

第15回 In vivo 実験医学シンポジウム

# がん微小環境の 複雑性への挑戦

## 抄録集

オーガナイザー

**佐谷 秀行** 藤田医科大学  
がん医療研究センター

**大島 正伸** 金沢大学がん進展制御研究所、ナノ生命科学研究所  
消化器がん発生と悪性化進展を促進する炎症性微小環境

**前田 優香** 国立がん研究センター研究所 腫瘍免疫研究分野  
がんの免疫微小環境と治療抵抗性の関係

**末松 誠** 公益財団法人実験動物中央研究所  
Polysulfideによるがん間質反応と薬剤耐性

**高橋 暁子** 公益財団法人がん研究会 がん研究所 細胞老化研究部  
エピゲノム異常を指標としたがん微小環境の複雑性の理解

**佐谷 秀行** 藤田医科大学がん医療研究センター  
治療抵抗性がんに対する新戦略

**星野 歩子** 東京大学 先端科学技術研究センター  
エクソソームを介したがん転移機構：  
エクソソームによるがん微小環境変化と診断マーカー



2023 **11/16** 木

13:00～17:15 シンポジウム  
17:30～19:00 意見交換会

会場 学士会館 シンポジウム 210号室 意見交換会 320号室

# 消化器がん発生と悪性化進展を促進する炎症性微小環境

大島 正伸

金沢大学がん進展制御研究所、  
ナノ生命科学研究所

非ステロイド抗炎症薬（NSAIDs）を長期服用する集団では、大腸がんをはじめとし、消化器がんの発生および死亡率が低下する。NSAIDsはCOX-2の活性阻害によりPGE<sub>2</sub>産生を抑制し、抗炎症作用を示す。すなわち、COX-2/PGE<sub>2</sub>経路による炎症性微小環境が、大腸がん発生の初期過程に重要な役割を果たすと考えられ、実際にApc遺伝子変異マウスに発生する腸管ポリープ数は、COX-2遺伝子欠損により顕著に低下した。このような微小環境に依存した腫瘍形成が、浸潤・転移などの悪性化進展過程でも見られるのか解析するため、複数の大腸がんドライバー遺伝子Apc、Kras、Tgfbr2、Trp53に変異を蓄積したマウス腸管腫瘍オルガノイドを作製し、脾臓移植による肝転移モデルを作製した。4重変異を導入したAKTPオルガノイド細胞を脾臓移植すると、肝臓の類洞（sinusoid）に到達した腫瘍細胞は塞栓を形成し、続いて周囲の肝星細胞（hepatic stellate cells, HSC）が活性化して増殖し、腫瘍細胞周囲に線維性微小環境が形成された。その後、AKTP細胞は高度な間質線維化をともなう転移巣をする。HSC活性化にはTGF- $\beta$ シグナルが重要な役割を果たす。そこで、TGF- $\beta$ 受容体遺伝子欠損マウスの脾臓にAKTP細胞を移植すると、線維性反応は誘導されず、転移巣形成も顕著に抑制された。一方で、転移能のない2重変異を導入したAPオルガノイド細胞を同じように脾臓移植しても、肝類洞での線維性反応は誘導されず、やがて腫瘍細胞は消失した。しかし、大変興味深いことに、AKTP細胞とAP細胞を混在させて脾臓移植すると、AKTPに混ざってAP細胞も肝転移巣を形成した。以上の結果は、悪性化形質を獲得したがん細胞がTGF- $\beta$ シグナルを介して形成する、線維性転移ニッチが転移巣形成に重要である可能性を示している。将来的には、線維性ニッチ形成の抑制による大腸がんの転移予防・治療戦略が期待される。

# がんの免疫微小環境と 治療抵抗性の関係

前田 優香

国立がん研究センター研究所  
腫瘍免疫研究分野

制御性T (Treg) 細胞は、自己に対する免疫応答や過剰な免疫応答を抑制し、免疫恒常性の維持に重要な働きをしている。一方で、がん免疫では抗腫瘍免疫応答を抑制して発がんやがんの進展に関わっていることが知られている。がん組織に多数存在する活性化Treg細胞はケモカイン受容体CCR4が高発現しているため、抗CCR4モノクローナル抗体MogamulizumabがTreg細胞治療として有望である。我々は第Ib相臨床試験(NCT01929486)に登録された患者サンプルを用いてMogamulizumab投与前後の包括的な免疫学的変化を検討した。Mogamulizumab投与により期待通り活性化Treg細胞は減少したにも関わらず、多くの患者で腫瘍縮小等の治療効果は認められなかった。これは、がん免疫療法において抗腫瘍免疫応答に重要な役割を果たすとされるセントラルメモリーCD8<sup>+</sup>T細胞が予想外に減少していることに起因していると考えられた。本臨床試験で患者に投与されたMogamulizumabの用量が過剰であったためにCCR4高発現の活性化Treg細胞とCCR4低発現のセントラルメモリーCD8<sup>+</sup>T細胞を選択して除去できなかったことが示唆された。CCR4の発現レベルに着目して用量を絞り込むことで、セントラルメモリーCD8<sup>+</sup>T細胞に影響を与えることなく、Tregのみを除去できる可能性を見出した。分子標的薬であるMogamulizumabをがん免疫療法として使用可能な新たな治療域を発見し、薬剤の投与量を調節することでTregの選択的除去が可能であることを示し、がん免疫療法の至適用量を考える上で重要な知見を報告した。

分子標的薬を免疫療法として使用する2 in 1治療の概念は、今後分子標的薬を免疫治療薬として拡大していく基盤になると考えられる。血液腫瘍に対して既に承認薬である分子標的薬を固形がん治療へ展開できれば、さまざまなコストもスリムダウンが可能である。治療が必要な患者へいち早く薬剤を提供することも期待できる。本講演ではTregを標的とした新たながん免疫療法の可能性について紹介する。

# Polysulfideによる がん間質反応と薬剤耐性

末松 誠

公益財団法人実験動物中央研究所

がんの代謝システム制御は正常の組織と全く異なるパラダイムで制御されており、Oncometaboliteと呼ばれるマーカー代謝物が多数探索されている。一方病理組織診断には通常Formalin-fixed paraffin-embedded sample (FFPE)が用いられ、核酸やタンパク質の検出には威力を発揮するが、組織の代謝物情報はFFPE処理によりほぼ失われる。凍結組織切片を用いて代謝物を包括的に検出し、解析後のHE染色によってがん細胞と周囲の間質組織の代謝物のプロファイルを行うことによって、がんの微小環境の不均一性を検討するためには通常Imaging MSが用いられる。しかし代謝物のイオン化には高エネルギーのレーザー照射が必要であるため、がんの代謝制御に関わるレドックス代謝物のほとんどは酸化的修飾や分解を受けるため、実態の把握が困難であった。この問題を克服するために我々は近赤外レーザーキャンによりレドックス代謝物を酸化変性させることなく検出する技術として、表面増強ラマンイメージング (SERS imaging) を開発した。ヒトの術後がん組織や生検試料を細切し、「無染色、無標識」でSERS基板上に載せ、切片の表面に存在する代謝物を検出することを可能とした。複数のレドックス代謝物のうち、cystineの代謝により生成されるcysteine persulfideやpolysulfide (PS) は波数480 $\text{cm}^{-1}$ のピークとして画像化できる。PSは低酸素時には局所濃度が増加し、解糖系の活性化によりSerineの前駆物質である3-phosphoglycerateが増加することによって上昇すると考えられている。また微生物もPSの生成系として関与する可能性がある。

卵巣明細胞がん、すい臓がん、乳がんではPSが高値を示し、その強度は患者の術後生存率の低下や侵襲度強さと有意の相関を認めた。PSはcisplatinのような抗がん剤と相互作用することによって、cisplatinによるDNAの構造異常を軽減できるため、PS高値症例は化学療法抵抗性を示す可能性が示唆された。またTriple-negative breast cancerと診断された針生検試料の詳細な解析により、PSはがん細胞集塊よりむしろがん間質において高値を示すことが明らかになった。SERSは極小面積に200 $\text{cm}^{-1}$ から2000 $\text{cm}^{-1}$ までのブロードで大量の信号を検出でき、各種の代謝物の官能基を画像化できることから、AIを駆使することによって、鑑別診断の難しいDCISとInvasive breast cancerを正確に識別できることも明らかになった。講演ではこれらのデータを供覧し、議論を深めたい。

(文献)

1. Yamazoe S, et al. ACS Nano (2014)
2. Shiota M, et al. Nature Communications (2018)
3. Honda K and Hishiki T, et al. Redox Biol (2021)
4. Kubo A and Masugi Y, et al. Antioxidants (2023)

# エピゲノム異常を指標とした がん微小環境の複雑性の理解

高橋 暁子

公益財団法人がん研究会  
がん研究所 細胞老化研究部

細胞老化は生体に加わるさまざまなストレスによって誘導され細胞増殖を停止させることで、重要ながん抑制機構として働いている。しかし、加齢や肥満や感染などの生体に加わるストレスが体内の老化細胞を増加させ、炎症性タンパク質やエクソソームなどの細胞外小胞を分泌するSASP (Senescence-associated secretory phenotype) をおこすことで、周囲の組織に慢性的な炎症を引き起こし、さまざまな加齢性疾患の発症や病態に関与することが近年明らかになりつつある。特にがん微小環境に存在する間質細胞は、放射線療法や化学療法などの治療誘導性のストレスによって細胞内代謝やエピゲノムが変化してSASPをおこし、がん細胞の進展に寄与することが示唆されている。

我々は、がん変異細胞が周囲の正常な上皮細胞によって管腔側へと排除される細胞競合というがん抑制機構が、間質の老化細胞が分泌するSASP因子によって阻害されることを報告した (Igarashi *et al.*, *Nature Commun.*, 2022)。このことは、がんの発症の初期段階において老化細胞ががん変異細胞の生存を促すことで、発がんに関わる可能性を示唆している。また、老化細胞においてはゲノムDNAが不安定化・断片化し、細胞質核酸センサーの活性化を介して炎症性SASP遺伝子群の発現が誘導され、がん細胞の運動能亢進を引き起こす (Takahashi *et al.*, *Nature Commun.*, 2018; Miyata *et al.*, *PNAS*, 2021; Sugawara *et al.*, *Commun. Biol.*, 2022)。このように、がん微小環境に存在する老化間質細胞は、複数のステップでがんの進展に機能することから、老化細胞に選択的に細胞死を誘導するSenolytic薬などが、新しいがんの治療戦略として着目されている。

そこで我々は、乳がんの微小環境に存在する老化細胞に着目し、1細胞解析によってエピゲノムの異常と炎症性遺伝子の発現の関連の解析を行った。その結果、乳がん細胞だけでなく間質の線維芽細胞・血管内皮細胞・免疫細胞においてもエピゲノムと炎症性遺伝子発現の多様性が観察され (Miyata *et al.*, *PNAS*, *in press*)、がん微小環境の複雑性が乳がんの病態に関与している可能性が示唆された。

# 治療抵抗性がんに対する新戦略

佐谷 秀行

藤田医科大学 がん医療研究センター

がん幹細胞は、がん組織の起源となり、その維持を担う細胞である。臨床的に見てがん幹細胞の最も重要な特徴は、種々の治療に抵抗性を示し再発や転移の原因になることである。しかし、その治療抵抗性のメカニズムは多彩かつ複雑である。私たちは、長年にわたるがん幹細胞の特性解析により、治療によって生じるストレスをがん細胞が回避する2つのメカニズムを明らかにした。一つは活性酸素の上昇によって誘導される細胞死、つまりフェロトーシスに対する耐性機構<sup>1-4</sup>である。もう一つは抗がん剤によってもたらされる細胞骨格変化が引き起こす核内因子MKLIの活性化に基づく機構<sup>5-6</sup>である。また、これらのメカニズムはがん細胞外の微小環境の変化に影響を受けることを見出している。更に私たちはそれらの耐性を打破するためにFDAで承認されている既存薬ライブラリーを用いたスクリーニングを行い、効果が高い薬剤を取得することが出来た。本シンポジウムではこれらのがん幹細胞の治療耐性機構を基礎研究データに基づいて解説し、ドラッグリポジショニングを用いた新たな治療戦略を提示したい。

(文献)

1. Ishimoto T, et al. *Cancer Cell* 19: 387-400, 2011
2. Yae T, et al. *Nat Commun* 3: 883, 2012
3. Okazaki S, et al. *Oncotarget* 9: 33832-33843, 2018
4. Otsuki Y, et al. *Cancer Sci* 111: 127-136, 2020
5. Nobusue H, et al. *Nat Commun* 5: 3368, 2014
6. Takahashi N, et al. *Cancer Res* 79: 3088-3099, 2019

# エクソソームを介したがん転移機構： エクソソームによるがん微小環境変化と診断マーカー

星野 歩子

東京大学 先端科学技術研究センター

エクソソームはがん細胞を含めた全ての細胞から産生される小胞である。オリジンとなる細胞に由来したタンパク質、核酸、脂質などの様々な細胞情報を含み、我々の体内を循環している。採血などで得られるエクソソームに含まれる総合的な情報は、体内状態を反映し、数多くの疾患のバイオマーカーとして期待されている。さらに、ヒトの血漿1ミリリットルから何百億から何兆ものエクソソームを回収することができることや、安定性が高いこともエクソソーム研究の活性化に繋がっている。

我々はこれまでに、疾患関連エクソソームがバイオマーカーとして有用であることを確認するために、血漿由来エクソソームによりがん患者と健常者を、それぞれのエクソソームに含まれるタンパク質により高精度で同定できることや、血漿由来エクソソーム含有タンパク質により、乳がん、肺がん、膵臓がん、大腸がん、中皮腫の患者をがん種別にも分類できることを報告してきた(Hoshino *et al.*, Cell 2020)。次に、我々は様々な疾患において、エクソソームによる臓器連関が病態の進行に関わることを見出してきた。臓器特異性を有するがん細胞（肺、肝臓、脳）に由来するエクソソームは、未来転移先である特定の臓器内で、特定の間質細胞に優先的に取り込まれ、それぞれにおいて、転移前に転移しやすい場の構築に寄与することを解明してきた。さらに、エクソソームを臓器別に分布させる機構には、エクソソームの膜上に”郵便番号”の様な役割をする分子パターン（肺・肝臓はインテグリン、脳はCEMIP）があることを示した(Hoshino *et al.*, Nature 2015; Rodrigues and Hoshino *et al.*, Nat Cell Biol. 2019)。また、臓器由来や血漿由来エクソソームも疾患関連のものは臓器特異的な分布を示すことを見出している。例えば、妊娠高血圧腎症では、胎盤由来エクソソームがターゲットとなる腎臓の糸球体へ取り込まれ、タンパク尿を誘導することを見出し、この機構にも、エクソソーム上の特異的分子が運搬に関わるということがわかった。本講演ではこれまでの研究内容および、我々が現在行っている様々な疾患におけるエクソソーム研究についても発表する。