

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903
研究種目：基盤研究(C) (一般)
研究期間：2020～2022
課題番号：20K07410
研究課題名(和文) CD70陽性がん間質線維芽細胞による大腸癌悪性形質・免疫微小環境制御機構の解析

研究課題名(英文) Regulation of the tumor malignant potentials and immune evasion by CD70-positive stromal cells.

研究代表者
稲熊 真悟 (Inaguma, Shingo)
名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：80410786
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)：大腸癌手術症270例より大腸癌腫瘍組織アレイを作成し、大腸癌細胞、大腸癌間質に存在する炎症細胞や癌関連線維芽細胞の免疫組織学的特徴を解析し、PBK, PHH3, SPATA18, CD47, periostin等の予後規定因子を同定した。同時に、これらの分子が、大腸癌細胞や癌関連線維芽細胞においてどのような作用を有しているのか、培養細胞を用いた実験系を用いて解析し、患者予後を規定するメカニズムの一部を明らかにした。また、胸膜中皮腫細胞におけるCD70発現は、PD-L1と協調して腫瘍細胞の浸潤・遊走能、細胞増殖能、免疫反応を制御することで、患者予後を悪化させている可能性も明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、腫瘍細胞、腫瘍間質双方に着目し、大腸癌細胞におけるPBK、ヒストンH3、またミトコンドリアのquality controlを行うといわれているSPATA18発現の臨床病理学的重要性とともに、p53発現症例が化学療法に対する反応性が良い可能性も明らかにした。腫瘍間質成分に関しては、マクロファージチェックポイント分子CD47の重要性や、大腸癌間質細胞に発現するperiostinの重要性も明らかにした。一方で、胸膜中皮腫細胞におけるCD70発現は、PD-L1と協調してその浸潤・遊走能、細胞増殖能、免疫逃避を制御するも明らかにした。今後、これらの分子を標的とした新規治療法の確立が望まれる。

研究成果の概要(英文)：In the present study, the researchers established colorectal cancer (CRC) tissue arrays containing 270 CRC cases. Immunohistochemical analyses using tumor tissue arrays identified the prognostic significance of PBK, PHH3, SPATA18, and p53 expressions in CRC cells. Furthermore, the significance of the CD47 expression in tumor-associated macrophage and periostin expression in colorectal cancer-associated fibroblasts were identified. In vitro studies identified the communication between cancer cells and periostin-positive fibroblasts. In pleural mesothelioma, patients with CD70- and PD-L1-positive tumors showed the worst clinical outcome. In vitro experiments identified that CD70 and PD-L1 cooperatively accelerated the migration and invasion of mesothelioma cells.

研究分野：病理学

キーワード：CD70 Cancer stroma

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、癌細胞自身の特徴のみならず、腫瘍間質の重要性が示唆されており、治療標的候補としてもその可能性が注目されている。腫瘍間質は、癌関連線維芽細胞、血管組織、炎症細胞、細胞外マトリクスタンパク質などの様々な成分より構成されており、それらが癌細胞と協調して腫瘍の発生、維持、進展、また免疫逃避にも深くかかわっている可能性が示唆されている。しかしながら、現在、精力的に解析が進められているものの、現段階では未解明の部分が多い状態である。

2. 研究の目的

本研究は、申請者が中皮腫細胞や、大腸癌腫瘍間質細胞における CD70 発現が、患者の不良な予後を規定することを明らかにしており、その機構として腫瘍組織における CD70 発現を介した腫瘍免疫制御による癌細胞免疫逃避の可能性に着目したことを基礎としている。大腸癌組織を用いた病理組織学的解析、および培養細胞を用いた分子生物学的解析より、大腸癌における腫瘍間質の重要性、腫瘍細胞とのかかわりを解明し、難治性疾患である大腸癌に対する、新規併用療法の可能性を探ることを目的としている。

3. 研究の方法

腫瘍組織アレイを用いて、免疫組織学的に腫瘍関連線維芽細胞、炎症細胞、細胞外マトリクスタンパク質の発現解析を行い、その臨床病理学的特徴との関連を解析するとともに、患者の予後を規定する遺伝子群の同定を試みる。

同定された遺伝子の発現を誘導・低減させるレンチウイルスを作成し、腫瘍細胞株、および線維芽細胞に感染させ、それらの浸潤遊走能、細胞分裂能等、表現型の変化を観察する。また、*in vitro* で腫瘍細胞株と線維芽細胞との共培養も行い、各細胞群における相互作用も観察することで、当該遺伝子が患者予後を規定する分子機構を明らかにするとともに、治療応用の可能性も検討する。

4. 研究成果

大腸癌手術症 270 例より作成した大腸癌腫瘍組織アレイを用いて免疫組織学的解析を行い、大腸癌患者の予後良好因子として、PBK (Virchows Arch., 2021, 479;277-284.)、リン酸化ヒストン H3 (PHH3, Pathol Int., 2021, 71;316-324.) を同定した。これらのタンパク質発現は、いずれも病理学的深達度と逆相関していた。これらの知見をもとに、分子生物学的解析を行い、PBK はヒストン H3 をリン酸化し、細胞増殖を促進させる一方で、E-cadherin のリン酸化を促進させることでその安定化を誘導し、大腸癌細胞の浸潤・遊走を抑制することで、大腸がん患者の良好な予後を規定している可能性を明らかにした (Frontiers in Pharmacology, 2022, 18;12:772926.)。

マクロファージは、遊走性の食細胞であり、細胞破片や体内に生じた変性物質、侵入した細菌などの異物を捕食して消化し、排除する役割を果たしている。また抗原提示細胞でもあり、腫瘍免疫を含む、免疫系の一部を担っている。そこで、腫瘍間質におけるマクロファージ関連遺伝子群 CD47, SIRPA, CD68, CD163 の免疫染色を行い、その重要性を検討したところ、大腸癌細胞における CD47 発現が、マクロファージチェックポイントを介して腫瘍細胞の免疫逃避を促進させ、同腫瘍患者の予後を悪化させている可能性を明らかにした (Int J Mol Sci. 7;22(5):2690, 2021)。

ミトコンドリアは真核生物において好気呼吸を担っているが、その異常が腫瘍の発生に関与しているとされている。大腸癌組織において、ミトコンドリアの quality control を行うといわれている SPATA18 発現を解析したところ、SPATA18 の発現低下を示す大腸癌は、その発現を保持している腫瘍に比して腫瘍径が有意に大きく、予後が悪いことを明らかにした (Int J Mol Sci. 2022, 23:2753.)。

腫瘍抑制遺伝子 p53 発現を完全に欠失する大腸癌症例は、有意に予後が悪く、wild-type パターンで p53 発現を示す症例は有意に CDX2 発現低下を示し、化学療法に対する反応性が良い可能性が示唆された (Int J Mol Sci. 2022, 23:3252.)。

大腸癌間質における periostin 発現を免疫組織学的に解析したところ、periostin 高発現を示す大腸癌は有意に予後が悪く、そのメカニズムとして periostin による大腸癌細胞、間質細胞の遊走能・細胞増殖能の制御による可能性を明らかにし、報告した (Cancers 2023, 15(3):606)。現在、大腸癌腫瘍間質における CD70、および periostin の共発現によって患者予後が規定され

る可能性ことを見出し、その分子機構を含め、解析している。

胸膜中皮腫細胞における CD70 発現は、PD-L1 と協調して腫瘍細胞の浸潤・遊走能、細胞増殖能を制御することで、患者予後を悪化させている可能性を明らかにした(J Pathol Clin Res. 2023, 9(3):195-207)。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Inaguma Shingo, Ueki Akane, Lasota Jerzy, Komura Masayuki, Sheema Asraful Nahar, Czapiewski Piotr, Langfort Renata, Rys Janusz, Szpor Joanna, Waloszczyk Piotr, Oko? Krzysztof, Biernat Wojciech, Schrupp David S, Hassan Raffit, Miettinen Markku, Takahashi Satoru	4. 巻 9
2. 論文標題 CD70 and PD L1 (CD274) co expression predicts poor clinical outcomes in patients with pleural mesothelioma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The Journal of Pathology: Clinical Research	6. 最初と最後の頁 195 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cjp2.310	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 Ueki Akane, Komura Masayuki, Koshino Akira, Wang Chengbo, Nagao Kazuhiro, Homochi Mai, Tsukada Yuki, Ebi Masahide, Ogasawara Naotaka, Tsuzuki Toyonori, Kasai Kenji, Kasugai Kunio, Takahashi Satoru, Inaguma Shingo	4. 巻 15
2. 論文標題 Stromal POSTN Enhances Motility of Both Cancer and Stromal Cells and Predicts Poor Survival in Colorectal Cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 606 ~ 606
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers15030606	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 Koshino Akira, Nagano Aya, Ota Akinobu, Hyodo Toshinori, Ueki Akane, Komura Masayuki, Sugimura-Nagata Akane, Ebi Masahide, Ogasawara Naotaka, Kasai Kenji, Hosokawa Yoshitaka, Kasugai Kunio, Takahashi Satoru, Inaguma Shingo	4. 巻 12
2. 論文標題 PBK Enhances Cellular Proliferation With Histone H3 Phosphorylation and Suppresses Migration and Invasion With CDH1 Stabilization in Colorectal Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Pharmacology	6. 最初と最後の頁 772926 ~ 772935
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fphar.2021.772926	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 Sugimura-Nagata Akane, Koshino Akira, Nagao Kazuhiro, Nagano Aya, Komura Masayuki, Ueki Akane, Ebi Masahide, Ogasawara Naotaka, Tsuzuki Toyonori, Kasai Kenji, Takahashi Satoru, Kasugai Kunio, Inaguma Shingo	4. 巻 23
2. 論文標題 SPATA18 Expression Predicts Favorable Clinical Outcome in Colorectal Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2753 ~ 2753
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23052753	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 Nagao Kazuhiro, Koshino Akira, Sugimura-Nagata Akane, Nagano Aya, Komura Masayuki, Ueki Akane, Ebi Masahide, Ogasawara Naotaka, Tsuzuki Toyonori, Kasai Kenji, Takahashi Satoru, Kasugai Kunio, Inaguma Shingo	4. 巻 23
2. 論文標題 The Complete Loss of p53 Expression Uniquely Predicts Worse Prognosis in Colorectal Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3252 ~ 3252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms23063252	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 Sugimura-Nagata A, Koshino A, Inoue S, Matsuo-Nagano A, Komura M, Riku M, Ito H, Inoko A, Murakami H, Ebi M, Ogasawara N, Tsuzuki T, Takahashi S, Kasugai K, Kasai K, Inaguma S.	4. 巻 22(5)
2. 論文標題 Expression and Prognostic Significance of CD47-SIRPA Macrophage Checkpoint Molecules in Colorectal Cancer.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 2690
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms22052690.	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 Nagano-Matsuo A, Inoue S, Koshino A, Ota A, Nakao K, Komura M, Kato H, Naiki-Ito A, Watanabe K, Nagayasu Y, Hosokawa Y, Takiguchi S, Kasugai K, Kasai K, Inaguma S, Takahashi S.	4. 巻 -
2. 論文標題 PBK expression predicts favorable survival in colorectal cancer patients.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Virchows Arch.	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) 10.1007/s00428-021-03062-0.	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 Koshino A, Inoue S, Sugimura-Nagata A, Nishiyama T, Murakami H, Ito H, Riku M, Inoko A, Ebi M, Ogasawara N, Tsuzuki T, Kasugai K, Kasai K, Inaguma S.	4. 巻 -
2. 論文標題 High phospho-histone H3 expression uniquely predicts favorable survival among four markers of cellular proliferation in colorectal cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathol Int.	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) 10.1111/pin.13084.	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 Lasota J, Inaguma S, Izycka-Swieszewska E, Kaczorowski M, Kolos M, Kopczyński J, Michał M, Milione M, Okon K, Peksa R, Pyzlak M, Rys J, Waloszczyk P, Wejman J, Miettinen M.	4. 巻 44(9)
2. 論文標題 Colorectal Adenocarcinomas Harboring ALK Fusion Genes: A Clinicopathologic and Molecular Genetic Study of 12 Cases and Review of the Literature.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Am J Surg Pathol.	6. 最初と最後の頁 1224-1234
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/PAS.0000000000001512.	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 PD-L1陽性大腸癌細胞は幹細胞様表現型を示し、特徴的な遺伝子発現、高悪性形質を示す
2. 発表標題 稲熊真悟、上木あかね、小村理行、加藤寛之、内木綾、高橋智
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 稲熊真悟、上木あかね、小村理行、加藤寛之、内木綾、高橋智
2. 発表標題 PD-L1陽性大腸癌細胞は幹細胞様表現型を示し、特徴的な遺伝子発現、高悪性形質を示す
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲熊真悟、長野愛矢、上木あかね、小村理行、加藤寛之、内木綾、高橋智
2. 発表標題 PBKは大腸癌細胞の増殖を促進させる一方で、Eカドヘリンを安定化させ、浸潤・遊走を抑制する
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 稲熊真悟、長野愛矢、小村理行、加藤寛之、内木綾、高橋智
2. 発表標題 PBKは大腸癌細胞の増殖を促進させる一方で、Eカドヘリンを安定化させ、浸潤・遊走を抑制する
3. 学会等名 日本癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 長野愛矢、中尾健寿、内木綾、笠井謙次、稲熊真悟、高橋智
2. 発表標題 大腸癌細胞におけるPBK発現は大腸癌患者の予後良好因子である
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2021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
研究協力者	高橋 智 (Takahashi Satoru)		

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	笠井 謙次 (Kasai Kenji)		
研究協力者	春日井 邦夫 (Kasugai Kunio)		
研究協力者	太田 明伸 (Ota Akinobu)		
研究協力者	兵頭 寿典 (Hyodo Toshinori)		

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