

令和 4 年 5 月 12 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18049

研究課題名（和文）S1Pの腫瘍関連免疫細胞に与える影響および乳癌制御機構の解明

研究課題名（英文）The role of S1P for Tumor immune microenvironment in human breast cancer

研究代表者

土田 純子（Tsuchida, Junko）

新潟大学・医歯学総合病院・特任助教

研究者番号：90769415

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：スフィンゴシン-1-リン酸（S1P）は癌の進展を制御する生理活性物質であり、癌と周囲の微小環境で重要な役割を担っている。本研究では、癌を取り巻く腫瘍免疫微小環境に対するS1Pの役割について研究を行った。乳癌手術検体中のS1P濃度は正常乳腺組織に比べ腫瘍組織内で高いこと、S1P濃度が高い症例における腫瘍関連免疫細胞の高い集簇性が示唆される結果が得られた。S1Pの腫瘍免疫微小環境に対する役割とその臨床的意義を解明する上で、新たな視点をもたらしたと言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌における腫瘍関連免疫細胞のS1Pに対する臨床的意義は、これまでに解明されてこなかった。私達は乳癌手術検体を用いて、リポミクス解析と免疫組織化学の統合解析を行い、さらに公共データベースを用いてバイオインフォマティクス解析も行なった。腫瘍関連免疫細胞が腫瘍組織に集簇している可能性が示唆される結果が得られた。S1Pの腫瘍免疫微小環境における意義を解明する上で、新たな視点をもたらしたと言える。

研究成果の概要（英文）：Sphingosine-1-phosphate (S1P) is a bioactive substance that controls the progression of cancer and plays an important role in the tumor microenvironment in breast cancer. In this study, we investigated the role of S1P in the tumor immune microenvironment. The results suggest that the S1P levels of human breast cancer is higher in the tumor tissue than in the normal breast tissue, and that the tumor-related immune cells are highly aggregated in patients with high S1P levels. Our study illuminates new aspects of the role of S1P tumor immune microenvironment and its clinical relevance.

研究分野：外科学一般

キーワード：脂質メディエーター スフィンゴシン-1-リン酸 乳癌 腫瘍関連免疫細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年の分子標的薬の開発等、治療の進歩にもかかわらず、乳癌死亡数も増加し続けており、更なる治療開発が必須である。癌の転移は癌細胞自体の能力と、癌を取り巻く腫瘍微小環境との相互作用によって形成される。腫瘍微小環境においては、癌の進展を抑制する免疫細胞と、促進する免疫細胞とが存在する。癌の進展を抑制する免疫細胞として腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) が知られ、癌の進展を促進する免疫細胞として腫瘍関連マクロファージ (TAM) や制御性 T 細胞 (Treg) が知られ、特に後者は癌に対する免疫を抑制し、癌の免疫逃避に関わる。腫瘍微小環境中ではこのような T 細胞やマクロファージ等の腫瘍関連免疫細胞 (TAIC) が重要な役割を担っている。

スフィンゴシン-1-リン酸 (S1P) は、脂質でありながらタンパク質と同様に情報伝達物質として働く脂質メディエーターであり、癌と周囲の微小環境で重要な役割を担う。S1P は細胞内で 2 つの異なる S1P 産生酵素、スフィンゴシンキナーゼ 1 型 (SphK1) と 2 型 (SphK2) とによって産生される。特に SphK1 は細胞膜付近の細胞質内に存在し、産生された S1P は細胞外に放出され、細胞表面の S1P 受容体 (S1PR) を活性化し細胞の増殖や生存に寄与する。申請者は、SphK1 が高発現した乳癌ではリンパ行性転移が多いこと (Tsuchida et al., J Surg Res 2016)

肥満状態において SphK1 によって産生された S1P が炎症細胞の動員と炎症性サイトカインの産生を促進し乳癌を悪化させること (Nagahashi and Tsuchida et al., Cancer Res 2018) を報告した。また S1P はリンパ球やマクロファージ等の免疫細胞の遊走に強く関与していることがこれまでに報告されている。

現在の問題点として、以下の 2 点が挙げられる。(1) S1P は脂質であるが故に測定が困難であったため、S1P の生体内での機能に関する研究は遅れており、TAIC に対する S1P の役割とその臨床的意義は未解明のままである。(2) 生体内においては、癌が産生する S1P に加えて、宿主側が産生する S1P も存在し、癌と宿主の相互作用における S1P の腫瘍免疫に対する生理作用はいまだ不明である。

私達は、乳癌の微小環境において、癌で産生された S1P が TAIC にも作用することで「腫瘍免疫微小環境」の形成に寄与し、癌の浸潤、転移や薬物療法の効果に影響を及ぼしているとの仮説を立て、本研究を企画した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、「乳癌患者の腫瘍微小環境において、S1P が TAIC に作用することで腫瘍免疫微小環境の形成に寄与し、癌の浸潤、転移や薬物療法の効果に影響を及ぼしている」という仮説を検証し、S1P の TAIC に対する役割とその臨床的意義を明らかにすることである。

### 3. 研究の方法

#### 乳癌手術検体による S1P の TAIC への作用と臨床的意義の解明

本課題では、乳癌手術検体および血液を対象とし、質量分析装置を用いて S1P を含むスフィンゴリン脂質のリピドミクス解析を行った。乳癌手術検体を用いて、抗リン酸化 SphK1 (pSphK1) 抗体と TAIC の表面マーカー (CD4、CD8、CD68、CD163、PD-L1 等) による免疫組織化学を行い、SphK1 の活性化と TAIC の関連性を調べた。リピドミクス解析および免疫組織化学で得られたデータと合わせて統合解析を行い、乳癌患者における S1P の臨床的意義について、免疫学的な視点から検討した。

#### バイオインフォマティクスによるスフィンゴリン脂質と TAIC との関連の解析

本課題では、The Cancer Genome Atlas (TCGA) 等の公的のデータベースを用い、乳癌症例において、S1P を含むスフィンゴリン脂質関連遺伝子と TAIC 関連遺伝子の発現に関して、バイオインフォマティクスによって網羅的に解析をし、両者の関連を明らかにした。

### 4. 研究成果

#### 乳癌手術検体による S1P の TAIC への作用と臨床的意義の解明

乳癌手術検体および血液を対象とし、質量分析装置を用いて S1P を含むスフィンゴリン脂質のリピドミクス解析を行った。S1P 濃度は傍腫瘍乳腺組織や正常乳腺組織よりも腫瘍組織内で最も高い結果となり、腫瘍組織が S1P の主な産生源である可能性が示唆された。乳癌手術検体を用いて、抗リン酸化 SphK1 (pSphK1) 抗体と TAIC の表面マーカーによる免疫組織化学を行い、SphK1 の活性化と TAIC の関連性を検証した。リピドミクス解析の結果と免疫組織化学のデータと合わせて統合解析を行った。S1P の濃度が高く、pSphK1 の強発現する症例では、CD4、CD8、CD68 および CD163 の発現も強い傾向が見られ、TAIC の腫瘍への集簇性が高い可能性が示唆された。さらに、S1P 制御機構が TAIC に関わるメカニズムを追究するために、S1P 濃度を測定済みの乳癌手術検体について、RNA シークエンスを施行し、S1P の濃度と、S1P 関連遺伝子発現、TAIC 関連遺伝子発現について現在統合解析を行っている。

### バイオインフォマティクスによるスフィンゴリン脂質と TAIC との関連の解析

The Cancer Genome Atlas (TCGA) のデータベースを用い、乳癌症例において、S1P を含むスフィンゴリン脂質関連遺伝子と TAIC 関連遺伝子の発現に関して、バイオインフォマティクスによって網羅的に解析を行った。S1P の産生酵素であるスフィンゴシンキナーゼ 1 (SPHK1) は正常乳腺組織よりも腫瘍組織で発現が上昇していること、SPHK1 の発現が上昇している腫瘍組織では、CD68、CD163、CD4、FOXP3 等の腫瘍免疫にかかわる遺伝子の発現が上昇していることを発見した。このことから乳癌における複雑な腫瘍免疫微小環境に関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Junko Tsuchida, Masayuki Nagahashi, Masato Nakajima, Eriko Katsuta, Omar M. Rashid, Qianya Qi, Li Yan, Shujiro Okuda, Kazuaki Takabe, Toshifumi Wakai	4. 巻 15
2. 論文標題 Sphingosine Kinase 1 is Associated With Immune Cell Related Gene Expressions in Human Breast Cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Surgical Research	6. 最初と最後の頁 645-656
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jss.2020.06.057	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 土田純子, 永橋昌幸, 諸和樹, 遠藤麻巳子, 庭野稔之, 山浦久美子, 利川千絵, 長谷川美樹, 五十嵐麻由子, 中島真人, 小山諭, 高部和明, 若井俊文
2. 発表標題 乳癌腫瘍免疫微小環境におけるスフィンゴシン-1-リン酸の役割の検討
3. 学会等名 第28回 日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 土田 純子, 永橋 昌幸, 諸 和樹, 遠藤 麻巳子, 利川 千絵, 五十嵐 麻由子, 小山 諭, 三浦 要平, 油座 築, 安藤 拓也, 廣瀬 雄己, 三浦 宏平, 田島 陽介, 市川 寛, 島田 能史, 坂田 純, 小林 隆, 亀山 仁史, 高部 和明, 若井 俊文
2. 発表標題 血漿スフィンゴシン-1リン酸濃度は乳癌のリンパ節転移に関連する
3. 学会等名 第17回日本臨床腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 J. Tsuchida, M. Nagahashi, M. Ikarashi, K. Moro, C. Toshikawa, K. Miura, H. Ichikawa, T. Hanyu, K. Takizawa, Y. Shimada, T. Ishikawa, J. Sakata, H. Kameyama, T. Kobayashi, K. Takabe, T. Wakai
2. 発表標題 Involvement of Sphingosine-1-phosphate in the Tumor Immune Microenvironment of Breast Cancer Patients
3. 学会等名 2020 Academic Surgical Congress
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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