

令和4年度 共同研究報告書

研究区分		一般共同研究		
研究課題名		大腸がん悪性化進展に伴う炎症・免疫細胞の動態変化の研究		
新規・継続の別		新規 ・ 継続		
研究代表者	所属	愛知県がんセンター研究所・がん病態生理学分野	40歳 以下○	35歳 以下○
	職名・氏名	分野長・青木正博		
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	愛知県がんセンター研究所・がん病態生理学分野	/	/
	職名・氏名	主任研究員・藤下晃章		
	所属	/	/	/
	職名・氏名	/	/	/
受け入れ教員	職名・氏名	教授・園下将大		
概要 (100～150字程度)		<p>TGF-βは免疫抑制性の腫瘍微小環境を引き起こすと考えられている。大腸がんを発症するマウスモデルを用いて、TGF-β経路阻害薬を投与することで細胞障害性の免疫細胞が腫瘍組織へ浸潤する可能性について検証したが、対照群・阻害薬投与群とも細胞障害性T細胞の腫瘍組織への侵入は確認されなかった。</p>		
研究目的 (300字程度)		<p>大腸がんの多くは免疫細胞の浸潤が乏しい免疫微小環境を持ち(cold tumor)、免疫チェックポイント阻害薬が奏功しない。TGF-βが免疫抑制性微小環境に寄与と考えられているが、報告されている研究の殆どは大腸がん細胞株の移植実験によるものであり(Tauriello et al., <i>Nature</i> 2018)、自然発生した腫瘍とその微小環境におけるTGF-βの役割については明らかではない。</p> <p>本研究課題では、申請者が保有する大腸がんマウスモデルを用いて、TGF-β経路を特異的に阻害することで大腸がんの炎症・免疫細胞の動態の変化を解析し、免疫細胞の腫瘍内浸潤を活性化する手法の開発につなげることを目的とする。</p>		
研究内容・成果 (1000字程度・Web会議の回数も記載)		<p>腫瘍組織におけるTGF-β経路を抑制するため以下の実験を行った。</p> <p>1. 大腸がんモデルマウス (<i>cis-Apc^{+Δ716}/Smad4^{+/+}</i>マウス) と <i>Pdgfra-Cre^{ERT2}/Smad4^{fl/fl}</i> マウスを交配し作出した複合変異マウスを用いて、<i>Pdgfra</i> 発現細胞特異的に <i>Smad4</i> 遺伝子をノックアウトすることで間質細胞におけるTGF-β経路の遮断を試みた。10週齢の複合変異マウスに4-hydroxytamoxifenを投与し、腫瘍内のCD8陽性細胞障害性T細胞の浸潤を免疫染色法により測定したが、対照群ともにCD8陽性細胞障害性T細胞の浸潤は確認されなかった。</p> <p>腫瘍内に存在する <i>Pdgfra</i> 陽性細胞において <i>Smad4</i> が確実にノックアウトされていない可能性があることから、化合物投与によるTGF-β経路の阻害効果を検討した。</p>		

	<p>2.TGF-β受容体阻害薬 SB52334 を <i>cis-Apc^{+Δ716}/Smad4^{+/-}</i>マウスに投与し腫瘍形成および腫瘍組織内への CD8 陽性細胞障害性 T 細胞の浸潤の変化を検討した。ウェスタンブロット法により、腫瘍における SMAD2 のリン酸化レベルが腫瘍周辺の正常組織と比較して増加していたことから、腫瘍組織では TGF-β経路が活性化していることが分かった。SB52334 の投与は SMAD2 のリン酸化レベルを低下させたことから、微小環境を含めた腫瘍組織の TGF-β経路の抑制を確認することができた。しかしながら、SB52334 を <i>cis-Apc^{+Δ716}/Smad4^{+/-}</i>マウスに 4 週間 (3 回/週) 投与したが、対照群と比較して腫瘍形成数に有意な差は認められず、腫瘍の退縮も認められなかった。さらに CD8 陽性細胞障害性 T 細胞を計測したが、SB52334 を投与しても腫瘍組織への浸潤は認められなかった。</p> <p>これらの結果は自然に発症した大腸がんは免疫環境的に Cold であり TGF-β経路が活性化しているが、移植実験に基づいた既報 (Tauriello et al., <i>Nature</i> 2018) の結果とは異なり、自然発生した大腸がんでは TGF-β経路を抑制しても細胞障害性免疫細胞の腫瘍内浸潤は誘導されないことが明らかとなった。</p>
成果	<p>【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと</p> <p>【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと</p> <p>【新聞報道】</p>