

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03531

研究課題名（和文）胃癌間質の組織型別分子サブタイピングに基づいた抗ストローマ治療戦略の開発

研究課題名（英文）Development of anti-stromal therapeutic strategy based on histological molecular subtyping of gastric cancer stroma.

研究代表者

石本 崇胤（Ishimoto, Takatsugu）

熊本大学・病院・特任准教授

研究者番号：00594889

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,600,000円

研究成果の概要（和文）：癌組織を構成する多様な細胞群の中でもCancer associated fibroblasts (CAFs)に焦点を当て、シングルセル解析技術を腫瘍間質CAFsに適応することで、腫瘍間質に対する新たな治療ターゲット創出を目的として研究をおこなった。本研究を通じてCAFs由来の細胞外小胞やIL-6などのサイトカインが癌細胞に作用することで癌の進展・転移を促進していること、胃癌間質中のCAFs分画には3つのサブグループが存在し特定のサブグループが癌に対する免疫を抑制することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

癌は組織として存在し、多様な細胞群で構成されている。さらに各細胞群の中にもサブグループが存在し、各グループがネットワークを形成していることが明らかになった。今後の癌治療を考える際には、このネットワークを遮断した上で効率良く癌細胞を標的とした治療を行うことが重要となる。特にスキルス胃癌のような線維化が強い癌種では、Cancer associated fibroblasts (CAFs)と呼ばれる線維芽細胞が癌を促進する腫瘍間質で重要な働きをしており、治療ターゲットとなり得ることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We focused on cancer-associated fibroblasts (CAFs) among the various cell types that form cancer tissue, and applied single-cell analysis to CAFs with the aim of developing new therapeutic targets for tumor stroma. In current study, we found that extracellular vesicles derived from CAFs and cytokines such as IL-6 act on cancer cells to promote cancer progression and metastasis, and demonstrated that there are three subgroups of CAFs in the gastric cancer stroma and identified the specific subgroup suppresses immunity against cancer.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：腫瘍微小環境 胃癌 CAFs 多様性

1. 研究開始当初の背景

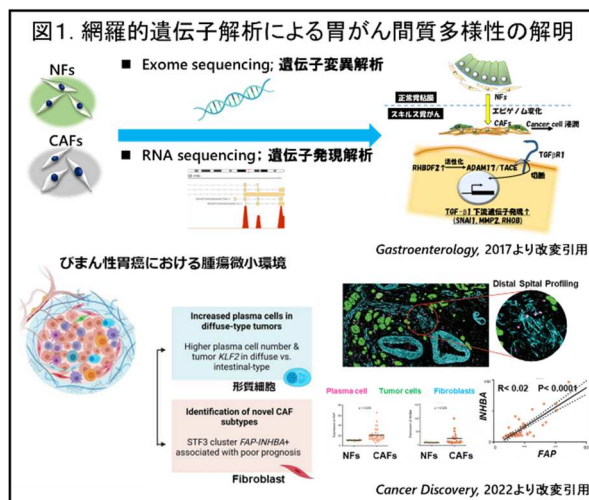
2017年に本邦においても進行胃癌に対して免疫チェックポイント阻害剤が実臨床で用いられるようになり、今後の新しい癌治療戦略の開発に向けて、免疫細胞や間質細胞と癌細胞の相互の分子メカニズムを詳細に理解しなければならない。CAFs (Cancer-Associated Fibroblasts)が癌の進展や浸潤・転移を促進していることは世界中の研究者により立証されていたが、腫瘍間質(ストローマ)内のCAFs自体に機能的多様性が存在するため、「癌治療において治療標的となり得るストローマ由来因子」は明確ではなかった。

2. 研究の目的

びまん性・腸型胃癌由来CAFsに焦点を当てシングルセル解析により、組織型別のCAFs分子サブタイピングをおこない、特にスキルス胃癌を含むびまん性胃癌進展や薬剤抵抗性獲得を制御する新規治療ターゲットを創出することであった。

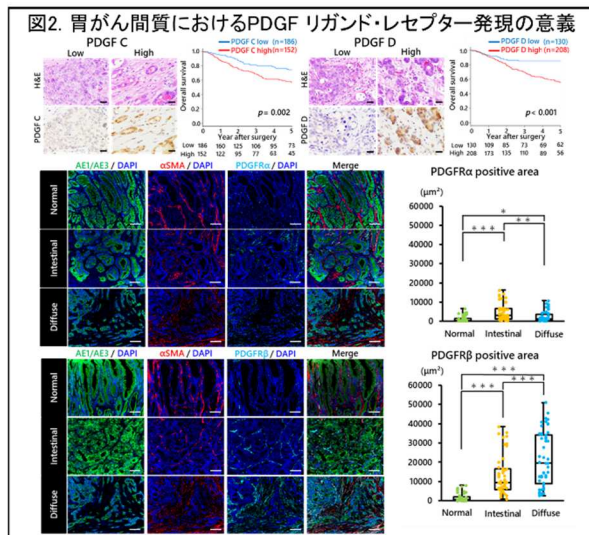
3. 研究の方法

(1) ヒト胃癌組織を用いたシングルセルRNAシーケンシングをおこない、腫瘍間質を含めたクラスタリング解析をおこなった。
 (2) マウス胃癌細胞のシリアルトランスプラントによって、高度線維化腫瘍を形成するマウスモデルを確立した。
 (3) シリアルトランスプラントによる線維化腫瘍を用いて、シングルセル解析による腫瘍間質多様性の評価をおこなった。
 (4) 確立した線維化腫瘍マウスモデルを用いて抗PD-1抗体に対する治療効果を検証した。

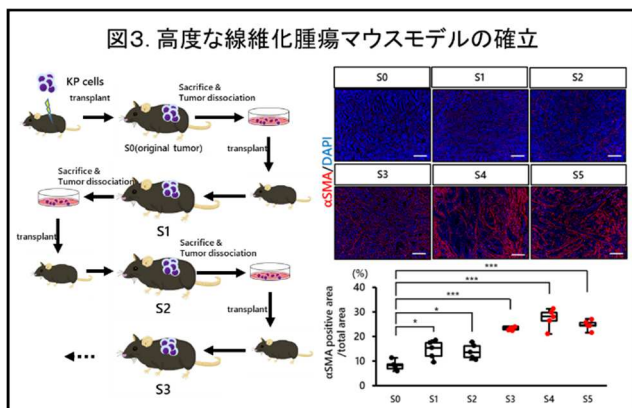


4. 研究成果

(1) スキルス胃癌切除組織より樹立したCAFsを用いたゲノム・エピゲノム解析を行い、スキルス胃癌由来CAFsにおいて特異的にTGF-1下流遺伝子群の発現が亢進し癌細胞の浸潤をサポートする分子機構、さらにヒト胃癌組織のシングルセル解析により胃癌間質の多様性を明らかにした(図1)。また、びまん性胃癌の間質では正常胃粘膜と比べてほぼ全例でPDGFRを発現し、さらに50%を超える症例でPDGFRを強く発現していた。また、そのリガンドであるPDGFC/Dの発現が高い胃癌症例は有意に予後不良であった(図2)。



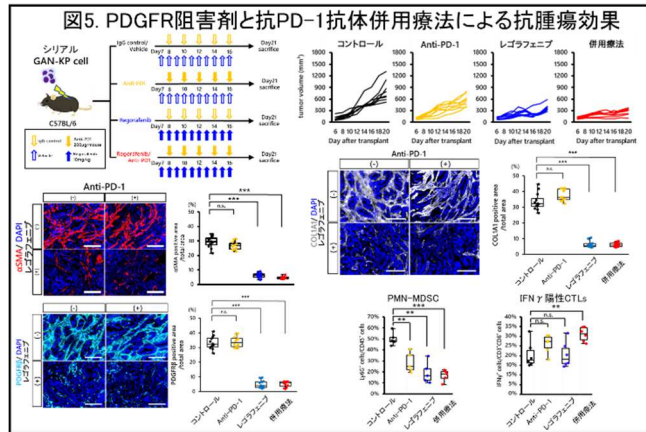
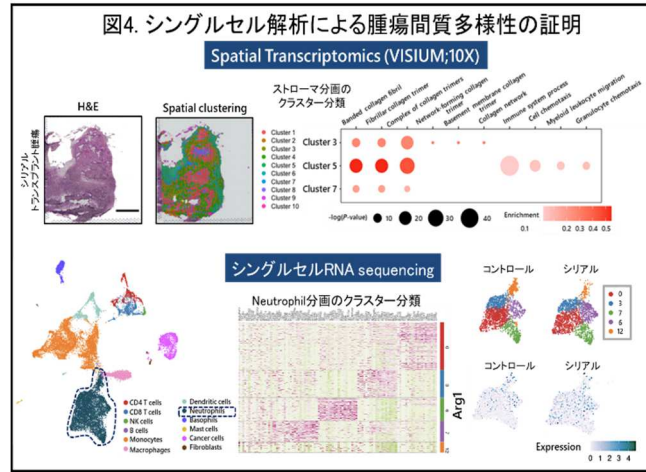
(2) CAFsを活性化するシグナルとしてPDGF/PDGFRに注目し、CAFsの増生、遺伝子発現の変化など様々な視点から検討をおこなってきた。なかでもPDGF刺激によって活性化したCAFsを用いてRNAシーケンシングをおこなった結果、腫瘍免疫抑制に深く関わる骨髄由来免疫抑制細胞(MDSCs)を腫瘍内に誘導するケモカインの発現が上昇することを同定している。さらに、胃癌自然発症マウス腫瘍からオルガノイド経路で樹立したマウス胃癌細胞(DT-p53KO-



KRASm-1B-LUC: GAN-KP cells)を、シリアル・トランスプラントすることで、高度な線維化を伴う腫瘍を形成するモデルを確立した(図3)。

(3) 腫瘍間質多様性の評価として、Spatial Transcriptomics (VISIUM;10X)によりケモカイン産生能が高いストローマ分画の存在を明らかにし、さらに免疫抑制性微小環境の形成についてシングルセルRNAシーケンシングを用いた検証によりマルチキナーゼ阻害剤(レゴラフェニブ)の投与によって、アルギナーゼ1(Arg1)を発現するNeutrophil分画であるPMN-MDSCsが有意に減少することを既に確認している(図4)。

(4) さらに、このシリアルトランスプラントをおこなった線維化腫瘍モデルは、免疫チェックポイント阻害剤(抗PD-1抗体)に対する治療抵抗性を示し線維化に伴う抗PD-1抗体レジスタント腫瘍モデルとして、複合がん免疫療法の検証に最適であることを証明した。さらにPDGFRシグナルの阻害による腫瘍間質リプログラミングにともない、抗PD-1抗体に対する治療抵抗性が改善することを明らかにした(図5)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計15件（うち査読付論文 15件／うち国際共著 8件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Akiyama T, Yasuda T, Uchihara T, Yasuda-Yoshihara N, Tan Benjy J.Y., Yonemura At, Semba T, Yamasaki J, Komohara Y, Ohnishi K, Wei F, Fu L, Zhang J, Kitamura F, Yamashita K, Eto K, Iwagami S, Tsukamoto H, Umemoto T, Masuda M, Nagano O, Satou Y, Saya H, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 83
2. 論文標題 Stromal Reprogramming through Dual PDGFR / Blockade Boosts the Efficacy of Anti-PD-1 Immunotherapy in Fibrotic Tumors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 753 ~ 770
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-22-1890	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 該当する
1. 著者名 Bu L, Yonemura A, Yasuda Yoshihara N, Uchihara T, Ismagulov G, Takasugi S, Yasuda T, Okamoto Y, Kitamura F, Akiyama T, Arima K, Itoyama R, Zhang J, Fu L, Hu X, Wei F, Arima Y, Moroishi T, Nishiyama K, Sheng G, Mukunoki T, Otani J, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 113
2. 論文標題 Tumor microenvironmental 15 PGDH depletion promotes fibrotic tumor formation and angiogenesis in pancreatic cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3579 ~ 3592
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15495	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 該当する
1. 著者名 Liu Yang, Baba Yoshifumi, Ishimoto Takatsugu, Gu Xi, Zhang Jun, Nomoto Daichi, Okadome Kazuo, Baba Hideo, Qiu Peng	4. 巻 18
2. 論文標題 Gut microbiome in gastrointestinal cancer: a friend or foe?	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 4101 ~ 4117
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7150/ijbs.69331	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 該当する
1. 著者名 Fu Lingfeng, Yonemura Atsuko, Yasuda-Yoshihara Noriko, Umemoto Terumasa, Zhang Jun, Yasuda Tadahito, Uchihara Tomoyuki, Akiyama Takahiko, Kitamura Fumimasa, Yamashita Kohei, Okamoto Yuya, Bu Luke, Wei Feng, Hu Xichen, Liu Yang, Ajani Jaffer A., Tan Patrick, Baba Hideo, Ishimoto Takatsugu	4. 巻 25
2. 論文標題 Intracellular MUC20 variant 2 maintains mitochondrial calcium homeostasis and enhances drug resistance in gastric cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 542 ~ 557
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-022-01283-z	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 Kumar V, Ramnarayanan K, Sundar R, Padmanbhan N, Srivastava S, Koiwa M, Yasuda T, Koh V, Huang K, Tay S, Ho S, Tan A, Ishimoto T, Kim G, Shabbir A, Chen Q, Biyan Z, Xu S, Lam K, Lum H, Teh M, Yong W, So J and Tan P	4. 巻 12
2. 論文標題 Single-cell atlas of lineage states, tumor microenvironment and subtype-specific expression programs in gastric cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Discov	6. 最初と最後の頁 670 ~ 691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/2159-8290.CD-21-0683	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 Yamasaki J, Hirata Y, Otsuki Y, Suina K, Saito Y, Masuda K, Okazaki S, Ishimoto T, Saya H, Nagano O	4. 巻 113
2. 論文標題 MEK Inhibition Suppresses Metastatic Progression of KRAS-Mutated Gastric Cancer.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci	6. 最初と最後の頁 916-925
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15244	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 Qiu P, Ishimoto T, Fu L, Zhang J, Zhang Z, Liu Y	4. 巻 -
2. 論文標題 The Gut Microbiota in Inflammatory Bowel Disease.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Cell Infect Microbiol	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2022.733992	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 該当する

1. 著者名 Itoyama R, Yasuda-Yoshihara N, Kitamura F, Yasuda T, Bu L, Yonemura A, Uchihara T, Arima K, Hu X, Jun Z, Okamoto Y, Akiyama T, Yamashita K, Nakao Y, Yusa T, Kitano Y, Higashi T, Miyata T, Imai K, Hayashi H, Yamashita YI, Mikawa T, Kondoh H, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 523
2. 論文標題 Metabolic shift to serine biosynthesis through 3-PG accumulation and PHGDH induction promotes tumor growth in pancreatic cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 29 ~ 42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.canlet.2021.09.007	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 Izumi D, Zhu Z, Chen Y, Toden S, Huo X, Kanda M, Ishimoto T, Gu D, Tan M, Koderu Y, Baba H, Li W, Chen J, Wang X, Goel A	4. 巻 4
2. 論文標題 Assessment of the Diagnostic Efficiency of a Liquid Biopsy Assay for Early Detection of Gastric Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JAMA Network Open	6. 最初と最後の頁 2121129 ~ 2121129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1001/jamanetworkopen.2021.21129	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 該当する

1. 著者名 Yasuda T, Koiwa M, Yonemura A, Akiyama T, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 2
2. 論文標題 Protocol to establish cancer-associated fibroblasts from surgically resected tissues and generate senescent fibroblasts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 STAR Protocols	6. 最初と最後の頁 100553 ~ 100553
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.xpro.2021.100553	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 Yasuda T, Koiwa M, Yonemura A, Miyake K, Kariya R, Kubota S, Yokomizo-Nakano T, Yasuda-Yoshihara N, Uchihara T, Itoyama R, Bu L, Fu L, Arima K, Izumi D, Iwagami S, Eto K, Iwatsuki M, Baba Y, Yoshida N, Ohguchi H, Okada S, Matsusaki K, Sashida G, Takahashi A, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 34
2. 論文標題 Inflammation-driven senescence-associated secretory phenotype in cancer-associated fibroblasts enhances peritoneal dissemination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 108779 ~ 108779
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2021.108779	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 該当する

1. 著者名 Yasuda T, I Ishimoto T, Baba H	4. 巻 17
2. 論文標題 Conflicting metabolic alterations in cancer stem cells and regulation by the stromal niche	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Regenerative Therapy	6. 最初と最後の頁 8 ~ 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.reth.2021.01.005	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 1.Uchihara T, Miyake K, Yonemura A, Komohara Y, Itoyama R, Koiwa M, Yasuda T, Arima K, Harada K, Eto K, Hayashi H, Iwatsuki M, Iwagami S, Baba Y, Yoshida N, Yashiro M, Masuda M, Ajani JA, Tan P, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 80
2. 論文標題 Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces FAK-YAP Activation by Stabilizing α 1 Integrin, Enhancing Drug Resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 3222 ~ 3235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-19-3803	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 Bu Luke, Baba Hideo, Yasuda Tadahito, Uchihara Tomoyuki, Ishimoto Takatsugu	4. 巻 111
2. 論文標題 Functional diversity of cancer associated fibroblasts in modulating drug resistance	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3468 ~ 3477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14578	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 Fu L, Bu L, Yasuda T, Koiwa M, Akiyama T, Uchihara T, Baba H, Ishimoto T	4. 巻 8
2. 論文標題 Gastric Cancer Stem Cells: Current Insights into the Immune Microenvironment and Therapeutic Targets	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 7 ~ 7
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines8010007	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 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 6件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Takatsugu Ishimoto
2. 発表標題 Single-cell proteomic profiling of malignant ascites in gastric cancer reveals the microenvironment promoting peritoneal dissemination
3. 学会等名 JSPS Core-to-Core Program AMini-Symposium 「Applications of mass cytometry in basic and clinical research」 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Takatsugu Ishimoto
2. 発表標題 Single-cell proteomic profiling of malignant ascites in gastric cancer reveals the microenvironment promoting peritoneal dissemination
3. 学会等名 第45回日本分子生物学会年会、フォーラム2F-07 「個体レベルの生命科学の創発」(招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石本 崇胤
2. 発表標題 PDGFR阻害によるスキルス胃癌間質リプログラミングを介した複合がん免疫療法
3. 学会等名 第33回日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石本 崇胤
2. 発表標題 スキルス胃癌免疫微小環境リモデリングによる治療戦略
3. 学会等名 第93回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 石本 崇胤
2. 発表標題 複合がん免疫療法に向けたスキルス胃癌間質リプログラミング分子基盤の解明
3. 学会等名 第29回JDDW 2021シンポジウム8 「がん微小環境を標的とした消化器がん治療の新展望」
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takatsugu Ishimoto
2. 発表標題 34th Workshop of the European Helicobacter and Microbiota Study Group
3. 学会等名 Extracellular vesicles from cancer-associated fibroblasts induce drug resistance. (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Takatsugu Ishimoto
2. 発表標題 Elucidation of immune microenvironment and therapeutic target in scirrhous gastric cancer stroma.
3. 学会等名 第93回日本胃癌学会総会 会長特別企画2スキルス胃癌研究のこれまでとこれから (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 石本 崇胤
2. 発表標題 胃がん間質ダイバーシティの解明と治療標的の創出
3. 学会等名 第31回日本消化器癌発生学会総会 田原榮一賞受賞講演 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 石本 崇胤
2. 発表標題 腹膜播種形成を促進するがん性腹水中老化細胞の意義
3. 学会等名 第20回抗加齢医学会総会シンポジウム3「DNA損傷応答と老化の表現型」 (招待講演)
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	岩槻 政晃 (Iwatsuki Masaaki) (50452777)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教 (17401)	
研究 分担者	須田 年生 (Suda Toshio) (60118453)	熊本大学・国際先端医学研究機構・卓越教授 (17401)	

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			
シンガポール	Duke-NUS Medical School			
米国	MD-Anderson Cancer Center			