

【研究背景】

染色体不安定性 (chromosomal instability; CIN) は、染色体の数的、構造的異常の蓄積が亢進している状態である。CIN はがんの hallmark であり、殆どのがん種で認められる。また CIN の存在は予後不良因子とされており (Cell. 2018;174(6):1347-1360.)。これまで CIN は、ゲノム変異の蓄積により腫瘍増殖を促進するとされていたが、最近では腫瘍細胞を取り囲む、腫瘍微小環境 (tumor microenvironment; TME) における慢性炎症・免疫応答と密接に相互作用し、腫瘍増殖を促進することが示唆されている。実際、CIN は TME への T 細胞浸潤の調節に関与し、免疫チェックポイント療法 (Immune checkpoint blockade; ICB) の抵抗性と相関していることが臨床データから示唆されている (Nat Med. 2018;24(9):1449-1458.)。しかしながら、これまで CIN のマウスモデルは存在せず、CIN が TME に及ぼす影響を個体レベルで解明することは困難であった。一方で、がんに伴う慢性炎症は CIN を促進することも示唆されている。胃および食道腺癌 (gastroesophageal adenocarcinoma; GEA) は高度な CIN を特徴とし、*H. pylori* の感染や胃食道逆流などによる慢性炎症を高率に合併する。したがって、GEA は CIN と慢性炎症の連関を解析するために理想的な疾患といえる。本研究では我々が新規に開発した CIN および慢性炎症を合併する GEA のマウスモデルと、single cell RNA-seq (scRNA-seq)、single cell ATAC-seq (scATAC-seq) といったシングルセル解析を組み合わせ、CIN と慢性炎症の連関、およびこれがもたらす腫瘍促進機構の解明を行う。また、判明したメカニズムに基づき、CIN と炎症を標的とした新規治療法の開発を行う。

【経過・成果】

CCNE1 遺伝子は種々のがんで増幅が認められ、GEA においては特にその頻度が高い。CCNE1 は細胞周期における G1 期から S 期への移行を司るサイクリンをコードする遺伝子であり、その高発現は細胞周期の調節異常を介して CIN を惹起すると考えられている。実際我々は TCGA データベースの解析により GEA において CCNE1 と CIN の間に正の相関を認めている (未発表)。我々はさらに CCNE1 遺伝子をマウス胃オルガノイドに強制発現させると CIN の亢進が見られていることを見出した (未発表)。そこで我々は CCNE1 コンディショナルノックインマウスの作成を行った。まず Rosa26 遺伝子座に loxp-stop-loxp 配列およびその下流に hCCNE1 遺伝子をノックインしたところ、F1 世代への germline transmission が起こらず、ノックインマウスは得られなかった。CCNE1 遺伝子の高発現は replication stress の蓄積により細胞死を惹起するため、CCNE1 遺伝子が loxp-stop-loxp 配列の存在にも関わらず微弱に発現することにより細胞死を誘導し、マウスが胎生致死に至ったものと考えられた。そこで CCNE1 の発現制御をより堅牢に行うために、異なるコンストラクトを作成 (未発表) し、再度 Rosa26 遺伝子座にノックインした。このコンストラクトがノックインされた ES 細胞においては、Cre リコンビナーゼ依存的に CCNE1 遺伝子の発現が見られ、また F1 世代における germline transmission が確認された。今後、この CCNE1 ノックインマウスを CIN モデルマウスとして用い、*in vivo* における CIN の動態解析、および *H. pylori* 感染モデルなどによる慢性炎症モデルと組み合わせた解析を行っていく。

我々はまた製薬企業との共同研究により、CIN を標的とした治療法の開発にも取り組んでいる。現在開発段階にある化合物（化合物 A とする）は高度な CIN をもつ癌を標的とした薬剤であり、DNA 損傷の蓄積を促進することで細胞死を誘導する。この化合物 A は CIN を持つヒト癌細胞株に対して、免疫不全マウス皮下における増殖を抑制することが明らかとなっているが、この化合物 A が免疫系に及ぼす影響、特に ICB との併用療法の効果については検討されていなかった。そこで我々は p53 遺伝子欠損マウス胃オルガノイドに CCNE1 遺伝子を強制発現させ、高度な CIN を持つマウス腫瘍胃オルガノイドモデルを作成した。このオルガノイドを野生型マウスに皮下移植し、化合物 A および anti-PD-1 抗体を投与したところ、化合物 A は抗腫瘍効果を示したが、anti-PD-1 との併用においてはさらに顕著な抗腫瘍効果を示し、殆どの腫瘍が完全奏功を示した。現在この化合物 A および anti-PD-1 が免疫系に与える影響について、scRNA-seq を用いて検討を行っている。

【謝辞】

私の勤務している米国ニューヨーク市周辺は物価、家賃高騰が著しい地域でもありますが、アステラス病態代謝研究会様のご支援により生活に不安を抱えることなく研究に打ち込めております。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。