

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K08362

研究課題名(和文) 表面抗原CEACAM1によるヒトマストサイトーシスの診断および治療法の開発

研究課題名(英文) Analysis on the role of CEACAM1 in human mastocytosis

研究代表者

片岡 竜貴 (Kataoka, Tatsuki)

京都大学・医学研究科・講師

研究者番号：20343254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：マストサイトーシス(色素性蕁麻疹)はKIT遺伝子に機能獲得性変異が生じマスト細胞が腫瘍性増殖することで引き起こされる。この患者はアナフィラキシーショックを起こしやすく治療が必要である。しかしながら現時点では対症療法しか存在せず根治療法は存在しない。我々はヒトマストサイトーシスがCarcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1(CEACAM1)を発現すること、CEACAM1がマストサイトーシス増殖を抑制することを見出した。CEACAM1がマストサイトーシスの診断マーカーかつ治療標的となり得ると期待される結果であった。

研究成果の概要(英文)：Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1 (CEACAM1) is expressed in a number of tumor cell types. The immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM)-containing isoforms of this molecule which possess a long cytoplasmic tail (CEACAM1-L) generally play inhibitory roles in cell function by interacting with Src homology 2 domain-containing tyrosine phosphatase (SHP)-1 and/or SHP-2. We found that CEACAM1 was uniquely expressed at high levels in human mastocytosis. This expression was mainly derived from CEACAM1-L isoforms based upon assessment of CEACAM1 mRNA expression. CEACAM1 knockdown upregulated cell growth of HMC1.2 cells harboring KIT mutations detected in clinical mastocytosis. Immunoblotting, ELISA and immunoprecipitation analysis showed that activated SHP-1 is preferentially associated with CEACAM1 in HMC1.2 cells harboring KIT mutations.

研究分野：人体病理学

キーワード：マスト細胞 CEACAM1 KIT SHP-1

## 1. 研究開始当初の背景

マストサイトーシス(色素性蕁麻疹)はKIT 遺伝子に機能獲得性変異が生じマスト細胞が腫瘍性増殖することで引き起こされる。この疾患のヒトでの発生頻度は低いが、アナフィラキシーショックを起こしやすく治療が必要である。しかしながら現時点では対症療法しか存在せず根治療法は存在しない。

## 2. 研究の目的

申請者は、ヒトマストサイトーシス患者より樹立された細胞株 HMC1 および LAD2 が、新規表面抗原として Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 1(CEACAM1)を発現することを見出した(未発表データ)。本研究では、CEACAM1 のヒトマストサイトーシス臨床検体における発現を検討すると共に、HMC1 および LAD2 におけるその役割・機能を解析する。そして、CEACAM1 がマストサイトーシスの診断マーカーかつ治療標的となりうるかを明らかにする。

## 3. 研究の方法

(1) ヒトマストサイトーシス臨床検体(患者骨髄細胞・病理検体)における CEACAM1 発現をフローサイトメトリー法・免疫染色法で評価する。

(2) ヒトマストサイトーシス細胞株 HMC1・LAD2 を用いて、CEACAM1 ノックダウン細胞株を作成する。RNAi 法を用いる。

(3) CEACAM1 ノックダウン細胞株と正常細胞を比較し、増殖能や生存能・血管作動性物質の放出能を比較する。前者は MTT 法を、後者はヘキソミニダーゼ解析を用いる。

(4) CEACAM1 ノックダウン細胞株と正常細胞を比較し、(2) で検出された表現型の違いを説明しうるシグナル分子の状態の違いを見出す。基本的にはシグナル分子のリン酸化状態をウェスタンブロッティング法ないしは ELISA 法で評価する。

## 4. 研究成果

本研究において、我々のグループはヒトマストサイトーシス臨床サンプル・細胞株に表面抗原 CEACAM1-L が発現すること、CEACAM1-L が脱リン酸化酵素 SHP-1 を活性化しこの細胞の変異型 KIT 依存性の増殖を抑制することを見出した。これは CEACAM1-L がヒトマストサイトーシスの治療標的となり得ることを示す結果であり、現在開発中の CEACAM1-L に対する抗体療法(ハーバード大・Blumberg RS 教授ら)の応用が期待された。

同時に、我々はヒト甲状腺髄様癌臨床サンプル・細胞株にも表面抗原 CEACAM1-L が発現すること、CEACAM1-L がリン酸化酵素 Src family kinases (SFKs) を活性化しこの細胞の変異型 RET 依存性の増殖を抑制することも見出した。CEACAM1-L は、表面抗原 CEACAM1

のアイソフォームの1つであり、構造からは抑制性シグナルを伝達し細胞増殖を負に制御することが予想されたが、ある種の腫瘍では CEACAM-L の発現が増殖能促進と正に相関するなど予想と反する観察も多く為されてきた。我々の今回の実績は、こうした乖離を分子生物学的に説明しうるものであり、現在開発中の抗 CEACAM1 療法の臨床応用の副作用を予想する上で重要な知見と考える。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計25件)

(1) Cho M, Kaku Y, Goto K, Endo Y, Kataoka T, Otsuka A, Kabashima K. Angiolymphoid hyperplasia with eosinophilia: A case of spontaneous partial regression post-biopsy. *J Dermatol.* 2018 Mar 31. doi: 10.1111/1346-8138.14306. [Epub ahead of print]

(2) Nishida K, Gion Y, Takeuchi M, Tanaka T, Kataoka TR, Yoshino T, Sato Y. Mast Cells Exhibiting Strong Cytoplasmic Staining for IgE and High Affinity IgE Receptor are Increased in IgG4-Related Disease. *Sci Rep.* 2018 Mar 15;8(1):4656. doi: 10.1038/s41598-018-23043-9.

(3) Morita K, Tokushige C, Maeda S, Kiyose H, Noura M, Iwai A, Yamada M, Kashiwazaki G, Taniguchi J, Bando T, Hirata M, Kataoka TR, Nakahata T, Adachi S, Sugiyama H, Kamikubo Y. RUNX transcription factors potentially control E-selectin expression in the bone marrow vascular niche in mice. *Blood Adv.* 2018 Mar 13;2(5):509-515. doi: 10.1182/bloodadvances.2017009324.

(4) Sugimoto A, Kataoka TR, Ueshima C, Takei Y, Kitamura K, Hirata M, Nomura T, Haga H. SLAM family member 8 is involved in oncogenic KIT-mediated signaling in human mastocytosis. *Exp Dermatol.* 2018 Mar 2. doi: 10.1111/exd.13523. [Epub ahead of print]

(5) Matsuo K, Inoue M, Shirai Y, Kataoka T, Kagota S, Taniguchi K, Lee SW, Uchiyama K. Giant GIST of the stomach: a successful case of safe resection with preoperative simulation using three-dimensional CT angiography: Case report. *Medicine (Baltimore).* 2018 Feb;97(7):e9945. doi: 10.1097/MD.00000000000009945.

(6) Komori T, Otsuka A, Kaku Y, Irie H, Honda T, Hirata M, Kataoka TR, Kabashima K. Total cell necrosis of metastatic malignant melanoma at the regional lymph node in a patient treatment with nivolumab. *J Dermatol.* 2018

- Jan;45(1):e11-e12. doi: 10.1111/1346-8138.14040.
- (7) Morita K, Suzuki K, Maeda S, Matsuo A, Mitsuda Y, Tokushige C, Kashiwazaki G, Taniguchi J, Maeda R, Noura M, Hirata M, Kataoka T, Yano A, Yamada Y, Kiyose H, Tokumasu M, Matsuo H, Tanaka S, Okuno Y, Muto M, Naka K, Ito K, Kitamura T, Kaneda Y, Liu PP, Bando T, Adachi S, Sugiyama H, Kamikubo Y. Genetic regulation of the RUNX transcription factor family has antitumor effects. *J Clin Invest*. 2017 Jun 30;127(7):2815-2828. doi: 10.1172/JCI91788. Epub 2017 May 22.
- (8) Takei Y, Ueshima C, Kataoka TR, Hirata M, Sugimoto A, Rokutan-Kurata M, Moriyoshi K, Ono K, Murakami I, Iwamoto S, Haga H. Killer cell immunoglobulin-like receptor 2DL4 is expressed in and suppresses the cell growth of Langerhans cell histiocytosis. *Oncotarget*. 2017 Jun 6;8(23):36964-36972. doi: 10.18632/oncotarget.16936.
- (9) Kawaguchi K, Suzuki E, Nishie M, Kii I, Kataoka TR, Hirata M, Inoue M, Pu F, Iwaisako K, Tsuda M, Yamaguchi A, Haga H, Hagiwara M, Toi M. Downregulation of neuropilin-1 on macrophages modulates antibody-mediated tumoricidal activity. *Cancer Immunol Immunother*. 2017 Sep;66(9):1131-1142. doi: 10.1007/s00262-017-2002-2.
- (10) Komori T, Kogame T, Nomura T, Kaku Y, Endo Y, Ueshima C, Hirata M, Kataoka TR, Kawabata H, Kabashima K. Maculopapular rash during a nadir period in a patient with acute myeloid leukaemia. *Eur J Dermatol*. 2017 Jun 1;27(3):316-317. doi: 10.1684/ejd.2017.2991.
- (11) Kanameishi S, Kaku Y, Goto K, Ishida Y, Endo Y, Dainichi T, Sakurai T, Kataoka T, Miyagawa-Hayashino A, Kabashima K. Angiomatoid fibrous histiocytoma of the scalp mimicking cutaneous angiosarcoma in incisional biopsy containing CD31-positive histiocytes: A potential histopathological pitfall. *J Dermatol*. 2018 Feb;45(2):235-237. doi: 10.1111/1346-8138.13843. Epub 2017 Mar 31. No abstract available.
- (12) Ueshima C, Kataoka TR, Takei Y, Hirata M, Sugimoto A, Hirokawa M, Okayama Y, Blumberg RS, Haga H. CEACAM1 long isoform has opposite effects on the growth of human mastocytosis and medullary thyroid carcinoma cells. *Cancer Med*. 2017 Apr;6(4):845-856. doi: 10.1002/cam4.1050.
- (13) Honda Y, Otsuka A, Ono S, Yamamoto Y, Seidel JA, Morita S, Hirata M, Kataoka TR, Takenouchi T, Fujii K, Kanekura T, Okubo Y, Takahashi K, Yanagi T, Hoshina D, Hata H, Abe R, Fujimura T, Funakoshi T, Yoshino K, Masuzawa M, Amoh Y, Tanaka R, Fujisawa Y, Honda T, Kabashima K. Infiltration of PD-1-positive cells in combination with tumor site PD-L1 expression is a positive prognostic factor in cutaneous angiosarcoma. *Oncoimmunology*. 2016 Nov 4;6(1):e1253657. doi: 10.1080/2162402X.2016.1253657.
- (14) Iwamoto R, Kataoka TR, Furuhashi A, Ono K, Hirota S, Kawada K, Sakai Y, Haga H. Perivascular epithelioid cell tumor of the descending colon mimicking a gastrointestinal stromal tumor: a case report. *World J Surg Oncol*. 2016 Nov 14;14(1):285.
- (15) Miyake KK, Nakamoto Y, Kataoka TR, Ueshima C, Higashi T, Terashima T, Nakatani K, Saga T, Minami S, Togashi K. Clinical, Morphologic, and Pathologic Features Associated With Increased FDG Uptake in Schwannoma. *AJR Am J Roentgenol*. 2016 Dec;207(6):1288-1296. Epub 2016 Sep 22.
- (16) Yamaguchi M, Kataoka TR, Shibayama T, Fukuda A, Nakazawa A, Minamiguchi S, Sakurai T, Miyagawa-Hayashino A, Yorifuji T, Kasahara M, Uemoto S, Haga H. Loss of Hep Par 1 immunoreactivity in the livers of patients with carbamoyl phosphate synthetase 1 deficiency. *Pathol Int*. 2016 Jun;66(6):333-6. doi: 10.1111/pin.12414. Epub 2016 May 5.
- (17) Kitayama N, Otsuka A, Kaku Y, Endo Y, Fujisawa A, Fujii T, Kataoka T, Hirata M, Murota H, Kabashima K. Successful treatment with anti-TNF-alpha antibody for localised lipodystrophy. *Eur J Dermatol*. 2016 Jun 1;26(3):316-7. doi: 10.1684/ejd.2016.2759.
- (18) Nagata Y, Kontani K, Enami T, Kataoka K, Ishii R, Totoki Y, Kataoka TR, Hirata M, Aoki K, Nakano K, Kitanaka A, Sakata-Yanagimoto M, Egami S, Shiraishi Y, Chiba K, Tanaka H, Shiozawa Y, Yoshizato T, Suzuki H, Kon A, Yoshida K, Sato Y, Sato-Otsubo A, Sanada M, Munakata W, Nakamura H, Hama N, Miyano S, Nureki O, Shibata T, Haga H, Shimoda K, Katada T, Chiba S, Watanabe T, Ogawa S. Variegated RHOA mutations in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*. 2016 Feb 4;127(5):596-604. doi: 10.1182/blood-2015-06-644948.
- (19) Honda T, Kataoka TR, Ueshima C, Miyachi Y, Kabashima K. A Case of Noonan Syndrome with Multiple

Subcutaneous Tumours with MAPK-ERK/p38 Activation. Acta Derm Venereol. 2016 Jan;96(1):130-1. doi: 10.2340/00015555-2189.

(20) Shibayama T, Okamoto T, Nakashima Y, Kato T, Sakurai T, Minamiguchi S, Kataoka TR, Shibuya S, Yoshizawa A, Toguchida J, Haga H. Screening of BCOR-CCNB3 sarcoma using immunohistochemistry for CCNB3: A clinicopathological report of three pediatric cases. Pathol Int. 2015 Aug;65(8):410-4. doi: 10.1111/pin.12319.

(21) Ueshima C, Kataoka TR, Hirata M, Koyanagi I, Honda T, Tsuruyama T, Okayama Y, Seiyama A, Haga H. NKp46 regulates the production of serine proteases and IL-22 in human mast cells in urticaria pigmentosa. Exp Dermatol. 2015 Sep;24(9):675-9. doi: 10.1111/exd.12741.

(22) Ueshima C, Kataoka TR, Hirata M, Furuhashi A, Suzuki E, Toi M, Tsuruyama T, Okayama Y, Haga H. The Killer Cell Ig-like Receptor 2DL4 Expression in Human Mast Cells and Its Potential Role in Breast Cancer Invasion. Cancer Immunol Res. 2015 Aug;3(8):871-80. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0199.

(23) Suzuki E, Kataoka TR, Hirata M, Kawaguchi K, Nishie M, Haga H, Toi M. Trogocytosis-mediated expression of HER2 on immune cells may be associated with a pathological complete response to trastuzumab-based primary systemic therapy in HER2-overexpressing breast cancer patients. BMC Cancer. 2015 Feb 6;15:39. doi: 10.1186/s12885-015-1041-3.

(24) Honda T, Hishizawa M, Kataoka TR, Ohmori K, Takaori-Kondo A, Miyachi Y, Kabashima K. Stevens-Johnson Syndrome Associated with Mogamulizumab-induced Deficiency of Regulatory T cells in an Adult T-cell Leukaemia Patient. Acta Derm Venereol. 2015 May;95(5):606-7. doi: 10.2340/00015555-2027.

(25) Kataoka TR, Kumanogoh A, Fukuishi N, Ueshima C, Hirata M, Moriyoshi K, Tsuruyama T, Haga H. CD72 negatively regulates mouse mast cell functions and down-regulates the expression of KIT and FcεRIα. Int Immunol. 2015 Feb;27(2):95-103. doi: 10.1093/intimm/dxu087.

〔学会発表〕(計 5件)

(1) 平田 勝啓(京都大学医学部附属病院 病理診断科), 片岡 竜貴, 羽賀 博典 水性二相分離を利用した Simultaneous multispot immunocytochemistry の開発 日本臨床細胞学会雑誌 (0387-1193)56 巻 Suppl.2

Page895(2017.10)

(2) 杉本 暁彦(京都大学 医・病理診断科), 片岡 竜貴, 竹井 雄介, 上島 千幸, 平田 勝啓, 羽賀 博典 未分化大細胞リンパ腫における SLAMF8 の発現は予後不良因子である可能性がある 日本病理学会会誌 (0300-9181)106 巻 1号 Page515(2017.03)

(3) 平田 勝啓(京都大学医学部附属病院 病理診断科), 片岡 竜貴, 羽賀 博典 抗体解離法と脱色を利用した Sequential recycle immunocytochemistry の検討 日本臨床細胞学会雑誌 (0387-1193)54 巻 Suppl.2 Page531(2015.10)

(4) 上島 千幸(京都大学医学部附属病院 病理診断科), 片岡 竜貴, 羽賀 博典 ヒトマスト細胞に発現する KIR2DL4 の乳がんの転移における役割(会議録) アレルギー (0021-4884)64 巻 3-4 Page636(2015.04)

(5) 上島 千幸(京都大学医学部附属病院 病理診断科), 片岡 竜貴, 羽賀 博典 ヒト腫瘍性マスト細胞において NKp46 はセリンプロテアーゼおよび IL-22 の産生を制御する(会議録) アレルギー (0021-4884)64 巻 3-4 Page635(2015.04)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

片岡 竜貴 (かたおか たつき)

京都大学医学部附属病院・病理診断科・講師

研究者番号: 20343254

(2)研究分担者 ( )

研究者番号：

(3)連携研究者 ( )

研究者番号：

(4)研究協力者 ( )