

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：33916

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08968

研究課題名(和文) 不均一な乳がんの特異的な腫瘍抗原の同定と免疫細胞活性化メカニズムの解明

研究課題名(英文) Identification of tumor antigens that activate immune responses in heterogeneous breast cancers

研究代表者

有馬 好美 (Arima, Yoshimi)

藤田医科大学・がん医療研究センター・客員准教授

研究者番号：20309751

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：腫瘍内不均一性を有する難治性乳がんの根治を目指した免疫治療法のための分子機構を解明するため、免疫系を含め腫瘍の微小環境を反映したマウスがんモデルを構築した。肺腺がんマウスモデルを基盤として、がん周辺微小環境によって肺がん細胞がsolid型からacinar型へと変化する現象が、がんの不均一性に寄与することを見出した。胆管がんマウスにおいて形成された腫瘍組織は、がん細胞の他に線維芽細胞や免疫細胞を含む間質に富んだ不均一な組織であり、ヒト胆管がんの病理組織像に酷似していた。また、不均一な腫瘍組織内において、がん細胞と線維芽細胞の相互作用が腫瘍免疫抑制に関わる可能性について考察し報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がんはゲノム的にも形質的にも多様であり、異なる性質を持つ不均一ながん細胞の集団と、その微小環境で構成される複雑な組織である。がんの不均一性は、がんのさらなる悪性を誘導し、治療を困難にする要因と考えられており、また、不均一な腫瘍組織内でのがん細胞と線維芽細胞の相互作用が腫瘍免疫抑制に関与すると考えられている。本研究によって構築したマウスモデルに形成された腫瘍組織は、ヒトの腫瘍組織の病理像と酷似しており、免疫系を含め腫瘍の微小環境を反映したよりヒトに近いマウスモデルである。このマウスモデルを基盤として、乳がんの根治につながる免疫治療法のための分子基盤および分子機構が解明できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Intratumor heterogeneity is a critical factor in cancer progression and therapeutic resistance. To clarify the molecular mechanisms of immunotherapies aimed at eradicating breast cancer, we established various mouse models that reflect the tumor microenvironment (TME), including the immune system. Based on our lung adenocarcinoma mouse models, we found that the TME induced solid-to-acinar transition (SAT) in lung cancer cells and that SAT contributes to tumor heterogeneity. The tumor tissues that formed in our cholangiocarcinoma mouse models were heterogeneous tissue rich in stroma containing fibroblasts and immune cells in addition to cancer cells, and is very similar to the histopathological features of human cholangiocarcinoma. We also reported that the interactions between cancer cells and cancer-associated fibroblasts are involved in tumor immunosuppression in heterogeneous tumor tissues.

研究分野：腫瘍生物学

キーワード：がんの不均一性

## 1. 研究開始当初の背景

がんと診断された時点でその腫瘍塊はすでに均一な細胞集団ではなく、不均一な形質を持った細胞で構成されており、これをがんの不均一性と呼ぶ。そして、がんの不均一性こそががんの治療を困難にする要因であると認識されるようになってきた。がんの不均一性は細胞レベルでゲノムの多様性および形質的な多様性の混合によって生じており、さらに、がん周辺微小環境や治療などによっても誘導され、がんをより複雑にしている。実際の乳がん臨床サンプルにおいて、がん組織を顕微鏡下で観察した際に見られる病理組織像(形態)の不均一性は最も実感できるものであり、上皮細胞マーカーが陽性であるがん細胞と、間葉系細胞のマーカーが陽性であるがん細胞とが同一腫瘍内に混在していることがある。さらに、腫瘍内には、線維芽細胞、血管内皮細胞、免疫細胞、様々な細胞外成分が存在する。多様な細胞を含有するがんは、臨床的にも悪性度が高く、治療抵抗性を示すと推測される。がんの不均一性がどのような分子機序でがんの治療抵抗性、特に腫瘍免疫抑制に関与するか解明できれば、今後の乳がん治療に大きく貢献できると考えた。

## 2. 研究の目的

がんはゲノム的にも形質的にも多彩であり、異なる性質を持つ不均一ながん細胞の集団と、その微小環境で構成される複雑な組織であることが知られている。腫瘍内不均一性は、がんのさらなる悪性化を誘導し、治療を困難にする要因となるため、治療抵抗性を示す不均一ながんに対する新たな治療戦略の開発が望まれている。また、近年、さまざまながんに対して世界的に免疫治療が行われるようになり、予後が飛躍的に改善される患者がいる一方で不応例および抵抗性獲得症例が報告されており、それらの症例に対する新規治療法の開発は喫緊の課題となっている。不均一な腫瘍組織内においては、異なる性質を持つがん細胞間の協調メカニズムに加え、がん細胞とその周辺微小環境との相互作用が、腫瘍免疫抑制状態を引き起こす可能性がある。そこで、がんの不均一性が腫瘍免疫抑制に関わる可能性について、ヒトの腫瘍組織により近いモデルを構築し、乳がんの根治を目指した免疫治療法のための分子機構を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

これまでに、ヒト由来の異なる2種類のトリプルネガティブ乳がん細胞株を混合して、免疫不全マウスの乳腺組織に移植することによって不均一ながん組織を構築した。この xenograft (異種移植) マウスモデルを基盤として、よりヒトに近い腫瘍免疫系を反映したシンジェニック(同系移植) マウスモデルの構築を行った。これは、3次元培養した tumor-initiating cells を免疫系が保たれた同系マウスへ移植し腫瘍を形成させるものであり、免疫細胞などのがん周辺微小環境とがん細胞との相互作用を解析することが可能である。構築したシンジェニックマウスモデルに形成された腫瘍組織を解析することによって、腫瘍内の不均一性が腫瘍免疫抑制に関与する可能性について検討した。

## 4. 研究成果

よりヒトに近い腫瘍免疫系を反映したシンジェニック(同系移植) マウスモデルとして、肺腺がんマウスモデルおよび胆道がんマウスモデルを構築した。乳がんについては tumor-initiating cells を樹立できた。本研究によって構築したシンジェニックマウスモデルに形成された腫瘍組織は、ヒトの腫瘍組織の病理像と酷似しており、免疫系を含め腫瘍の微小環境を反映したマウスモデルであるため、免疫細胞などのがん周辺微小環境とがん細胞との相互作用を解析することが可能である。このモデルは、CDX (cell line-derived xenograft) や PDX (patient-derived xenograft) に代わる、もしくは補完可能な非臨床実験モデルとなりうる可能性がある。

本研究期間内に、がん周辺微小環境によって肺がん細胞が solid 型から acinar 型へと変化し、この現象が肺腺がんの病理組織学的な不均一性に寄与する可能性について報告した。これらは構築した肺腺がんシンジェニックマウスモデルにおいても確認できた。また、構築した胆管がんシンジェニックマウスモデルにおいて形成された腫瘍組織は、マーカー染色の異なるがん細胞集団の他に、線維芽細胞や免疫細胞を含む間質に富んだ不均一な腫瘍組織であり、ヒト胆管がんの病理組織像に酷似していた。そこで、マウスとヒトの腫瘍組織の H&E 染色画像を用いて機械学習分析を行い、構築したマウスの腫瘍とヒト胆管がんの類似性について報告した。さらに、不均一な腫瘍組織内において、がん細胞と線維芽細胞の相互作用が腫瘍免疫抑制に関わる可能性について考察し報告した。

免疫染色およびフローサイトメトリーの結果から、構築したマウス胆管がんの腫瘍組織は免疫抑制状態であったことから、がんの不均一性が免疫抑制状態を引き起こすと考えられた。構築したマウスモデルを基盤として、乳がんの根治につながる免疫治療法のための分子基盤および

分子機構が解明できる可能性がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Inoue Haruki, Aimoto Eriko, Kasuga Akiyoshi, Tanaka Haruto, Iwasaki Aika, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 10
2. 論文標題 Pixel-Level Clustering of Hematoxylin-Eosin-Stained Sections of Mouse and Human Biliary Tract Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 3133 ~ 3133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biomedicines10123133	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 Harigai Ritsuko, Sato Ryo, Hirose Chikako, Takenouchi Toshiki, Kosaki Kenjiro, Hirose Takanori, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 14
2. 論文標題 Mutation of PTPN11 (Encoding SHP-2) Promotes MEK Activation and Malignant Progression in Neurofibromin-Deficient Cells in a Manner Sensitive to BRAP Mutation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2377 ~ 2377
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers14102377	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 Arima Yoshimi, Matsueda Satoko, Saya Hideyuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Significance of Cancer-Associated Fibroblasts in the Interactions of Cancer Cells with the Tumor Microenvironment of Heterogeneous Tumor Tissue	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 2536 ~ 2536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers15092536	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 Sato Ryo, Imamura Kosuke, Semba Takashi, Tomita Yusuke, Saeki Sho, Ikeda Koei, Komohara Yoshihiro, Suzuki Makoto, Sakagami Takuro, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 81
2. 論文標題 TGF Signaling Activated by Cancer-Associated Fibroblasts Determines the Histological Signature of Lung Adenocarcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 4751 ~ 4765
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-3941	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 Semba Takashi, Sato Ryo, Kasuga Akiyoshi, Suina Kentaro, Shibata Tatsuhiro, Kohno Takashi, Suzuki Makoto, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 12
2. 論文標題 Lung Adenocarcinoma Mouse Models Based on Orthotopic Transplantation of Syngeneic Tumor-Initiating Cells Expressing EpCAM, SCA-1, and Ly6d	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 3805 ~ 3805
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers12123805	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 Kasuga Akiyoshi, Semba Takashi, Sato Ryo, Nobusue Hiroyuki, Sugihara Eiji, Takaishi Hiromasa, Kanai Takanori, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 112
2. 論文標題 Oncogenic KRAS <sup>2</sup> expressing organoids with biliary epithelial stem cell properties give rise to biliary tract cancer in mice	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1822 ~ 1838
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14703	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 Arima Yoshimi, Nobusue Hiroyuki, Saya Hideyuki	4. 巻 111
2. 論文標題 Targeting of cancer stem cells by differentiation therapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2689 ~ 2695
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14504	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 Hosonaga Mari, Saya Hideyuki, Arima Yoshimi	4. 巻 39
2. 論文標題 Molecular and cellular mechanisms underlying brain metastasis of breast cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer and Metastasis Reviews	6. 最初と最後の頁 711 ~ 720
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10555-020-09881-y	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5件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 有馬好美
2. 発表標題 CDK4/6阻害剤によるがん細胞制御
3. 学会等名 第30回日本乳癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有馬好美
2. 発表標題 Approach to identifying the molecular mechanisms of refractory heterogeneous cancers based on mouse models
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 有馬好美
2. 発表標題 PTPN11変異はRas/MAPK経路を活性化してNF1欠損細胞の悪性進行をもたらす、BRAP変異によって抑制される
3. 学会等名 第13回日本レックリングハウゼン病学会学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 有馬好美
2. 発表標題 CDK4/6阻害剤によるがん細胞制御
3. 学会等名 第18回日本臨床腫瘍学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 有馬好美
2. 発表標題 神経線維腫に対する治療薬の開発
3. 学会等名 第11回日本レックリングハウゼン病学会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

慶應義塾大学医学部先端医科学研究所遺伝子制御研究部門ホームページ  
<https://www.genereg.jp/html/staff/AssProf/Arima/>

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