

研究報告書
令和3年度：A課題

令和5年 4月25日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田知光 殿

研究施設 筑波大学

住所 茨城県つくば市天王台 1-1-1

研究者氏名 さかた やなぎもと まみこ
坂田（柳元）麻実子

(研究課題)

体細胞変異のある炎症細胞によるがん転移制御のメカニズム

令和4年 3月10日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

[研究課題名]

体細胞変異のある炎症細胞によるがん転移制御のメカニズム

[背景および目的]

造血システムは次第に体細胞変異のある造血細胞に置き換わる「クローン性造血」となることが報告された。クローン性造血の頻度は健常高齢者では60歳代で約10%、その後年齢とともに増加することが報告されている。クローン性造血は様々な加齢に伴う疾患群の素因となることが報告され、大変注目されている。代表的には、クローン性造血は虚血性心疾患の死亡リスクとなることが多数のグループから報告された。

一方、多くのがん腫は、加齢に伴って増加することが報告されている。固形がん患者においてはクローン性造血の頻度は健常者よりも高く、約25%にみられることが報告された。また、固形がんにおける遺伝子変異のプロファイルは、健常者におけるプロファイルと若干異なることが報告されている。がんの発症、進展、転移、治療反応性などにおいては、がん微小環境が大きな役割を果たすことが報告されてきた。そこで、クローン性造血のあるがん患者では、クローン性造血に由来する炎症細胞が何らかの役割を果たしているのではないかと考え、研究を進めてきた。これまでに、肺癌モデルを用いた研究においては、クローン性造血に由来する免疫細胞により、最終的には腫瘍血管が増生し、これによりがんの進展が促される、という驚くべき結果が得られた (Yen T. M. Nguyen, et. al., Cancer Science, 2021 Dec;112(12):4931-4943)。

本研究では、がん転移モデルを用いることにより、「クローン性造血」に由来する炎症細胞ががんの転移を制御するメカニズムを明らかにすることを目的として行った。

[方法]

※本研究の成果は、分子病態を明らかにする研究をさらに進めている。本研究の成果は、関連特許への導出および論文発表に繋げる予定であることから、遺伝子名や実験系について略称を用いる。

遺伝子 X の体細胞変異を模するクローン性造血のモデルマウスおよびコントロールマウスの脾臓にがんモデル Y をマトリジェルとともに注射した。Day28 にがんモデル Y の肝転移巣における転移形成能を遺伝子 X 改変マウスおよびコントロールマウスについて観察した。

さらに、肝転移巣については 10 um 毎にスライスし、全切片について、ヘマトキシリンエオジン染色を行った。全切片について画像取り込みを行った後、腫瘍量を積算した。さらに、肝組織を脱血のため還流後、細胞懸濁液とし、フローサイトメトリー法によっても免疫細胞の分布を調べた。さらには、免疫細胞の各分画をセルソーターにより単離し、これから RNA シーケンスライブラリを作製後、NextSeq 500 (Illumina 社) シーケンスし、遺伝子発現差を調べた。

[結果]

遺伝子 X のクローン性造血モデル群では、コントロール群に比較し、がんモデル Y の肝転移巣は優位に縮小していた。がんモデル Y 転移抑制に関わる機序を明らかにするため、各免疫細胞分画について全トランスクリプトーム解析を行った。特に、Cd8 陽性分画の遺伝子発現差解析において、クローン性造血モデル群ではコントロール群に比して、免疫細胞分画 Z の分化に関する遺伝子群の発現がいずれも有意に低下していた。そこで、クローン性造血群あるいはコントロール群の肝転移巣を含む凍結切片について、蛍光免疫染色法を用いて、全トランスクリプトーム解析で認められたマーカー分子と Cd8 の共染色を行うことにより、免疫細胞分画 Z を同定した。免疫細胞分画 Z の細胞数は、クローン性造血モデル群ではコントロール群に比較して有意に減少していた。

[考察および展望]

今回のがん転移におけるクローン性造血モデル群では、コントロール群に比して、がんの転移は抑制された。免疫細胞分画 Z は免疫抑制に働くことが知られることから、遺伝子 X のクローン性造血モデルでは免疫細胞分画 Z の減少にともなって抗腫瘍免疫が活性化し、転移巣が抑制されるものと考えられ、現在、分子学的機序についての解析を進めている。

我々は、過去に、肺がんモデルについてはクローン性造血モデル群ではコントロール群に

比して腫瘍の増大が促進されるとの研究成果を得ていたが、本転移モデルでは異なる結果となった。また、肺がんモデルでみられた腫瘍血管新生の変化についても認められなかった。そこで、癌腫やコンテキスト（原発巣 vs 転移巣）によって、クローン性造血による影響は異なるものと考えられる。クローン性造血ががんの進展にもたらす影響についての研究ははじまったばかりであり、今後の研究の展開が期待される。

[本研究に関連する研究成果]

1. Immune cells with somatic mutations function as a niche for cancer cells - clonal hematopoiesis and cancers. Mamiko Sakata-Yanagimoto. IMMUNO ONCOLOGY RESEARCH WORKSHOP, Tokyo, 2023/1/31-2/1, 国内, 口頭