

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23981

研究課題名（和文）肺癌における転写因子ASCL1の免疫応答抑制機構の解明とその臨床応用

研究課題名（英文）Elucidation of immune response suppression mechanism of transcription factor ASCL1 in lung cancer and its clinical application

研究代表者

宮下 直也（Miyashita, Naoya）

東京大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：50843041

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：研究者は転写因子ASCL1が肺癌の腫瘍免疫機構に及ぼす影響について、細胞実験、マウス実験、既存の公共データ解析などの手法を用いて検証を行った。その結果、ASCL1を発現する肺腺癌は特定のサイトカインやその受容体の発現レベルが低く、腫瘍免疫機構が抑制されているメカニズムの一端を明らかにすることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果により、肺癌においては特定のマスター転写因子の発現によってその腫瘍免疫機構に大きな差があることが明らかになった。現在の臨床の現場では免疫療法が盛んにおこなわれるようになっており、本研究の成果により、将来的には特定の遺伝子の検査により免疫療法の効果予測や適応の判定ができるようになる可能性があると考えられる。

研究成果の概要（英文）：We have studied the effects of the transcription factor ASCL1 on the tumor immune system of lung cancer using techniques such as cell experiments, mouse experiments, and existing public data analysis.

As a result, we clarified a part of the mechanism by which the expression level of specific cytokines and their receptors is low in lung adenocarcinoma expressing ASCL1 and the tumor immunological mechanism is suppressed.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌 腫瘍免疫 トランスクリプトーム解析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

肺癌は癌死亡のうち部位別では最多であり、全世界で年間 100 万人以上の死亡原因である。肺癌には腺癌 (30-40%)・扁平上皮癌 (20-30%)・肺小細胞癌 (10-15%) を含む神経内分泌腫瘍などの組織型がある。ASCL1 は神経内分泌細胞の系統分化において中心的な役割を担うマスター転写因子であり、特に肺小細胞癌の約 75% に発現することが知られている。

申請者らは肺小細胞癌において、ASCL1 が特徴的な転写ネットワークを形成し、細胞の生存・分化に関与していることを報告した (*Horie, Miyashita et al. J Pathol. 2018*)。また申請者は肺腺癌の約 10% において ASCL1 の発現がみられ、特徴的な臨床的・分子生物学的特性を有することを発見した。具体的には、ASCL1 の発現は喫煙歴と相関し、EGFR 遺伝子変異の頻度が極めて低く、一方で STK11 (LKB1) 遺伝子変異の頻度が高かった。さらに、ASCL1 陽性の肺腺癌は PD-L1・MHC クラス II 分子などの免疫関連遺伝子や、T 細胞・B 細胞・NK 細胞などの免疫細胞マーカーの発現レベルが極めて低く、腫瘍免疫応答が強く抑制されている (いわゆる immune desert である) ことを見出した (*Miyashita et al. J Thorac Oncol. 2018*)。

以上の知見から、ASCL1 発現および神経内分泌分化に伴って腫瘍免疫応答が抑制されると想定されるが、そのメカニズムは未解明であり、癌特異抗原の発現、抗原提示、免疫細胞の活性化・遊走、腫瘍組織への免疫細胞浸潤など、様々な細胞応答での変化が推測される。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、神経内分泌分化のマスター制御因子 ASCL1 の機能に着目し、ASCL1 を発現する肺腺癌や肺小細胞癌における免疫応答抑制機構を解明することで、肺癌の分子病態の解明、治療効果予測因子の同定、新たな治療アプローチの開発に寄与することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) ASCL1 で腫瘍免疫応答が抑制されるメカニズムを解明するため、下記の実験を行った。

ASCL1 により制御される遺伝子のプロファイリング

申請者は ASCL1 陽性肺腺癌細胞 (VMRC-LCD) において ASCL1 ノックダウンを行い、RNA シーケンス解析により ASCL1 の標的遺伝子群を網羅的に同定した。さらに ASCL1 発現レトロウイルスベクターを作成済みであり、ASCL1 発現細胞でも RNA シーケンス解析を行い、ASCL1 により制御される遺伝子のプロファイリングを進めた。

ASCL1 が腫瘍内浸潤を抑制する免疫細胞の同定

申請者はマウス肺腺癌細胞の同系同所移植モデルの実験系を確立し、複数の細胞株を用いた実験で、ASCL1 遺伝子導入を行った細胞では腫瘍内部における T 細胞浸潤が低下する

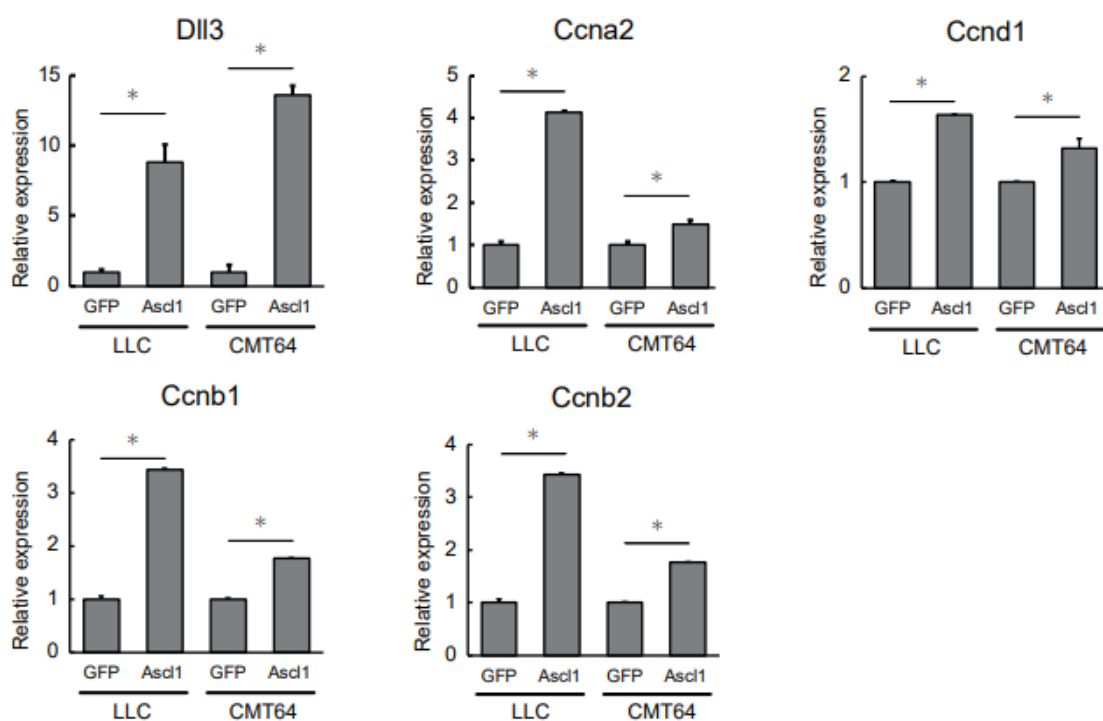
ことを発見した（未発表）。本研究では免疫細胞のサブセットをより詳細に明らかにするため、免疫細胞マーカーの免疫組織化学染色やフローサイトメーターによる評価を行った。

ASCL1陽性の肺癌細胞から産生される液性因子の解析

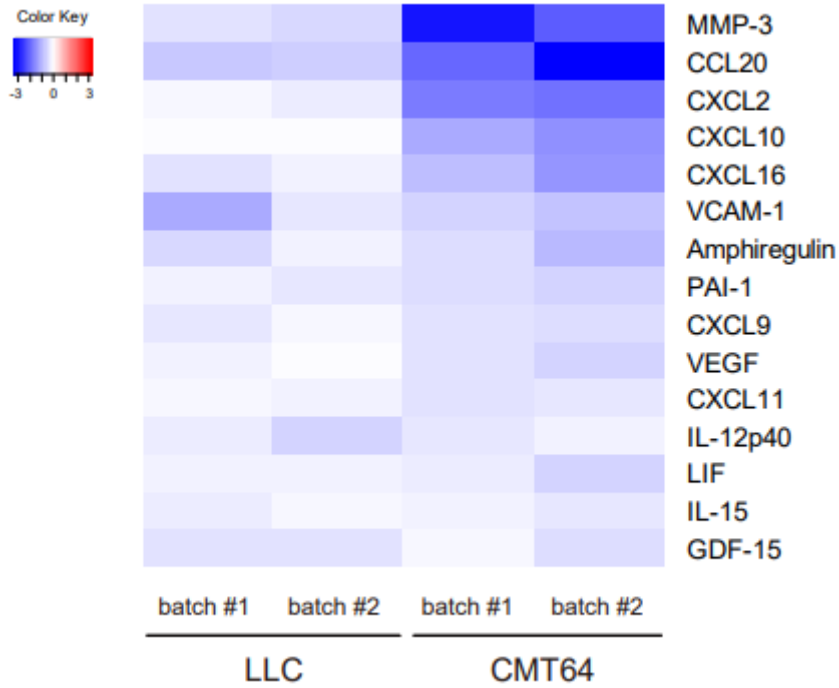
申請者は ASCL1 を発現させた肺腺癌細胞における抗体アレイを施行し、ASCL1 によって多彩なケモカインの産生が抑制されることを見出した。これらのケモカインの産生を細胞実験でも確認するほか、免疫細胞の遊走・活性化に及ぼす影響を検証した。

4. 研究成果

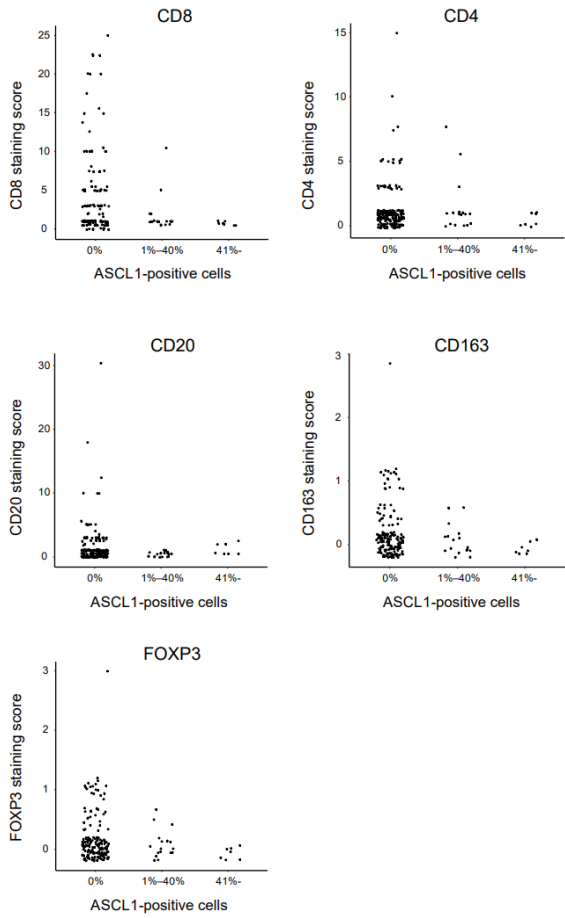
(1) LLC、CMT64 細胞株に Ascl1 発現レトロウイルスベクターを導入し、Ascl1 の強制発現を行った。Ascl1 の強制発現は両細胞株は細胞増殖に寄与し、かつ細胞増殖に関するサイクリン系の転写レベルの活性化も認めた。



(2)次に、CMT64 細胞株に Ascl1 を強制発現させ、培養液中のサイトカインアレイを施行した。その結果、Ccl20, Cxcl2, Cxcl10, Cxcl16 の発現が低下した。



(3) マウス肺に CMT64 細胞株を注射する実験系を確立し、Ascl1 が腫瘍免疫にどのように関与しているのかを検証した。ASCL1 陽性の肺腺癌は、CD8 +、CD4 +、CD20 +、FoxP3 +リンパ球、および CD163 +マクロファージの浸潤が少ないことが明らかになった。



以上より、ASCL1 は、cell-autonomous なシグナル伝達だけでなく、ケモカイン産生と免疫応答を調節することによっても、その腫瘍促進効果を仲介することが明らかになった。

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 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyashita Naoya, Horie Masafumi, Mikami Yu, Urushiyama Hirokazu, Fukuda Kensuke, Miyakawa Kazuko, Matsuzaki Hiroataka, Makita Kosuke, Morishita Yasuyuki, Harada Hiroaki, Backman Max, Lindskog Cecilia, Brunnström Hans, Micke Patrick, Nagase Takahide, Saito Akira	4. 巻 489
2. 論文標題 ASCL1 promotes tumor progression through cell-autonomous signaling and immune modulation in a subset of lung adenocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 121 ~ 132
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2020.06.002	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

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------