

令和 5 年 6 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16768

研究課題名（和文）卵巣癌微小環境における上皮間葉転換の免疫代謝への役割

研究課題名（英文）Effects of Epithelial-Mesenchymal Transition on Immunometabolism in the Ovarian Cancer Microenvironment

研究代表者

滝 真奈 (TAKI, MANA)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：20898077

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：卵巣癌をモデルとし、腫瘍細胞の上皮間葉転換が腫瘍微小環境における免疫細胞の代謝にどのような影響を及ぼすか検索することを目的とした。

免疫細胞として、Snail発現低下腫瘍とコントロールで有意な差を示した骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)の顆粒球系であるPMN-MDSCに着目した。

セルソーターを用いてマウス腫瘍からPMN-MDSCの抽出を行い、RNA-seqで遺伝子発現量の変化について検索したところ、IL-10などの炎症性の免疫に関連する遺伝子のみ発現に差異を認めた。その中で最も差を認めたプロスタグランジン受容体の一つであるEP1に着目し、PMN-MDSC特有の受容体の可能性に関して探索している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵巣癌の免疫治療は臨床試験で有用な結果を得られず、現在模索中である。今回卵巣癌の免疫抑制で重要な働きをきたす骨髄抑制免疫抑制細胞に関して探索を行った。今回の研究成果で骨髄抑制免疫抑制細胞の新たな受容体の存在の可能性を検討しえた。骨髄抑制免疫抑制細胞を抑制することが可能となれば、卵巣癌の治療がさらに有用になると考える。

研究成果の概要（英文）：Using ovarian cancer as a model, we aimed to search for how epithelial-mesenchymal transition of tumor cells affects immune cell metabolism in the tumor microenvironment.

As immune cells, we focused on PMN-MDSCs, the granulocyte lineage of bone marrow-derived immunosuppressed cells (MDSCs), which showed significant differences between Snail-expressing tumors and controls.

We extracted PMN-MDSCs from mouse tumors using a cell sorter and searched for changes in gene expression levels by RNA-seq, and found that only genes involved in inflammatory immunity, such as IL-10, showed differences in expression. We focused on EP1, one of the prostaglandin receptors that showed the most difference, and are exploring the possibility that it is a receptor specific to PMN-MDSCs.

研究分野：婦人科腫瘍

キーワード：Ovarian cancer Tumor microenvironment MDSC tumor immunity

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本研究の目的は、卵巣癌微小環境における上皮間葉転換 (EMT: Epithelial-Mesenchymal Transition) による代謝変化が免疫細胞の代謝と抗腫瘍作用に与える影響の解明と、それによる難治性上皮性卵巣癌の新規治療アプローチの探索を目的として開始した。

上皮性卵巣癌は進行期で発見されることが多く、長期予後は極めて不良で、新規治療法の開発が求められている。とくに EMT が亢進している腫瘍では予後が不良であり、申請者はこれまで EMT と抗腫瘍免疫の関係について研究し、EMT 転写因子 Snail の発現が高い卵巣癌が CXCR2 リガンドを分泌し、細胞傷害性 T 細胞の機能を抑制する骨髄由来免疫抑制細胞 (Myeloid-derived suppressor cell: MDSC) を腫瘍局所に誘導し、抗腫瘍免疫を抑制していることを解明した (Taki M, et al. Nature commun, 2018)。しかし EMT 亢進腫瘍を抗 MDSC 抗体である抗 Ly6G 抗体で治療したところ、腫瘍内の MDSC を減少させたものの腫瘍増生の部分的な抑制にとどまった。抗腫瘍免疫の主役である活性化 CD8 陽性 T 細胞は MDSC を減少させても増加はしなかったため、T 細胞自体の抗腫瘍作用を改善することがさらに卵巣癌治療に重要であると考えた。そこで免疫細胞の代謝に着目し、T 細胞および MDSC の代謝が EMT の影響を受けて変化し、免疫抑制を即心している可能性を検討した。

### 2. 研究の目的

卵巣癌細胞の EMT 自体が癌細胞の代謝にどのような影響を及ぼすか検討

EMT の発現に差がある腫瘍から抽出した T 細胞および MDSC の発現遺伝子の解析

### 3. 研究の方法

卵巣癌細胞の EMT がどのように癌細胞自体の代謝に影響を与えるか検討した。EMT の代表的な転写因子である Snail の発現低下させたマウス卵巣癌細胞株およびコントロール細胞株の解糖系を検索した。

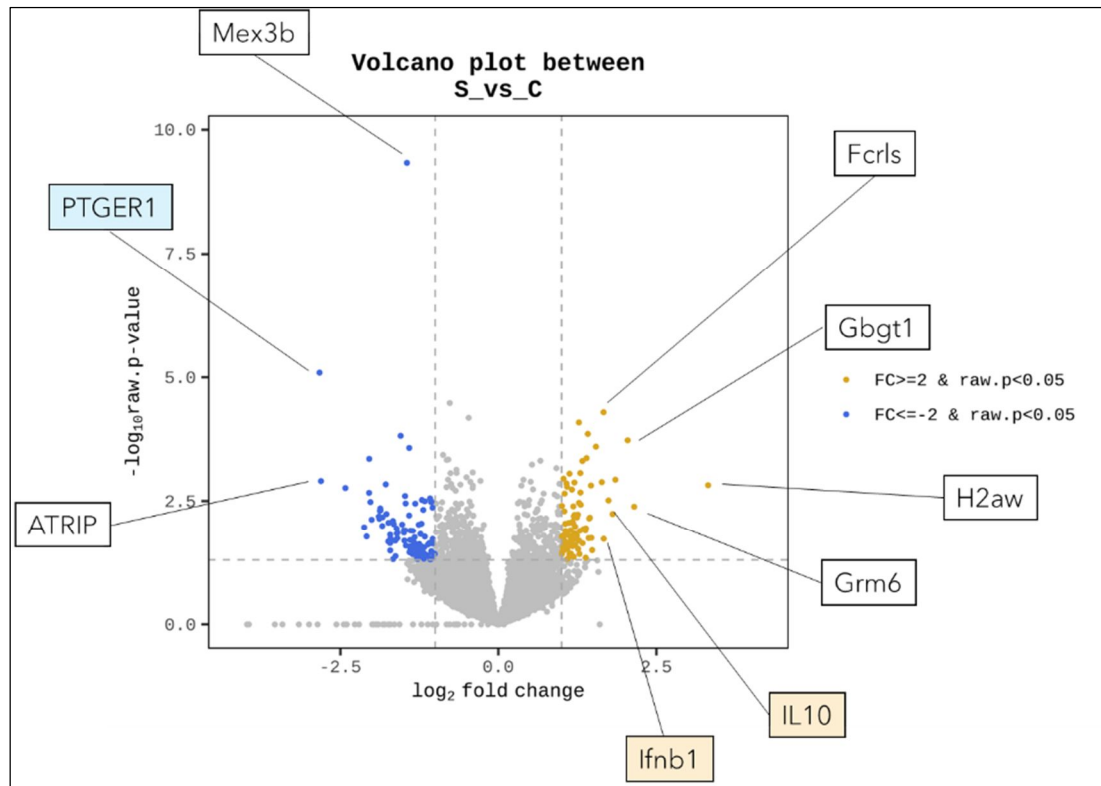
Snail 発現低下させたマウス卵巣癌細胞株から作成したマウス腫瘍およびコントロールマウス腫瘍から T 細胞および MDSC を抽出し、RNA-seq 解析を行い、代謝系遺伝子発現の変化を確認した。

### 4. 研究成果

Snail 発現低下細胞株とコントロールで解糖系の変化を確認したところ、Snail 発現低下細胞株では糖代謝が抑制させることが分かった。TCGA より卵巣高異型度漿液性癌で Snail の発現と相関があり、EMT が亢進しているタイプの腫瘍で有意に発現が高い遺伝子として GLUT3 を抽出した。RT-PCR にて検索したところ、Snail 発現低下細胞株では GLUT3 の RNA 発現が低下しており、Snail が GLUT3 と何らかの関連があり、解糖系の変化をもたらしていることが示唆された。

さらに免疫細胞の代謝を検討した。当初は免疫細胞を抽出し解糖系の検索および GC-MS/MS にて代謝物の検索を行うこととしていた。しかし腫瘍内の免疫細胞の数が少なく、さらに網羅的に代謝物の検索を行うことが技術的に困難であったため、まず RNA-seq 解析を行い、どの代謝経路に Snail が影響を及ぼすかを探索することとした。

セルソーターにてマウス腫瘍から Ly6G 陽性 PMN-MDSC を抽出した。PMN-MDSC は Snai1 発現低下腫瘍で低下することが以前の研究で分かっていたため、PMN-MDSC の発現遺伝子の差を検索した。



すると代謝系の遺伝子に変化はなく、免疫に関連のあるサイトカインなどの遺伝子だけに差を認めた。Snai1 発現低下細胞株から抽出した PMN-MDSC では免疫抑制作用のある IL10 発現が増加していた。これは PMN-MDSC の腫瘍内の数が低下することに対して、免疫抑制環境を保とうとする negative feedback の一つと考えられた。

ここで PTGER1 (EP1) に着目した。これは EP 受容体の一つであり、プロスタグランジン E2 (PGE2) の代表的な受容体である。EP2 および EP4 は免疫細胞の受容体として着目されており、研究が進んでいるが、EP1 は検討されていない。ここで EP1 に関して探索を行うこととした。

Snai1 発現低下させたマウス卵巣癌細胞株の細胞培養上清内の PGE2 濃度を検討した。すると、PGE2 濃度に差を認めなかった。つまり癌細胞からの PGE2 産生に影響がなく、別因子で EP1 発現に差が出たと考えられた。今後マウス腫瘍内の PGE2 濃度を計測し、癌細胞以外に腫瘍微小環境を構成する血管内細胞や線維芽細胞などからの産生がないかを検討していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔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
---------	---------