

令和 3 年 4 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16712

研究課題名（和文）癌幹細胞の腫瘍抗原性調節による大腸癌免疫療法の検討

研究課題名（英文）Cancer stem cell targeting therapy for colorectal cancer by regulating a factor involved in the control of immunogenicity

研究代表者

中西 祐貴（Nakanishi, Yuki）

京都大学・医学研究科・特定助教

研究者番号：40838679

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：大腸がんは、本邦のがん罹患の第1位、がん死の第2位を占める。近年注目される癌免疫療法の有効性は複数の癌種において確認されているが、大腸癌においてはごく一部の症例のみでしか奏功せず、治療抵抗性メカニズムの解明、および新規治療戦略の樹立が強く期待されている。一方、癌幹細胞は、癌の発生・維持に加えて浸潤や転移などで重要な役割を果たすとされている。本研究では、大腸癌幹細胞に高発現し、免疫原性を調節する因子の同定と、同分子の阻害が癌に及ぼす効果について検討した。それにより、ヒト大腸癌に対する、癌幹細胞を標的とした新規癌免疫療法の開発に向けた基礎的知見を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌免疫療法は大腸癌に対しては、ごく少数のマイクロサテライト不安定性（MSI-high）癌を除き、大多数をしめるマイクロサテライト安定性（MSS）癌には有効性が認められていない。本研究を通じて、MSS大腸癌における免疫治療抵抗性が形成される機序解明のための基礎的知見を得ることができた。今後、同機構を標的とすることにより、大腸癌の免疫治療抵抗性を克服する新規癌免疫療法開発につながる可能性がある。また、癌幹細胞の存在が示唆される他の多くの癌種に対しても、あてはまる普遍性を持つ研究であり、本研究の知見が癌種一般に対する治療成績向上につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Colorectal cancer (CRC) is one of the leading causes of cancer-related death worldwide. Immunotherapy could be a viable option for patients with cancers; however, most CRCs (MSS CRCs), except those with MSI-high CRCs, respond poorly to immunotherapy. Through this project, we found the unresponsiveness of MSS CRC is caused, at least in part, by low immunogenicity induced by cancer stem cells. By targeting this mechanism, the new immunotherapy for CRC would be developed. We believe our proposal is highly significant and of great impact as it harbors the potential to fill a major gap in the field of immunotherapy for cancers which are resistant to current immunotherapy.

研究分野：消化器内科

キーワード：大腸癌 癌幹細胞 癌免疫療法

1. 研究開始当初の背景

深部浸潤や遠隔転移を伴う進行大腸癌は、手術のみでは除去しきれず、抗癌剤治療が不可欠である。分子標的治療薬の発展等により、薬物療法が奏功する症例もあるものの、最終的にほぼ全ての癌が治療抵抗性を獲得する。近年注目される免疫チェックポイント阻害剤などの癌免疫療法は、血液腫瘍や肺癌、メラノーマ等で奏功するが、大腸癌において奏功するのは microsatellite instability-high (MSI-H)症例に限られ、大多数をしめる microsatellite stable (MSS)症例では有効性を示さない。大腸癌根絶のためには、手術のみによる根治困難な進行大腸癌症例に対し、薬物抵抗性を克服する新規治療法の開発が不可欠である。しかし、大腸癌の癌免疫治療抵抗性を制御するメカニズムは十分に明らかにされていない。

癌幹細胞は、原発巣における癌発生に深く関わるのみでなく、癌の浸潤や転移巣の形成にも主要な役割を果たす。加えて、癌幹細胞は種々の薬剤トランスポーターを発現しており、抗癌剤治療抵抗性の原因となる。申請者らは以前、癌微小環境における抗腫瘍免疫抑制機構について検討し、特に免疫治療抵抗性の大腸癌サブタイプにおいて癌幹細胞の特性もエンリッチしていることから、癌幹細胞が癌免疫性を低下させることでがん免疫療法抵抗性に寄与している可能性を考えた。そのため、大腸癌に対する免疫療法改善には、癌幹細胞において免疫抗原性を調節する因子の同定・標的化が肝要であると考えられる。免疫原性細胞死 (Immunogenic cell death: ICD) は、癌の免疫原性を決定する重要な要素の一つである。腫瘍増殖の活発なターンオーバーに伴う、もしくは抗癌剤治療に伴う腫瘍細胞死により放出された腫瘍抗原は抗原特異的癌免疫を活性化する。MHCII を介して CD4 陽性 T 細胞を活性化する経路、あるいは樹状細胞を介し直接的に CD8 陽性 T 細胞を活性化する経路 (クロスポレゼンテーション) 双方において、この ICD による腫瘍免疫の賦活化は重要とされる。ICD の negative regulator である CD47 は種々の癌において発現が上昇しており、大腸癌においても標的となる可能性が示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では大腸癌において、癌幹細胞が癌微小環境の免疫システムを制御している機構・因子を解明し、同因子を標的とすることで癌免疫を賦活化する新規治療法を生み出すことを目的とした。具体的には、1)大腸癌幹細胞に発現し、免疫抗原性を調節する因子の同定と、2)同因子を標的とすることにより癌免疫原性を調節し、新規大腸癌免疫療法開発への基礎的知見を得ることを試みた。

3. 研究の方法

本研究では以下の2つの実験計画を実施した。

(1) 大腸癌幹細胞に発現し、免疫抗原性を調節する因子の同定

申請者らは以前、大腸癌幹細胞の特異的マーカーとして、Dclk1、IL17RB を同定している。これらと共に、既報の大腸癌幹細胞マーカーである Lgr5 を用いて、癌幹細胞に高発現する免疫抗原性調節因子を同定する。

(2) 癌幹細胞免疫抗原性調節因子の制御による癌治療の検討

(1)で同定された因子に対し、マウスモデルを用いて因子の阻害が腫瘍の抑制効果をもつかを検討し、腫瘍免疫原性の調節による大腸癌免疫療法への応用に繋げる。

これらの研究により、癌幹細胞を標的とした免疫療法への発展を目指す。

4 . 研究成果

本研究では以下の研究成果を得た。

(1) 大腸癌幹細胞に発現し、免疫原性を調節する因子の同定

申請者らは以前、大腸癌幹細胞の特異的マーカーとして、*Dclk1*、*IL17RB* を同定している。これらと共に、既報の大腸癌幹細胞マーカーである *Lgr5* を用いて、癌幹細胞に高発現する免疫原性調節因子の同定を行った。

MSS 大腸がんのモデルである *Apc^{Min/+}* マウスと、申請者らが既に保有する *Dclk1-creERT2-IRES-EGFP* マウスと交配し、*Apc^{Min/+};Dclk1-creERT2-IRES-EGFP* マウスを作出し、同マウスの腸腫瘍細胞を抽出、網羅的遺伝子発現解析を行った。これにより、*Dclk1-EGFP* 陽性細胞の分画で ICD を負に制御する因子である *CD47* が高発現していることを見出した。*CD47* は、同様に作出した *Apc^{Min/+};Lgr5-EGFP-IRES-creERT2* マウス腸腫瘍に対する網羅的遺伝子発現解析においても、*Lgr5-EGFP* 陽性細胞で同様に発現上昇が認められた。これらのデータから *CD47* が癌幹細胞分画で有意に上昇していることが示された。

さらに、*Lgr5* 陽性幹細胞特異的に 4 つの遺伝子変異(*Apc*, *Kras*, *Tp53*, *Tgfb2*)を導入して作成した高悪性度大腸癌モデルにおいて、特に癌幹細胞をエンリッチした癌オルガノイドにおいて *CD47* はやはり高発現しており、同分子が癌幹細胞の免疫原性を低下させることで、癌の進展に寄与している可能性が示唆された。

(2) 癌幹細胞免疫原性調節因子の制御による癌治療の検討

CD47 の癌幹細胞での役割を検討するため、*CD47^{ff/ff}* マウスを入手し(神戸大学 崎教授より提供)、*Lgr5-EGFP-IRES-creERT2;Ctnnb1^{lox(ex3)/+}* マウスと交配し、*Lgr5-EGFP-IRES-creERT2;Ctnnb1^{lox(ex3)/+};CD47^{ff/ff}* マウスを作出した。同モデルでは、タモキシフェン投与により、*Lgr5-EGFP* 陽性癌幹細胞特異的に *Wnt/b* カテニンシグナルを活性化させて腫瘍新生をきたすと同時に同細胞で *CD47* を KO することが可能である。*Lgr5-EGFP-IRES-creERT2;Ctnnb1^{lox(ex3)/+}* マウスと *Lgr5-EGFP-IRES-creERT2;Ctnnb1^{lox(ex3)/+};CD47^{ff/ff}* マウスを比較することで、*CD47* KO により腫瘍数の減少が確認された。

これらの(1)(2)の研究を通じて、癌幹細胞特異的に *CD47* を標的とすることで、大腸癌に対する有効な癌幹細胞標的治療の確立につながる知見が得られた。本研究をさらに発展させ、癌幹細胞の *CD47* 高発現メカニズムを解明することで、有効な癌免疫療法の開発につながることを期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Maruno Takahisa, Fukuda Akihisa, Goto Norihiro, Tsuda Motoyuki, Ikuta Kozo, Hiramatsu Yukiko, Ogawa Satoshi, Nakanishi Yuki, Yamaga Yuichi, Yoshioka Takuto, Takaori Kyoichi, Uemoto Shinji, Saur Dieter, Chiba Tsutomu, Seno Hiroshi	4. 巻 10
2. 論文標題 Visualization of stem cell activity in pancreatic cancer expansion by direct lineage tracing with live imaging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 eLife	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7554/eLife.55117	査読の有無 無
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 Kasashima Hiroaki, Duran Angeles, Martinez-Ordoñez Anxo, Nakanishi Yuki, Kinoshita Hiroto, Linares Juan F., Reina-Campos Miguel, Kudo Yotaro, L'Hermitte Antoine, Yashiro Masakazu, Ohira Masaichi, Bao Fei, Tauriello Daniele V.F., Batlle Eduard, Diaz-Meco Maria T., Moscat Jorge	4. 巻 56
2. 論文標題 Stromal SOX2 Upregulation Promotes Tumorigenesis through the Generation of a SFRP1/2-Expressing Cancer-Associated Fibroblast Population	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Cell	6. 最初と最後の頁 95 ~ 110.e10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.devcel.2020.10.014	査読の有無 無
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 Utsumi Takahiro, Miyamoto Shin'ichi, Shimizu Takahiro, Yokogawa Kasumi, Nakanishi Yuki, Nikaido Mitsuhiro, Hirata Ayako, Nishida Miyu, Aoyama Ikuo, Okuno Tomoko, Yoshizawa Akihiko, Kaneda Akihiro, Sakai Yoshiharu, Kawanami Chiharu, Seno Hiroshi	4. 巻 33
2. 論文標題 Spontaneous regression of mismatch repair deficient colorectal cancers: Case series	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Digestive Endoscopy	6. 最初と最後の頁 190 ~ 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/den.13723	査読の有無 無
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 Kudo Yotaro, Sugimoto Masayuki, Arias Esperanza, Kasashima Hiroaki, Cordes Thekla, Linares Juan F., Duran Angeles, Nakanishi Yuki, Nakanishi Naoko, L'Hermitte Antoine, Campos Alex, Senni Nadia, Roosliid Tarmo, Roberts Lewis R., Cuervo Ana Maria, Metallo Christian M., Karin Michael, Diaz-Meco Maria T., Moscat Jorge	4. 巻 38
2. 論文標題 PKC / Loss Induces Autophagy, Oxidative Phosphorylation, and NRF2 to Promote Liver Cancer Progression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Cell	6. 最初と最後の頁 247 ~ 262.e11
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ccell.2020.05.018	査読の有無 無
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 Zhu Yuanbo, Cui Guangwei, Miyauchi Eiji, Nakanishi Yuki, Mukohira Hisa, Shimba Akihiro, Abe Shinya, Tani-ichi Shizue, Hara Takahiro, Nakase Hiroshi, Chiba Tsutomu, Sehara-Fujisawa Atsuko, Seno Hiroshi, Ohno Hiroshi, Ikuta Koichi	4. 巻 32
2. 論文標題 Intestinal epithelial cell-derived IL-15 determines local maintenance and maturation of intra-epithelial lymphocytes in the intestine	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 307 ~ 319
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxz082	査読の有無 無
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 Ogawa S, Fukuda A, Matsumoto Y, Hanyu Y, Sono M, Fukunaga Y, Masuda T, Araki O, Nagao M, Yoshikawa T, Goto N, Hiramatsu Y, Tsuda M, Maruno T, Nakanishi Y, Hussein MS., Tsuruyama T, Takaori K, Uemoto S, Seno H	4. 巻 159
2. 論文標題 SETDB1 Inhibits p53-Mediated Apoptosis and Is Required for Formation of Pancreatic Ductal Adenocarcinomas in Mice	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 682 ~ 696.e13
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1053/j.gastro.2020.04.047	査読の有無 無
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 Nakanishi Yuki, Diaz-Meco Maria T., Moscat Jorge	4. 巻 5
2. 論文標題 Serrated Colorectal Cancer: The Road Less Travelled?	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Trends in Cancer	6. 最初と最後の頁 742 ~ 754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.trecan.2019.09.004	査読の有無 無
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 Matsumoto Yoshihide, Nakanishi Yuki, Yoshioka Takuto, Yamaga Yuichi, Masuda Tomonori, Fukunaga Yuichi, Sono Makoto, Yoshikawa Takaaki, Nagao Munemasa, Araki Osamu, Ogawa Satoshi, Goto Norihiro, Hiramatsu Yukiko, Breyer Richard M., Fukuda Akihisa, Seno Hiroshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Epithelial EP4 plays an essential role in maintaining homeostasis in colon	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-51639-2	査読の有無 無
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 Utsumi Takahiro, Nakanishi Yuki, Minamiguchi Sachiko, Miyamoto Shin'ichi	4. 巻 59
2. 論文標題 Solitary Colorectal Metastasis from a Mucin-rich Ovarian Tumor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Internal Medicine	6. 最初と最後の頁 135 ~ 136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.3541-19	査読の有無 無
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 Yoshioka Takuto, Fukuda Akihisa, Araki Osamu, Ogawa Satoshi, Hanyu Yuta, Matsumoto Yoshihide, Yamaga Yuichi, Nakanishi Yuki, Kawada Kenji, Sakai Yoshiharu, Chiba Tsutomu, Seno Hiroshi	4. 巻 248
2. 論文標題 Bmi1 marks gastric stem cells located in the isthmus in mice	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology	6. 最初と最後の頁 179 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/path.5244	査読の有無 無
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8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 小川智, 福田晃久, 荒木理, 長尾宗政, 吉川貴章, 平松由紀子, 津田喬之, 丸野貴久, 中西祐貴, 妹尾浩
2. 発表標題 Setdb1を欠損するとp53依存性アポトーシスが誘導されて膵臓癌形成が阻害される
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年 ~ 2021年

1. 発表者名 長尾宗政, 福田晃久, 尾松万悠紀, 並川実桜, 園誠, 福永裕一, 益田朋典, 荒木理, 吉川貴章, 小川智, 平松由紀子, 津田喬之, 丸野貴久, 中西祐貴, 妹尾浩
2. 発表標題 KrasおよびWntシグナルは幽門腺型胆嚢腺腫の形成に重要である
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 吉川貴章, 福田晃久, 荒木理, 長尾宗政, 小川智, 平松由紀子, 津田喬之, 丸野貴久, 中西祐貴, 妹尾浩
2. 発表標題 腸腫瘍幹細胞特異的なBrg1のノックアウトによりアポトーシスが誘導され, 腸腫瘍が退縮する
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 荒木理, 福田晃久, 津田喬之, 尾松万悠紀, 並川実桜, 園誠, 益田朋典, 福永裕一, 吉川貴章, 長尾宗政, 平松由紀子, 丸野貴久, 中西祐貴, 妹尾浩
2. 発表標題 クロマチンリモデリング因子Brg1は膵がんの増殖・転移に重要である
3. 学会等名 膵臓
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 荒木理, 福田晃久, 津田喬之, 園誠, 長尾宗政, 吉川貴章, 小川智, 平松由紀子, 丸野貴久, 中西祐貴, 妹尾浩
2. 発表標題 SWI/SNF複合体のサブユニットであるBrg1はマウス膵癌の増殖・転移に重要である
3. 学会等名 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Yuki Nakanishi, Angeles Duran, Antoine L' Hemitte, Maria T. Diaz-Meco, Jorge Moscat
2. 発表標題 Simultaneous Loss of Both Atypical Protein Kinase C Drives Serrated Intestinal Cancer with Mesenchymal Activation and Immunosuppression
3. 学会等名 American Gastroenterological Association (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 Yuki Nakanishi, Hiroshi Seno
2. 発表標題 A combination immunotherapy targeting immunosuppression and stromal phenotypes of aggressive serrated intestinal cancer
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会 (国際学会)
4. 発表年 2019年～2020年

1. 発表者名 中西祐貴
2. 発表標題 Atypical PKC による大腸癌発生抑制機構の分子的解明と治療への応用
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年～2020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
---------	---------