

プレス通知資料（研究成果）



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY

報道関係各位

2023 年 3 月 3 日

国立大学法人東京医科歯科大学

「大腸癌におけるRTP4サイレンシングによる腫瘍細胞内因性の免疫チェックポイント阻害薬 治療抵抗性獲得メカニズムの解明」

—免疫チェックポイント阻害薬の効果予測マーカー、治療ターゲットとして有望な遺伝子RTP4の同定—

【ポイント】

- 近年、免疫チェックポイント阻害薬(ICB)※¹の進歩により、ミスマッチ修復遺伝子異常・マイクロサテライト不安定性大腸癌(dMMR/MSI-H 大腸癌)※²の患者予後が改善されましたが ICB 治療抵抗性が出現することも知られています。
- 本研究では、早期 ICB 治療抵抗性獲得機序としてヒストン H3K9 トリメチル化による RTP4 のサイレンシングを同定し、腫瘍内 T リンパ球の集簇が抑制されることを見出しました。
- ICB 治療感受性が高い dMMR/MSI-H 大腸癌の多くで RTP4 が高発現であることを明らかにしました。
- RTP4 の発現が大腸癌における ICB 治療反応性の予測マーカーとなりうることが示唆されました。エピジェネティクス治療薬と ICB の併用は、dMMR/MSI-H 大腸癌に対する有効な治療方法として期待できます。

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科 分子腫瘍医学分野の田中真二教授、島田周助教、秋山好光講師、山本雄大大学院生の研究グループは、同消化管外科学分野の絹笠祐介教授および国際医療福祉大学医学部 免疫学の河上裕教授との共同研究で、大腸癌の免疫チェックポイント阻害薬治療において RTP4 サイレncingにより腫瘍細胞内因性の治療抵抗性が出現することを突き止めました。この研究は文部科学省科学研究費補助金、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)「次世代がん医療創生研究事業(P-CREATE)」ならびに高松宮妃癌研究基金助成金などの支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 Journal of Gastroenterology に、2023 年 3 月 2 日にオンライン版で発表されました。

【研究の背景】

PD-1 は、活性化 T 細胞、特に腫瘍浸潤リンパ球の表面に発現する重要な免疫チェックポイント受容体であり、PD-1/PD-L1 シグナルは T 細胞の機能低下を誘導します。PD-1/PD-L1 シグナルを抑制する ICB は T 細胞を再活性化させ、腫瘍増殖抑制効果を示し、癌患者の 20-30%に奏功し生存期間が延長することが報告さ

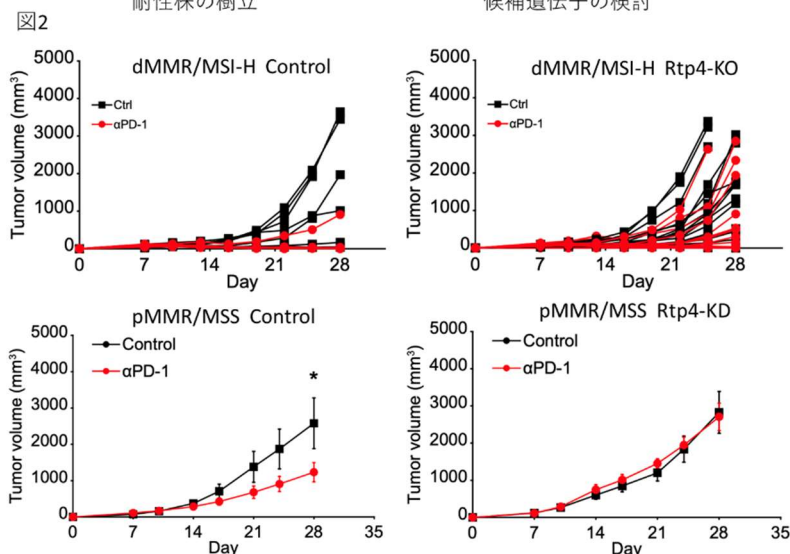
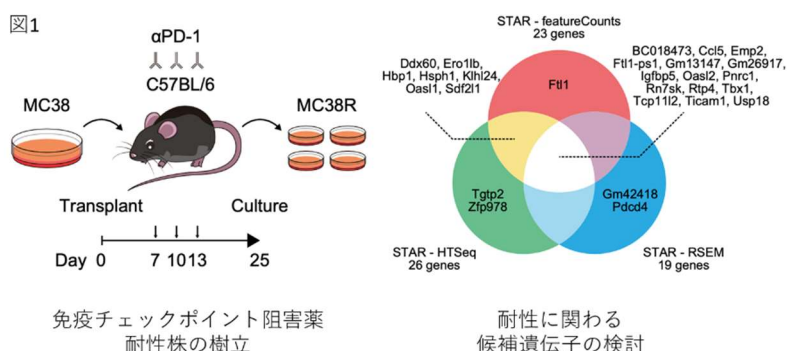
れています。

dMMR/MSI-H 大腸癌は予後不良で標準化学療法抵抗性を示しますが、フレームシフト変異^{※3}により腫瘍遺伝子変異量^{※4}が高く、ネオ抗原^{※5}が豊富で免疫原性が高いため、ICB 治療が有効な治療法とされています。しかしながら、ICB 治療に対する治療抵抗性を獲得することも多く、腫瘍遺伝子変異量の低さ、腫瘍特異抗原の欠如、 β -ミクログロブリンとMHC-I分子の消失、JAK 変異、PTEN 欠損、Wnt/ β -カテニンシグナルの活性化などが ICB 治療耐性の分子機構として報告されていますが、早期の抵抗性メカニズムは不明です。研究グループは C57BL/6 マウス由来の dMMR/MSI-H 大腸癌細胞株 MC38 を用いて、早期の ICB 治療抵抗性獲得機序を探索しました。

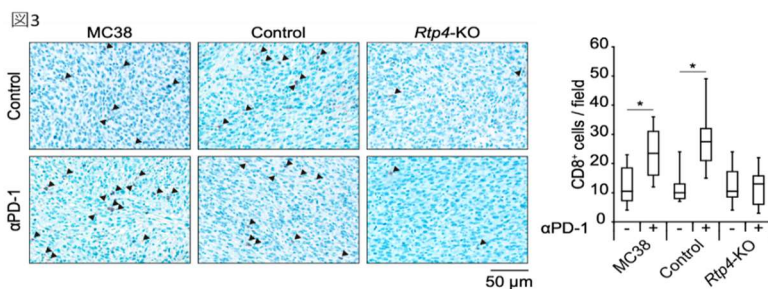
【研究成果の概要】

本研究グループは早期の ICB 治療抵抗性獲得機序の解明のため、マウス dMMR/MSI-H 大腸癌細胞株を正常免疫マウスに皮下移植し、抗 PD-1 抗体治療後に再増殖した腫瘍から ICB 耐性株を樹立しました(図 1)。親株と ICB 耐性株の遺伝子発現比較の結果、7候補遺伝子の有意な発現低下が認められました。候補遺伝子のノックアウト(KO)株の造腫瘍性・ICB 耐性解析、候補遺伝子の発現と ICB 治療癌患者の予後との関係についてのバイオインフォマティクス解析^{※6}を行ったところ、IFN γ 刺激遺伝子の1つであり G タンパク質共役型受容体のシャペロンタンパクである Rtp4 が ICB 耐性関連遺伝子として同定されました(図 1、2)。

RTP4 の治療抵抗性の機序を検討すると Rtp4-KO 株では抗 PD-1 抗体投与後の T 細胞の集簇が抑制されていることを発見しました(図 3)。RTP4 サイレンシングによる ICB 治療抵抗性獲得機序の確認のために pMMR/MSS 大腸癌細胞株を用いた解析も行いました(図2)。こちらのモデルにおいても Rtp4 のサイレンシングにより ICB 治療に対する治療抵抗性が認められました。更に



dMMR/MSI-H、pMMR/MSSどちらの大腸癌モデルにおいても Rtp4 のサイレンシングにより ICB 治療に対する治療抵抗性が生じる。



MC38、ControlではICB治療によりCD8陽性細胞が集簇するがRtp4-KOでは起こらず、Rtp4サイレンシングによりCD8陽性細胞の集簇が抑制されている。

エピジェネティクス制御^{※7}について検討を行いマウスおよびヒトの RTP4 発現はプロモーター領域^{※8}のヒストン H3K9 トリメチル化により制御されていることを明らかにしました。また、ヒト大腸癌大規模遺伝発現データ解析により ICB 治療感受性がある dMMR/MSI-H 細胞株群において RTP4 の発現が高い傾向であることがわかりました(図 4)。

RTP4 (receptor transporter protein

4) は、オピオイド、嗅覚、味覚などの G タンパク質共役型受容体の細胞表面への発現を仲介する RTP ファミリーの一員であり、RTP4 は IFN 誘導性の抗ウイルスエフェクターの 1 つであると報告されていましたが、免疫における RTP4 の役割は不明でした。タンパク質バーコードを用いた高次元単細胞 CRISPR スクリーニング解析が行われ、2個の IFN 刺激遺伝子 PSMB8 と RTP4 が癌細胞の抗原依存性免疫反応に必須であると報告されており、我々の結果と一致するものでした。

さらに、エピジェネティクス異常は、癌遺伝子や癌抑制遺伝子の発現だけでなく、腫瘍の免疫原性や ICB 治療反応性にも寄与していると考えられています。ICB 治療とエピジェネティクス治療薬との併用療法についても報告されておりエピジェネティクス治療薬は、RTP4 などの重要な遺伝子の発現を回復させることで、ICB に対する反応を高め、耐性克服に寄与する可能性があります。

ヒト dMMR/MSI-H 大腸癌を再現したマウス大腸癌細胞株 MC38 を用いて、早期の ICB 耐性獲得機序としてヒストン H3K9 トリメチル化による RTP4 のサイレンシングを同定しました。また、ヒト大腸癌の遺伝子発現データ解析では、多くの dMMR/MSI-H 大腸癌で RTP4 が高発現していることが明らかとなり、RTP4 発現は dMMR/MSI-H 大腸癌における ICB 治療反応性の予測マーカーとなる可能性があります。

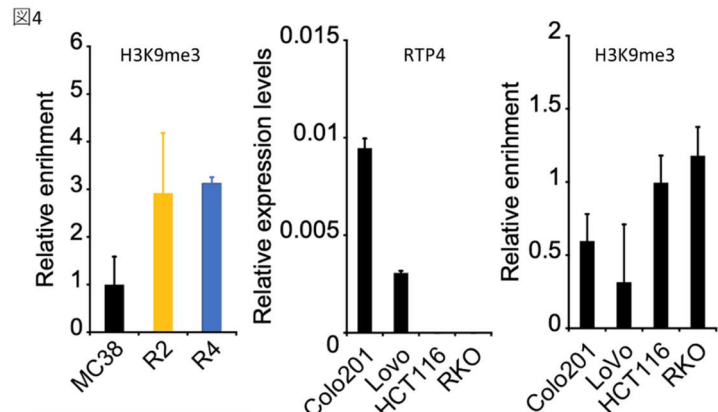
【研究成果の意義】

本研究では、ICB 治療に対する早期の治療抵抗性獲得の機序としてヒストン H3K9 トリメチル化により RTP4 がサイレンシングされることが重要であることを世界で初めて明らかにしました。またヒト大腸癌において ICB 治療感受性が高い dMMR/MSI-H 大腸癌の多くで RTP4 が高発現であることを明らかにしました。本研究の成果により RTP4 発現は dMMR/MSI-H 大腸癌における ICB 治療反応性の予測マーカーとなり得ること、エピジェネティクス治療薬と ICB の併用が dMMR/MSI-H 大腸癌患者の新規治療法となる可能性を持つことが期待できます。

【用語解説】

※1 免疫チェックポイント阻害薬

T 細胞を再活性化することにより腫瘍増殖抑制効果を示す薬で近年その効果が注目されている。



ICB耐性細胞でH3K9me3の上昇を認める。

ヒト大腸癌株ではdMMR/MSI-HであるColo201、LovoでRTP4が高く、H3K9me3が低い。マウスおよびヒトのRTP4発現はのヒストンH3K9トリメチル化により制御されている。

※²ミスマッチ修復遺伝子異常・マイクロサテライト不安定性大腸癌

ミスマッチ修復遺伝子異常・マイクロサテライト不安定性とは、細胞分裂の際に起こる DNA の配列ミスを修復する機能が低下している状態のことを指す。修復能力が低下していることによりゲノム上に変異が蓄積しやすく癌化しやすい。

※³フレームシフト変異

フレームシフト変異は DNA の挿入、欠失のことである。mRNA から 3 塩基ずつまとめてアミノ酸へと翻訳されるので、挿入や欠失塩基の数が 3 の倍数でない場合に翻訳がずれ、合成されるタンパク質が全く異なったものになる。

※⁴腫瘍遺伝子変異量

腫瘍遺伝子変異量 (TMB) は、がん細胞のゲノムに生じた遺伝子変異の量のことである。変異タンパク質を持つ細胞は、免疫細胞からの攻撃を受けやすくなり、腫瘍遺伝子変異量が多いがん細胞ほど、免疫細胞により攻撃される可能性が高まる。

※⁵ネオ抗原

がん細胞独自の遺伝子変異に伴って新たに生まれた変異抗原のことで、ネオアンチゲンとは正常な細胞には発現しておらず、がん細胞だけにみられる。

※⁶バイオインフォマティクス解析

バイオインフォマティクスとは生命科学と情報科学の融合分野であり、DNA や RNA、タンパク質などの生命情報に対して情報科学や統計学などのアルゴリズムを用い解析を行うこと。

※⁷エピジェネティクス制御

エピジェネティクス制御は DNA の塩基配列の変化を伴わない遺伝子発現制御の仕組みであり DNA メチル化、ヒストン修飾およびクロマチン再構築の3つが柱となっている。

※⁸プロモーター領域

遺伝子をコードする DNA 領域の上流に存在する転写制御を行う領域であり、転写の活性化もしくは抑制などの機能を持つ様々な転写調節因子が結合することで転写の制御が行われる。

【論文情報】

掲載誌: Journal of Gastroenterology

論文タイトル: RTP4 silencing provokes tumor-intrinsic resistance to immune checkpoint blockade in colorectal cancer

【研究者プロフィール】

田中真二（タナカ シンジ） Tanaka Shinji

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 教授

・研究領域

分子腫瘍医学、消化器外科学

島田周（シマダ シュウ） Shimada Shu

東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 助教

・研究領域

分子腫瘍医学

【問い合わせ先】

＜研究に関すること＞

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科

分子腫瘍医学分野 島田周(シマダ シュウ)

田中真二(タナカ シンジ)

E-mail: shu.shimada@tmd.ac.jp

tanaka.monc@tmd.ac.jp

＜報道に関すること＞

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL: 03-5803-5833 FAX: 03-5803-0272

E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp