

令和 3 年 5 月 30 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(A)（一般）

研究期間：2016～2020

課題番号：16H02481

研究課題名（和文）がんと間質との相互依存性シグナルの包括的理解

研究課題名（英文）Comprehensive understanding of interstitial signals between cancer and interstitium

研究代表者

石川 俊平（Ishikawa, Shumpei）

東京大学・大学院医学系研究科（医学部）・教授

研究者番号：50418638

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 34,700,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞は生体内では周囲間質細胞からのシグナルを受け、また逆にごん細胞自身が生存に適した間質細胞を誘導している。本研究では申請者がこれまで開発したマウス・ヒト由来の配列の分離する技術をもとに、PDXを含む様々ながん種のXenograftについて、がん間質相互作用の全体像とその多様性をゲノムレベルでの解明を行った。またシングルセルトランスクリプトームから間質細胞種別の相互作用解析技の開発も行い、がん組織中の詳細ながん細胞や間質細胞間のホメオスタシスの解析を行った。その結果いくつかのがん種において新規のがん間質相互作用を担う重要な分子を見だし実験的に検証することが出来た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん細胞はそれ単独での生存は難しく、生体内では常に周囲の間質細胞からの支持シグナルを受け、また逆にごん細胞自身がシグナルを出して生存に適した間質細胞を誘導しています。本研究ではそのようながん細胞と間質細胞との相互作用の全体像を、由来細胞種別に遺伝子発現解析を行う技術を用いて解析し、がん細胞と間質細胞とを含むがん組織の恒常性のメカニズムを明らかにするとともに、治療標的となる重要な相互作用分子を解明しました。

研究成果の概要（英文）：Cancer cells receive signals from surrounding stromal cells in vivo, and conversely, the cancer cells themselves induce stromal cells suitable for survival. In this study, based on the mouse / human-derived sequence separation method developed by the applicant so far, the global view and diversity of cancer-stromal interactions in Xenograft of various cancer types, including PDX, was analyzed at the genomic level. We also developed interactome analysis methods among different cell types from the single cell transcriptome data, and analyzed cancer tissues homeostatic microenvironment. As a result, we were able to find and experimentally verify new important molecules responsible for cancer-stromal interactions in several cancer types.

研究分野：がんゲノミクス

キーワード：ゲノム創薬

1. 研究開始当初の背景

近年のがんゲノムシーケンスの成果により、発がんメカニズムに対する知見は大幅に進んだと考えられる。しかしながら、一部のがんを除く多くのがん種では多種類の低頻度の変異が個々のがん症例で散発的に起こる全体像が明らかになってきており、多くの症例に共通する創薬可能なターゲットが予想よりも少ないことが明らかになってきた。一方でゲノム配列変異として現れない現象や標的に関しては解明が難しく、がん組織の維持に必須と考えられるがん細胞と間質細胞との相互作用に関しても包括的理解が進んでいない。

がん細胞の維持・間質浸潤・血管新生などは、がん細胞と周囲の線維芽細胞・血管内皮・炎症細胞などの間質細胞との細胞間相互作用によって成立し多くのがん種で共通して見られる現象である。がん-間質の細胞間相互作用に関わる重要な分子として VEGF-VEGFR, TGF β -TGFBR, Collagen-Integrin など多数の報告がある。しかしながら通常のゲノムの発現解析、体細胞変異解析と異なり、がん-間質の細胞間相互作用は包括的プロファイルや、個別の相互作用間での定量的比較が難しく、特定のがん種・特定の症例で最も寄与の高い相互作用を選び出すアプローチが困難であった。この包括的定量解析の難しさが、細胞間相互作用に関わる創薬可能なターゲットを選び出す大きなハードルのひとつとなっていたと考えられる。

2. 研究の目的

我々はマウスに移植したヒトがんゼノグラフト系において、次世代シーケンサーを用いて全トランスクリプトームシーケンスを行いがん細胞-間質細胞を包括的かつ定量的に解析する方法を開発してきた。すなわちシーケンシングデータからマウス由来 RNA とヒト由来 RNA との配列を高精度に分離して発現プロファイリングを行い、複数のタンパク質相互作用のデータベースデータと統合することにより、ヒト由来がん細胞-マウス由来間質細胞間の相互作用全体 (インターラクトーム) を包括的に解析する技術である。この技術により多数のタンパク質相互作用についてその活性と相互依存性が定量的に解析され、重要な相互作用を選び出すことが可能となる。

本研究の目的はこのゲノミクス技術を基盤としたがん細胞と間質細胞との相互作用全体 (インターラクトーム) の包括的理解と、介入可能な新規的ターゲットディスカバリーである。

3. 研究の方法

まずがん細胞と間質細胞との相互作用全体像の把握と、間質依存性を生み出す重要シグナルの同定を Xenograft を用いて行った。申請者らの開発した細胞間相互作用は研究開始時において、異なる複数のデータベースで再現された信頼性の高い相互作用が用いられているが、当該データベースを最新のものにアップデートを試みた。また患者がん組織からマウス内に直接移植された PDX (Patient-Derived Xenograft) は通常の培養細胞株と異なりフラスコなどの環境下では生育できず間質環境が重要と考えられる。またその病理組織学的所見も臨床原発腫瘍と類似し、その生物学的性質が良く保たれていると考えられている。

本研究では、胃がん・膵がん・大腸がん・肺がん・腎がん等の PDX のインターラクトームプロファイルを体系的に解析し、がん種間及び同じがん種でも個体間のがん-間質相互作用の取り得る生物学的レンジを把握し、個別の症例に特徴的かつ重要な相互作用の解析を行った。同時に間質なしでも生育する培養細胞株のデータとの比較解析を行い間質依存性に寄与する相互作用の解析を行った。これらの一連の解析によりがん細胞の生存に必須な間質との相互作用及びその相互作用を担う細胞外・細胞表面タンパク候補の同定を試みた。

また近年急速に進化したシングルセルゲノミクスの技術を取り入れ、シングルセルトランスクリプトームのデータからがん細胞や線維芽細胞・血管内皮・炎症細胞などの多種の細胞種ごとに細胞間の相互作用を同定する技術の開発を行った。併せて間質の多い腫瘍組織よりシングルセルを安定して分離して調整する技術を用いてパイロット的にデータの取得を行なった。

上記の解析で同定された重要ながん間質相互作用及びその相互作用を担うタンパク候補については Xenograft 症例を増やして検討するとともに、薬剤などを用いて介入を行い抗腫瘍効果の検討を行った。本研究で用いられる細胞間インターラクトーム解析法の主な対象は細胞表面・細胞外のタンパクであり抗体医薬、大型ペプチドなどのバイオ医薬品がアクセス可能である。

4. 研究成果

がん間質細胞間相互作用の解析に用いるデータベースについてデータを最新のものにアップデートを行った。また胃がん・膵がん・大腸がん・肺がん・腎がん等の PDX のインターラクトームプロファイルを体系的に解析し、がん種間及び同じがん種でも個体間のがん-間質相互作用の持つ多様性を把握することに成功した。また間質なしでも生育する培養細胞株のデータとの比較解析を行い間質依存性に寄与する相互作用の候補を同定することができた。これらの一連の解析によりがん細胞の生存に必須な間質との相互作用及びその相互作用を担う細胞外・細胞表面タンパク候補を同定した。

シングルセルのトランスクリプトームプロファイルにより多くの細胞種間における相互作用を体系的に解析する技術を開発することができた。間質の多い腫瘍組織よりシングルセルを安定して分離して調整する技術の確立を行い実際のデータを取得した。またこれらのデータからクラスタリング等により細胞腫を特定する技術の開発を進め、腫瘍内の多細胞間インターラクショを理解しやすいように適切に次元を圧縮して表示させる技術についても併せて開発した。

これらの解析の結果、腫瘍組織のホメオスタシスに強く寄与していると思われる相互作用など介入ターゲットを複数同定した。特定の腫瘍においてがん細胞側の分泌因子のなかから PDX において発現が誘導され、また間質の発現プロファイルに強く影響している因子を特定し、阻害剤を用いて介入実験を行ったところ抗腫瘍効果を確認することが可能であった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Ohkuma R, Yada E, Ishikawa S, Komura D, Kubota Y, Hamada K, Horiike A, Ishiguro T, Hirasawa Y, Ariizumi H, Shida M, Watanabe M, Onoue R, Ando K, Tsurutani J, Yoshimura K, Sasada T, Aoki T, Murakami M, Norose T, Ohike N, Takimoto M, Kobayashi S, Tsunoda T, Wada S.	4. 巻 58
2. 論文標題 High levels of human epididymis protein 4 mRNA and protein expression are associated with chemoresistance and a poor prognosis in pancreatic cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Oncol.	6. 最初と最後の頁 57-69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2020.5147.	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 Atsumi S, Katoh H, Komura D, Hashimoto I, Furuya G, Koda H, Konishi H, Suzuki R, Yamamoto A, Yuba S, Abe H, Rino Y, Oshima T, Ushiku T, Fukayama M, Seto Y, Ishikawa S.	4. 巻 3
2. 論文標題 Focal adhesion ribonucleoprotein complex proteins are major humoral cancer antigens and targets in autoimmune diseases.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 588
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-020-01305-5.	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 Ohkuma R, Yada E, Ishikawa S, Komura D, Kubota Y, Hamada K, Horiike A, Ishiguro T, Hirasawa Y, Ariizumi H, Shida M, Watanabe M, Onoue R, Ando K, Tsurutani J, Yoshimura K, Sasada T, Aoki T, Murakami M, Norose T, Ohike N, Takimoto M, Kobayashi S, Tsunoda T, Wada S.	4. 巻 80
2. 論文標題 High expression levels of polymeric immunoglobulin receptor are correlated with chemoresistance and poor prognosis in pancreatic cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oncol Rep.	6. 最初と最後の頁 3810-3819
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2020.7610.	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 Shinozaki-Ushiku A, Ishikawa S, Komura D, Seto Y, Aburatani H, Ushiku T.	4. 巻 23
2. 論文標題 The first case of gastric carcinoma with NTRK rearrangement: identification of a novel ATP1B-NTRK1 fusion.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gastric Cancer.	6. 最初と最後の頁 944-947
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-020-01061-9.	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 Suzuki A, Katoh H, Komura D, Kakiuchi M, Tagashira A, Yamamoto S, Tatsuno K, Ueda H, Nagae G, Fukuda S, Umeda T, Totoki Y, Abe H, Ushiku T, Matsuura T, Sakai E, Ohshima T, Nomura S, Seto Y, Shibata T, Rino Y, Nakajima A, Fukayama M, Ishikawa S, Aburatani H.	4. 巻 6
2. 論文標題 Defined lifestyle and germline factors predispose Asian populations to gastric cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Adv.	6. 最初と最後の頁 eaav9778
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.aav9778.	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 Hiroshima Y, Kasajima R, Kimura Y, Komura D, Ishikawa S, Ichikawa Y, Bouvet M, Yamamoto N, Oshima T, Morinaga S, Singh SR, Hoffman RM, Endo I, Miyagi Y.	4. 巻 469
2. 論文標題 Novel targets identified by integrated cancer-stromal interactome analysis of pancreatic adenocarcinoma.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Lett.	6. 最初と最後の頁 217-227
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2019.10.031	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 Nishizawa T, Nakano K, Fujii E, Komura D, Kuroiwa Y, Ishimaru C, Monnai M, Aburatani H, Ishikawa S, Suzuki M.	4. 巻 42
2. 論文標題 In vivo effects of mutant RHOA on tumor formation in an orthotopic inoculation model.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncol Rep.	6. 最初と最後の頁 1745-1754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/or.2019.7300	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 Nakano, Kiyotaka, Takashi Nishizawa, Daisuke Komura, Etsuko Fujii, Makoto Monnai, Atsuhiko Kato, Shin-Ichi Funahashi, Shumpei Ishikawa, and Masami Suzuki	4. 巻 314
2. 論文標題 Difference in Morphology and Interactome Profiles between Orthotopic and Subcutaneous Gastric Cancer Xenograft Models.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Toxicologic Pathology	6. 最初と最後の頁 293-300
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1293/tox.2018-0020	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 Komura D, Ishikawa S	4. 巻 16
2. 論文標題 Machine learning methods for histopathological image analysis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Computational and Structural Biotechnology Journal	6. 最初と最後の頁 34-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.csbj.2018.01.001	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 Shikata Y, Yoshimaru T, Komatsu M, Katoh H, Sato R, Kanagaki S, Okazaki Y, Toyokuni S, Tashiro E, Ishikawa S, Katagiri T, Imoto M.	4. 巻 108
2. 論文標題 A inhibition facilitates the antitumor activity of xanthohumol, a valosin-containing protein inhibitor.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 785-794
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13175	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 Ching-Wei Wang, Yu-Ching Lee, Evelyne Calista, Fan Zhou, Hongtu Zhu, Ryohei Suzuki, Daisuke Komura, Shumpei Ishikawa, Shih-Ping Cheng	4. 巻 34
2. 論文標題 A Benchmark for Comparing Precision Medicine Methods in Thyroid Cancer Diagnosis using Tissue Microarrays.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Bioinformatics	6. 最初と最後の頁 1767-1773
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/bioinformatics/btx838	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 Komura D, Isagawa T, Kishi K, Suzuki R, Sato R, Tanaka M, Katoh H, Yamamoto S, Tatsuno K, Fukayama M, Aburatani H, Ishikawa S.	4. 巻 17
2. 論文標題 CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 899
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-016-3207-z	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 Oikawa Y, Morita KI, Kayamori K, Tanimoto K, Sakamoto K, Katoh H, Ishikawa S, Inazawa J, Harada H.	4. 巻 108
2. 論文標題 Receptor tyrosine kinase amplification is predictive of distant metastasis in patients with oral squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 256
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13126	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 Katoh H, Ishikawa S.	4. 巻 67
2. 論文標題 Genomic pathobiology of gastric carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Pathol Int.	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) 10.1111/pin.12493	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12件(うち招待講演 0件/うち国際学会 5件)

1. 発表者名 橋本至, 加藤洋人, 林周斗, 河村大輔, 大島貴, 利野靖, 益田宗孝, 石川俊平
2. 発表標題 凍結臨床試料を用いたシングルセルRNA-seq法の確立
3. 学会等名 第90回日本衛生学会学術総会(誌上開催)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shumpei Ishikawa
2. 発表標題 Single-cell analysis of diffuse-type gastric carcinoma microenvironment
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhang, Menghua, Sugita, Itsuki, Komura, Daisuke, Ishikawa, Shumpei
2. 発表標題 The genomic profile of metastatic diffuse-type gastric cancer in Cdh1loxP/loxP; Trp53loxP/loxP double conditional knockout mice
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Daisuke Komura, Ryohei Suzuki, Shumpei Ishikawa
2. 発表標題 Visualizing ligand-receptor-mediated interactome in single cell transcriptome data
3. 学会等名 Cold Spring Harbor Laboratory Meeting, Systems Immunology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shumpei Ishikawa, Daisuke Komura, Ryohei Suzuki, Hiroto Katoh
2. 発表標題 Interactome analysis of gastric cancer microenvironment by single-cell transcriptome sequencing
3. 学会等名 Cell Symposia. Single Cells: Technology to Biology (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 河村大輔, 鈴木良平, 加藤洋人, 山本尚吾, 油谷浩幸, 石川俊平.
2. 発表標題 治療標的探索のためのがん-間質細胞間相互作用の網羅的解析.
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Daisuke Komura, Takayuki Isagawa, Ryohei Suzuki, Reiko Sato, Mariko Tanaka, Shogo Yamamoto, Masashi Fukayama, Hiroyuki Aburatani, Shumpei Ishikawa.
2. 発表標題 CASTIN: a system for comprehensive analysis of cancer-stromal interactome.
3. 学会等名 The 12th International Workshop on Advanced Genomics (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河村大輔, 砂河孝行, 鈴木良平, 佐藤玲子, 加藤洋人, 田中麻理子, 山本尚吾, 深山正久, 油谷浩幸, 石川俊平.
2. 発表標題 治療標的探索のためのがん - 間質細胞間相互作用解析システム.
3. 学会等名 第106回 日本病理学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 河村大輔, 砂河孝行, 鈴木良平, 貴志一樹, 佐藤玲子, 加藤洋人, 田中麻理子, 山本尚吾, 深山正久, 油谷浩幸, 石川俊平
2. 発表標題 腫瘍-間質間相互作用解析システム.
3. 学会等名 第75 回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Chijiwa, M. Haraguchi, T. Isagawa, A. Noguchi, M. Katayama, N. Miyao, M. Yoshioka, N. Matsui, Y. Tateishi, H. Suemizu, R. Yamada, Y. Nakamura, K. Imai, D. Komura, H. Katoh, S. Ishikawa, M. Nakamura, Y. Miyagi.
2. 発表標題 Establishment of patient-derived xenografts from malignant pleural effusion using NOG mice.
3. 学会等名 ESMO Asia 2016 Congress (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 T. Chijiwa, M. Haraguchi, D. Komura, A. Noguchi, M. Shiozawa, M. Katayama, N. Miyao, N. Matsui, Y. Tateishi, H. Suemizu, Y. Nakamura, T. Isagawa, H. Katoh, S. Ishikawa, M. Nakamura, Y. Miyagi
2. 発表標題 Comprehensive and serial analyses of tumor-stroma interactions in individual PDX/NOG models contribute to personalized chemotherapy.
3. 学会等名 AACR International Conference on New Frontiers in Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 吉本多一郎, 松原大祐, 仁木利郎, 河村大輔, 石川俊平.
2. 発表標題 肺腺癌Xenograft モデルにおける癌間質相互作用の包括的解析.
3. 学会等名 第75 回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://www.tmd.ac.jp/gpat/index.html

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
連携研究者	深山 正久 (Fukayama Masashi) (70281293)	東京大学・大学院医学系研究科・名誉教授 (12601)	

6. 研究組織（つづき）

	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
連携研究者	中村 雅登 (Nakamura Masataka) (00164335)	東海大学・医学部・元教授 (32644)	
連携研究者	河村 大輔 (Komura Daisuke) (10776082)	東京大学・大学院医学系研究科・助教 (12601)	
連携研究者	加藤 洋人 (Katoh Hiroto) (60446549)	東京大学・大学院医学系研究科・准教授 (12601)	

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