and progression of lung adenocarcinoma and represents a therapeutic target	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 951 ~ 961
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14303	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 Tahara Shinichiro, Nojima Satoshi, Ohshima Kenji, Hori Yumiko, Kurashige Masako, Wada Naoki, Motoyama Yuichi, Okuzaki Daisuke, Ikeda Jun ichiro, Morii Eiichi	4. 巻 110
2. 論文標題 Serum deprivation response protein regulates aldehyde dehydrogenase 1 through integrin linked kinase signaling in endometrioid carcinoma cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1804 ~ 1813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14007	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 Kido K, Nojima S, Motooka D, Nomura Y, Kohara M, Sato K, Ohshima K, Tahara S, Kurashige M, Umeda D, Takashima T, Kiyokawa H, Ukon K, Matsui T, Okuzaki D, Morii E	4. 巻 260
2. 論文標題 Ovarian high-grade serous carcinoma cells with low SMARCA4 expression and high SMARCA2 expression contribute to platinum resistance.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Pathol.	6. 最初と最後の頁 56-70
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.6064	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 Morii E, Hatanaka Y, Motoi N, Kawahara A, Hamakawa S, Kuwata T, Nagatomo T, Oda Y, Okamoto A, Tanaka R, Iyoda A, Ichiro M, Matsuo Y, Nakamura N, Nakai T, Fukuhara M, Tokita K, Yamaguchi T, Takenaka M, Kawabata A, Hatanaka KC, Tsubame K, Satoh Y; Working Group on Cytology in the Era of Genomic Medicine.	4. 巻 8
2. 論文標題 Guidelines for Handling of Cytological Specimens in Cancer Genomic Medicine.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Pathobiology	6. 最初と最後の頁 1-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000528346	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 Onishi T, Takashima T, Kurashige M, Ohshima K, Morii E	4. 巻 238
2. 論文標題 Mutually exclusive expression of EZH2 and H3K27me3 in non-small cell lung carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Pathol Res Pract.	6. 最初と最後の頁 154071-154071
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.prp.2022.154071.	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 Kusumoto S, Ikeda JI, Kurashige M, Maeno-Fujinami E, Tahara S, Matsui T, Nojima S, Okuzaki D, Morii E.	4. 巻 25
2. 論文標題 Tumor cell plasticity in endometrioid carcinoma is regulated by neuronal membrane glycoprotein M6-b.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncol Lett.	6. 最初と最後の頁 45-45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2022.13631.	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7件 (うち招待講演 7件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 病理標本から伺える疾患メカニズム
3. 学会等名 第17回日本病理学会カンファレンス (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 腫瘍の多様性を担う因子の解析 病理検体から学ぶこと
3. 学会等名 第111回日本病理学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 Heterogeneity of Tumor Cells from the Viewpoint of Pathological Specimen
3. 学会等名 日本癌学会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 病理診断におけるAIと専門医のあり方
3. 学会等名 日本学術会議公開シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 創薬研究における薬理 病理連携の必要性
3. 学会等名 第96回日本薬理学会年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 幹細胞の観点から考える子宮内膜癌のバイオロジー
3. 学会等名 第61回日本臨床細胞学会秋期大会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 森井英一
2. 発表標題 多様性という視点からみた腫瘍動態
3. 学会等名 第47回大阪府臨床細胞学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 南雲サチ子、森井英一	4. 発行年 2022年
2. 出版社 大阪大学出版会	5. 総ページ数 409
3. 書名 実践細胞診テキスト（改訂版）	

〔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
研究 分担者	奥崎 大介 (Okuzaki Daisuke) (00346131)	大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任准教授 (常勤) (14401)	

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
---------	---------