

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K07998

研究課題名(和文) 肝がんのがんエコシステム解析に基づく新規治療標的分子探索

研究課題名(英文) Search for novel therapeutic target molecules based on the analysis of cancer ecosystem in liver cancer

研究代表者

山下 竜也 (Yamashita, Tatsuya)

金沢大学・先進予防医学研究センター・准教授

研究者番号：30334783

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)：肝細胞がんにおいて、腫瘍細胞と間質細胞が協調相互作用し、様々な内外ストレスに順応するがんエコシステムを形成し対応していると考えられている。網羅的遺伝子発現データから、がんエコシステム形成に中心的な役割を示す肝がん幹細胞が、ケモカインCCL20を高発現している事を見出した。CCL20高発現は、肝がん患者の予後不良因子であった。肝がん幹細胞から分泌されるCCL20は、CCR6陽性免疫細胞誘導を介したがんエコシステム構築に関連していた。CCL20-CCR6軸を標的としたCCL20中和抗体療法は、がんエコシステムを変容する事で良好な腫瘍増殖抑制効果を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果から、肝細胞がんにおいて、肝がん幹細胞がCCL20-CCR6を介して誘導するがんエコシステム構築の一メカニズムが明らかとなった。また、CCL20-CCR6軸を標的とした新たな治療法の可能性が示唆された。肝細胞がんは世界的に代表的な難治がんの一つであり、進行肝細胞がんに対する薬物療法の治療効果は未だ十分ではない。本研究で示した新たな治療法は、将来の肝細胞がん患者の治療選択肢となる可能性を秘めている。本研究結果は、国内および海外の学術集会以外の報告により広く社会・国民に発信した。

研究成果の概要(英文)：In hepatocellular carcinoma (HCC), tumor cells and stromal cells are thought to interact cooperatively to form a cancer ecosystem that adapts to various internal and external stresses. From comprehensive gene expression data, we found that liver cancer stem cells, which play a central role in the formation of the cancer ecosystem, highly express the chemokine CCL20. We also found that high expression of CCL20 is a poor prognostic factor for HCC patients. CCL20 secreted by liver cancer stem cells was associated with the establishment of the cancer ecosystem through the induction of CCR6-positive immune cells. Finally, CCL20 neutralizing antibody therapy targeting the CCL20-CCR6 axis showed favorable tumor growth inhibition by altering the cancer ecosystem.

研究分野：肝細胞がん

キーワード：肝細胞がん がん幹細胞 がんエコシステム CCL20 CCR6

1. 研究開始当初の背景

肝細胞がんは根治療法後も非常に高い頻度で再発を繰り返し、進行がんに至る他のがん腫とは異なる難治性がんである。本邦において年間約3万人が死亡し、進行がんでは生存期間が1年未満である。肝細胞がんは、様々な遺伝子異常が集積し異常な増殖転移能力を獲得した腫瘍細胞だけではなく、腫瘍血管新生を担う血管内皮細胞、腫瘍内の線維化に関わる星細胞や線維芽細胞、炎症や免疫抑制に関連する Th17 細胞や制御性 T 細胞など非がん部の肝組織にもみられる間質細胞とともに多様な細胞集団(細胞社会)として構成される。これらの間質細胞はがん細胞と複雑に協調して、細胞の種類や分布、遺伝子発現パターンを変えながら増殖・転移し、がんに対する免疫や抗がん剤など様々な外的および内的ストレスに順応するがんエコシステムを形成し対応していると考えられる。我々は、多様な腫瘍細胞と間質細胞の相互作用により形成されるがんエコシステムを研究する事で、肝細胞がんにおける新たな治療法の創出ができると考えた。

2. 研究の目的

肝細胞がんの再発、転移、がん薬物療法抵抗性などの悪性形質には、がん幹細胞が大きく関与している事が明らかとなっている。また最近では、がん幹細胞が自身の生存環境に寄与する、がんエコシステムの構築に関与している事が報告されている。我々は以前、幹細胞様肝がんにおいてケモカイン CCL20 の発現が亢進している事を見出した。本研究では、肝がん幹細胞がケモカイン CCL20 を介して構築するがんエコシステムのメカニズムを解析し、がんエコシステムを標的とした新たな治療法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

1. 肝細胞がん組織マイクロアレイコホート (n=238)、肝細胞がん患者血清コホート (n=79) の2つのコホートを用い、CCL20 発現と患者予後との相関を検討した。
2. 肝細胞がんのがん部、非がん部の網羅的遺伝子発現データを用い、がん部、非がん部の CCL20 発現と CCR6 発現を比較検討した。
3. ヒト肝がん細胞株ならびに当科で樹立した肝がん細胞株を用い、CCL20 とがん幹細胞との関連を種々の分子生物学的手法を用いて解析した。
4. CCL20 中和抗体による抗腫瘍効果ならびにがんエコシステムへの影響を当科で樹立したマウス肝がんシンジェニックモデルにて検討した。

4. 研究成果

本研究で我々は以下の知見を得た。

1. マイクロアレイコホートならびに患者血清コホートいずれも、CCL20 高発現群では低発現群に比して有意に予後不良であった。
2. 肝細胞がん組織における CCL20 高発現がん部では、CCL20 低発現がん部や CCL20 高発現非がん部に比して有意に CCR6 発現が高かった。また、CCL20 ならびに CCR6 の組織免疫化学染色の結果、CCL20 高発現肝がん周囲に CCR6 陽性免疫細胞が浸潤していた。
3. 肝がん細胞株での検討で CCL20 は、CD90 陽性肝がん細胞株に比べ、EpCAM 陽性肝がん細胞株でより高発現していた。Huh7 などの EpCAM 陽性肝がん細胞株で、細胞ソーティングやスフェロイド形成により EpCAM 発現を亢進させた結果、CCL20 発現も同様に亢進した。
4. CCL20 のがん幹細胞に与える影響を検討するために、siRNA や中和抗体で CCL20 を抑制した結果、CCL20 抑制のみでは細胞増殖能などのがん幹細胞性への影響は見られなかった。
5. CCL20 のがんエコシステムへの影響を検討するために、当科で樹立したマウス肝がんシンジェニックモデルに対して CCL20 中和抗体を投与した。CCL20 中和抗体により、マウス肝がん内に浸潤する CCR6 陽性細胞が減少し、さらに CD8-T 細胞の増加、F4/80 陽性マクロファージの減少といったがんエコシステムの変容が見られた。また、CCL20 中和抗体は、コントロール IgG や PD-1 抗体と比して有意な腫瘍増殖抑制効果を認めた。

以上の結果から、EpCAM 陽性肝がん幹細胞はケモカイン CCL20 を分泌する事で、CCR6 陽性免疫細胞を誘導し、自身の生存に有利ながんエコシステムを構築している可能性が示唆された。CCL20-CCR6 軸を標的とした治療は、肝細胞がんにおける新たな治療法となる可能性が考えられ

た。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

| |
|---------------------------------------------|
| 1. 発表者名 丹尾幸樹、山下太郎、山下竜也、金子周一 |
| 2. 発表標題 肝細胞癌の新規バイオマーカーとしてのCCL20の検討 |
| 3. 学会等名 第55回日本肝がん研究会 ワークショップ8「新規バイオマーカー」 |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 Kouki Nio, Taro Yamashita, Mika Owada, Hikari Okada, Tatsuya Yamashita, Shuichi Kaneko |
| 2. 発表標題 CCL20 blockade suppresses tumor growth by inhibiting recruitment of CCR6-positive immune suppressor cells in hepatic stem cell-like hepatocellular carcinoma |
| 3. 学会等名 American Association for the Study of Liver Disease Annual Meeting Abstract no. 1844 (国際学会) |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|------------------------------------------------|
| 1. 発表者名 丹尾 幸樹, 山下 太郎, 金子 周一 |
| 2. 発表標題 幹細胞性肝癌のがん微小環境を標的としたCCL20中和抗体の治療効果検討 |
| 3. 学会等名 第106回日本消化器病学会総会 |
| 4. 発表年 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 |
|-------|-------------------------------------------------|--------------------------------------|----|
| 研究分担者 | 山下 太郎 (Taro Yamashita) (90377432) | 金沢大学・附属病院・准教授 (13301) | |

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 |
|-------|---------------------------|-----------------------|----|
| 研究協力者 | 丹尾 幸樹 (Nio Kouki) | | |

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 |
|---------|---------|
| | |