

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08321

研究課題名(和文) 皮膚癌の微小環境における免疫逃避と進展に関わる細胞外基質の役割の解明

研究課題名(英文) The role of extracellular matrix in immune escape and progression in the skin cancer microenvironment

研究代表者

尾山 徳孝 (Oyama, Noritaka)

福井大学・学術研究院医学系部門・准教授

研究者番号：30332927

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)：ECM1欠損マウスに皮膚由来癌細胞株(有棘細胞癌、黒色腫)を植え付け、癌細胞の局所維持と進展機構を解析した。コンベンショナルな手法でECM1遺伝子欠損マウスを作成したが、全例が胎生期に死亡した。この結果は、ECM1が単なる疾患感受性遺伝子ではなく、発生学的にも重要な分子であることが確認された。次に、コンディショナルKO法による臓器特異的なECM1欠損状態を作成、さらに培養皮膚線維外細胞をsiRNA法でECM1遺伝子のみを欠損させて解析した。

ECM1のKOヒトモデルである皮膚粘膜ヒアリノーシスは、胎児致死や生命予後に影響を及ぼさない遺伝病であり、本結果は種間の異なるECM1機能を示していた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果が癌間質分子を標的とする創薬に結び付いた際には、癌自体を標的とする既存の抗癌剤との併用も可能な作用機序である点からも、相乗効果や耐性の獲得を一層回避できる治療戦略を構築できる可能性が高く、学術的にも社会的にも貢献度の高い研究テーマであると考えている。

研究成果の概要(英文)：ECM1-deficient mice were transplanted with skin-derived cancer cell lines (spinous cell carcinoma and melanoma) to analyze the mechanisms of their local maintenance and progression. Conventional methods were used to generate ECM1 gene-deficient mice, but all of them died during the embryonic period. This result suggests that ECM1 is not only a disease susceptibility gene but also a developmentally important molecule. We next created an organ-specific ECM1-deficient state by a conditioned KO method, and further analyzed cultured dermal fibroblasts treated by the siRNA method targeting ECM1 gene alone.

The KO human model for ECM1 gene, mucocutaneous hyalinosis, is a genetic disease without fetal lethality or prognostic value for life. The present results indicate a differential, unidentified ECM1 function between human and mice.

研究分野：皮膚腫瘍免疫

キーワード：細胞外基質 皮膚癌微小環境 黒色腫 有棘細胞癌 ECM1

1. 研究開始当初の背景

皮膚の発癌と進展には、癌周辺環境の炎症や細胞外基質ネットワークのバランスが関与している。この微小環境に依存する癌制御機構は、薬剤の臓器親和性や病変部への分布、耐性の獲得に大きく影響する。そもそも、皮膚の癌組織は単一ではなく、線維芽細胞、血管内皮細胞、免疫担当細胞などの様々な細胞集団と、多彩な細胞外基質を含んだ間質で構成される。この微小環境は最小単位として癌を拒絶する一方、抑制系の免疫応答が併存し、両者のバランスの破綻が発癌の成立やその後の浸潤・転移に重要であることが分かってきた。特に間質が豊富な皮膚癌は周辺微小環境の影響を受けやすい。つまり癌周囲の微小環境はダイナミックに変化しながら、逃避する癌を制御しようとする最小ユニットを形成する。特に癌周辺間質は、病勢マーカーや薬剤耐性の皮膚癌に対する新たな治療戦略になる可能性を秘めた集合体である。

本研究では、細胞外基質の1つであるECM1が皮膚癌の周辺微小環境を整え、癌の多彩な間葉転換と免疫回避能の制御に及ぼす役割を解析する。さらに細胞外基質の機能変化を発端とする新たな癌寛容機構の解明を目指す。ECM1欠損マウスの皮膚に種々の担癌状態を誘導し、癌の生着能と進展様式を評価する。癌微小環境の細胞外基質と免疫担当細胞の変化を網羅的に解析し、特定の細胞外基質に依存する癌の免疫応答と進展の機序を理解する。これらをヒト皮膚癌と比較し、ECM1が皮膚の老化発癌を制御する癌間質マスター分子である可能性を追求し、周辺間質分子の標的治療を視野にいたした臨床応用の基盤の構築を目指す。

上記の解明に向け、ECM1依存的な皮膚癌の運動機能転換および免疫回避能と連動する癌微小環境の変化を解析し、ECM1の癌間質制御分子としての可能性を検討する。さらにECM1の挙動と連動する細胞外基質を特定し、これらを標的とした新たな皮膚癌の治療応用への展開を模索する。

2. 研究の目的

皮膚癌のECM1依存的な運動機能転換および免疫回避能と連動する癌微小環境の変化を解析し、ECM1の癌間質制御マスター分子としての可能性を検討する。さらにECM1の挙動と連動する細胞外基質を特定し、これを標的とする新たな皮膚癌の治療応用へ展開させるべく、根幹となる2つの目標を設定した。

皮膚の有棘細胞癌や黒色腫は、周辺微小環境の癌間連線維芽細胞が産生する増殖因子や血管新生因子によって浸潤や転移が促進したり、間質内のTリンパ球と癌細胞上のPD-1リガンドとの相互作用、さらに制御性T細胞の活性化で免疫逃避能を獲得する。癌微小環境はダイナミックに変化しながら、逃避する癌を制御しようとする最小ユニットであるが、特に間質は病勢マーカーや薬剤耐性の皮膚癌に対する新たな治療戦略になる可能性を秘めている。この解明に向け、細胞外基質の1つであるECM1に依存する皮膚癌の運動機能転換および免疫回避能と連動する癌微小環境の変化を解析し、ECM1の癌間質制御分子としての可能性を検討する。さらにECM1の挙動と連動する細胞外基質を特定し、これらを標的とした新たな皮膚癌の治療応用への展開を模索することを目的とする。

3. 研究の方法

1) ECM1 が惹起する皮膚癌細胞の間葉転換レベルと癌微小環境の構成変化の解析

ECM1 欠損マウス皮膚へ上皮系癌細胞による担癌状態を誘導し、ECM1 機能に依存する i) 皮膚癌細胞の生着、浸潤、転移能の違い、ii) 癌細胞自体の機能的運動転換(EMT ~ MAT)の獲得と可塑性、iii) 介在する癌微小間質の構成変化(細胞外基質や免疫担当細胞のレパトア)を網羅的に解析する。

2) 患者皮膚の癌微小環境と相同する細胞外基質の同定と病勢との連鎖機構の解析

ヒト皮膚有棘細胞癌と黒色腫の病変部間質で発現変化のある細胞外基質の中から、ECM1 の発現低下と呼応する候補分子を特定する。癌の進展イベントにおいて、ECM1 が周囲の微小間質構成に与える病態と臨床応用への利便性を評価する。

上記の具体的な手法として、年度ごとに以下の方法で研究を遂行していく。

令和6年度：ECM1 機能不全マウスを用いた皮膚癌細胞の局所維持と進展機構の解析

コンディショナルノックアウト法で作製した ECM1 遺伝子欠損マウスおよび中和抗体投与で誘導した ECM1 機能不全マウスの皮膚へ、異なる皮膚癌細胞株(有棘細胞癌株：HSC シリーズ, A431, DJM-1/黒色腫細胞株：HMU-1, A375, DEOC-1)を接種し、癌細胞の生着度、局所での浸潤能や転移能に寄与する EMT や MAT の運動機能転換レベルの違い(Rac, RhoA/ROCK シグナルの活性化など)、生存率を評価する。

令和7年度：ECM1 依存的な癌の挙動に関わる周辺微小間質の構成変化の検討

上述した ECM1 機能不全担癌マウスの皮膚と転移組織における間質エフェクター細胞(NK 細胞、細胞障害性 T 細胞、腫瘍随伴マクロファージ、癌関連線維芽細胞)の数的変化、組織内の分布を検討する。Laser microdissection 法で切り出した癌微小環境ユニットの蛋白変化を網羅的にプロテオーム解析し、癌の生着や転移イベントに感受性の高い間質分子を同定する。

令和8年度：癌環境特異的な間質分子のバイオマーカー/治療標的の有用性の評価

上記で同定した細胞外基質プロファイルをヒト皮膚有棘細胞癌、黒色腫患者の病変部皮膚および転移巣より抽出した蛋白発現と比較し、ECM1 の発現低下と呼応して発現変化する分子を絞り込む。これを皮膚癌の臨床経過における進展イベントと照らし合わせ、ECM1 自体ならびにその発現レベルと並走する他の皮膚癌間質バイオマーカーの有益性を評価する。

4. 研究成果

ECM1 欠損マウスに皮膚由来癌細胞株(有棘細胞癌、黒色腫)を植え付け、癌細胞の局所維持と進展機構を解析した。コンベンショナルな手法で ECM1 遺伝子欠損マウスを作成したが、全例が胎生期に死亡した。この結果は、ECM1 が単なる疾患感受性遺伝子ではなく、発生学的にも重要な分子であることが確認された。次に、コンディショナル KO 法による臓器特異的な ECM1 欠損状態を作成し、これと並行して培養皮膚線維外細胞を siRNA 法で ECM1 遺伝子のみを欠損させて解析した。

ECM1 の KO ヒトモデルである皮膚粘膜ヒアリノーシスは、胎児致死や生命予後に影響を及ぼさない遺伝病であり、本結果は種間の異なる ECM1 機能を示していた。

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 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Uesugi-Uchida S, Fujisaki M, Sekine S, Takenao C, Oyama N, Hasegawa M.	4. 巻 50
2. 論文標題 Non-episodic angioedema with eosinophilia developing after influenza vaccination: A case report.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 e96-e97
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.16626.	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 Oyama N, Hasegawa M.	4. 巻 6
2. 論文標題 Lichen Sclerosus: A Current Landscape of Autoimmune and Genetic Interplay.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Diagnostics	6. 最初と最後の頁 3070
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/diagnostics12123070.	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 Hasegawa T, Oyama N, Kasamatsu H, Chino T, Taga M, Hasegawa M.	4. 巻 49
2. 論文標題 Intertriginous erythema associated with enfortumab vedotin, a nectin-4-targeting antibody-drug conjugate, in a case with metastatic urothelial cancer: Immunohistochemical evidence for molecular-targeted eruption.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 e453-e454
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1346-8138.16567.	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 Iino S, Baba N, Hasegawa T, Kasamatsu H, Oyama N, Tokunaga T, Hasegawa M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Retrospective evaluation of the utility of two-step surgery for facial basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Front Surg	6. 最初と最後の頁 915731
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fsurg.2022.915731.	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 Utsunomiya A, Chino T, Kasamatsu H, Hasegawa T, Utsunomiya N, Luong VH, Matsushita T, Sasaki Y, Ogura D, Niwa SI, Oyama N, Hasegawa M.	4. 巻 24
2. 論文標題 The compound LG283 inhibits bleomycin-induced skin fibrosis via antagonizing TGF- signaling.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Arthritis Res Ther.	6. 最初と最後の頁 94
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13075-022-02773-2.	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 Utsunomiya A, Hasegawa M, Oyama N, Asano Y, Endo H, Fujimoto M, Goto D, Ishikawa O, Kawaguchi Y, Kuwana M, Ogawa F, Takahashi H, Tanaka S, Sato S, Takehara K, Ihn H.	4. 巻 31
2. 論文標題 Clinical course of Japanese patients with early systemic sclerosis: A multicenter, prospective, observational study.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Mod Rheumatol	6. 最初と最後の頁 162-170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/14397595.2020.1751408.	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 Hasegawa T, Iino S, Kitakaze K, Kato T, Kabata D, Oyama N, Hasegawa M	4. 巻 48
2. 論文標題 Repigmentation of aging gray hair associated with unrecognized development and progression of amelanotic melanoma of the scalp: A physiological alert underlying hair rejuvenation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 281-283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15881.	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 Yoshida Y, Oyama N, Iino S, Shimizu C, Hasegawa M	4. 巻 48
2. 論文標題 Long-standing refractory hidradenitis suppurativa responded to a brodalumab monotherapy in a patient with psoriasis: A possible involvement of Th17 across the spectrum of both diseases	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Dermatol	6. 最初と最後の頁 916-920
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1346-8138.15807.	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 Kasamatsu H, Chino T, Oyama N, Nakaya T, Hasegawa M	4. 巻 4
2. 論文標題 Bullous pemphigoid receiving a novel long-acting dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4) inhibitor omarigliptin in a patient with type 2 diabetes: A case report	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Cutan Allergy Immunol	6. 最初と最後の頁 89-91
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cia2.12162	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 0件 / うち国際学会 8件)

1. 発表者名 Kentarou NISHIMURA, Noritaka OYAMA, Takumi HASEGAWA, Hiroshi KASAMATSU, Takenao CHINO, Minoru HASEGAWA
2. 発表標題 A serum N-glycan profile: a new candidate biomarker for clinical practice of psoriasis
3. 学会等名 12th Asian Dermatological Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 Hiroshi Kasamatsu, Takenao Chino, Takumi Hasegawa, Natsuko Utsunomiya, Akira Utsunomiya, Noritaka Oyama, Masami Yamada, Minoru Hasegawa
2. 発表標題 Antifibrotic effects of a calpain inhibitor ALLN on bleomycin-induced systemic sclerosis model via antagonizing TGF- β /Smad signaling pathway.
3. 学会等名 51st European Society for Dermatological Research (国際学会)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 Hiroshi Kasamatsu, Takenao Chino, Takumi Hasegawa, Natsuko Utsunomiya, Akira Utsunomiya, Noritaka Oyama, Masami Yamada, Minoru Hasegawa
2. 発表標題 Blockade of calpain enzymatic activity exerts anti-fibrotic effects in bleomycin-induced systemic sclerosis model mice.
3. 学会等名 47th Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2022年 ~ 2023年

1. 発表者名 西村健太郎、尾山徳孝、長谷川 巧、笠松宏至、知野剛直、長谷川 稔、徳永貴広、東 清史、斎藤幸一、山田佳太
2. 発表標題 血清中N結合型糖鎖プロファイル分析による 乾癬の新規バイオマーカーの探索
3. 学会等名 第50回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Hiroshi Kasamatsu, Noritaka Oyama, Minoru Hasegawa, Youhei Oku, Genki Inoue, Makiko Kimura, Masataka Kanno, Takumi Kawakami, Hajime Ohta, Manabu Yoneshima
2. 発表標題 A rare case of clinically aggressive pancreatic panniculitis caused by an occult neuroendocrine tumor in the corresponding organ
3. 学会等名 6th Eastern Asia Dermatological Congress (国際学会)
4. 発表年 2022年～2023年

1. 発表者名 Kasamatsu H, Chino T, Hasegawa T, Utsunomiya N, Utsunomiya A, Oyama N, Yamada M, Hasegawa M
2. 発表標題 A calpain inhibitor ALLN attenuates bleomycin-induced skin fibrosis in a mice model
3. 学会等名 46th Annual Meeting, Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kasamatsu H, Chino T, Hasegawa T, Utsunomiya N, Utsunomiya A, Oyama N, Yamada M, Hasegawa M
2. 発表標題 A calpain inhibitor ALLN alleviates bleomycin-induced skin fibrosis via antagonizing TGF- β /Smad signaling pathway
3. 学会等名 79th Annual Meeting, Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Utsunomiya A, Luong VH, Chino T, Oyama N, Matsushita T, Ishii N, Imai T, Hasegawa M
2. 発表標題 Blockade of CX3CL1-CX3CR1 pathway inhibits mouse sclerodermatous chronic graft-versus-host disease model
3. 学会等名 46th Annual Meeting, Japanese Society for Investigative Dermatology (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Utsunomiya A, Luong VH, Chino T, Oyama N, Matsushita T, Ishii N, Imai T, Hasegawa M
2. 発表標題 Anti-fractalkine monoclonal antibody therapy ameliorates murine sclerodermatous chronic graft-versus-host disease
3. 学会等名 50th Annual Meeting, European Society for Dermatological Research (国際学会)
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

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