

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：17102

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22818

研究課題名(和文) 単一細胞解析を用いた膵癌の免疫逃避機構の獲得機序解明および制御法の開発

研究課題名(英文) Elucidation of the acquisition mechanism of immune escape mechanism of pancreatic cancer using single cell analysis and development of control methods

研究代表者

武居 晋 (TAKESUE, Shin)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：30883425

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌自然発癌モデル由来の膵癌細胞を用いてC56BL/6マウスに同所移植を行い、膵癌微小環境再現モデルを作成した。プロリンイソメラーゼであるPin1分子に着目し、Pin1が膵癌細胞と癌関連線維芽細胞で過剰発現しており、Pin1に対する標的治療によって免疫抑制性微小環境をリモデリングできることを膵癌微小環境再現モデルで示した。消化器癌であるヒト胃癌で免疫抑制性微小環境をscRNA-seqで評価したところ、骨髄系細胞の免疫抑制関連遺伝子の発現が他の免疫抑制細胞よりも高値であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Pin1分子は膵癌に対して有望な新規治療薬であり、難治性膵癌の治療に活路を見出す可能性が示唆された。また、Pin1は癌関連線維芽細胞にも過剰発現しており、スキルス胃癌などの豊富な間質成分を有する他の癌腫でも有望な標的分子であると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We transplanted pancreatic cancer cells derived from a spontaneous pancreatic carcinogenesis model into C56BL/6 mice. Pin1, a proline isomerase, was overexpressed in pancreatic cancer cells and CAFs, indicating that targeted therapy against Pin1 can remodel the immunosuppressive microenvironment. Next, we evaluated the immunosuppressive microenvironment by scRNA-seq in human gastric cancer, a gastrointestinal cancer. We found that the expression of immunosuppression-related genes in myeloid cells was higher than in other immunosuppressive cells.

研究分野：医歯薬学

キーワード：膵癌 CAF 膵癌自然発癌モデル scRNA-seq

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵癌は、5年生存率が10%未満であり、唯一の根治的治療法である外科的切除を行った場合でもその5年生存率はわずか15%と最も予後不良な癌の一つである。この生物学的悪性度の高さから盛んに研究が行われてきたが、他の消化器癌に比べ膵癌における有用な薬剤開発は乏しい。近年、癌免疫治療の有用性が様々な癌腫で報告されており、癌薬物治療および癌研究に大きな変革をもたらした。こうした世界的潮流のなか、膵癌においても免疫治療の有効性が期待されたが、現在臨床応用されている主な免疫チェックポイント阻害薬(抗CTLA4抗体、抗PD1/PD-L1抗体等)の効果は限定的である。癌種やMSI、TMBにより奏効率が違うことが報告されてきているが、その原因をPD-L1や腫瘍特異的抗原(neoantigen)発現の低さや、腫瘍内リンパ球が少ないことだけでは説明できない。その背景には多様な免疫細胞で構成される腫瘍周囲微小環境と癌細胞との非常に複雑なcrosstalkがあり、その中で免疫逃避機構のhubとなるような未だ同定されていない微小な細胞集団が存在すると考えられる。それらを新たに同定し制御が可能となれば、免疫逃避機構を阻害し抗腫瘍免疫を再賦活化させる新たな膵癌免疫治療薬が開発につながり、膵癌患者の予後改善という社会的要請にこたえることができるのではないかと考えられた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、膵癌自然発癌モデル由来膵癌細胞を同所移植することで抗腫瘍免疫を含めた微小環境再現モデルを作成し、腫瘍形成初期過程から腫瘍増大に伴う腫瘍微小環境内の経時的变化を腫瘍組織のscRNAseq解析によって明らかにし、膵癌細胞の免疫逃避機構に関わる新たな細胞集団を同定し、それらを制御する新規治療法を確立することである。

本研究では、KPCマウス由来膵癌細胞をC57BL/6マウスに同所移植することで腫瘍免疫を含めた膵癌周囲微小環境を再現する。これにより、腫瘍免疫の観点から、移植早期における癌細胞を排除する段階である「排除相」から、癌細胞が抗原性の高い自己抗原やMHC分子を消失する等により免疫逃避機構を構成し始める「平衡相」、さらには制御性T細胞(Treg)や骨髄由来抑制細胞(MDSC)、制御性樹状細胞(rDC)といった腫瘍免疫抑制細胞を導入し免疫逃避機構を確立する「逃避相」に移行するまで、免疫逃避機構確立に至るまで段階的に再現可能となる。その腫瘍微小環境内はリンパ球をはじめ、樹状細胞などの抗原提示細胞、腫瘍関連マクロファージ(TAM)や好中球(TAN)といった免疫細胞が癌細胞のみならず、癌関連線維芽細胞(CAF)といった間質細胞と非常に複雑なcrosstalkを形成している。そこで、本研究では各段階において、腫瘍組織を単細胞レベルまで分離し発現解析を行うシングルセル発現解析(scRNA-seq解析, Papalexis E, et al. Nature Rev Immunol, 2017)を行う。これにより腫瘍組織中の免疫細胞含む様々な微小な細胞集団に分類することが可能となり、各相でそれら細胞集団がいかに変化し、また新たにどういった細胞集団が出現するかを可視化できる。これまでに膵癌で腫瘍免疫も含めたin vivoモデルを用いて、「排除相」「平衡相」「逃避相」各段階においてscRNA-seqによる網羅的な解析をおこなった研究報告はこれまでに認めず、極めて学術的独自性および創造性の強い研究といえる。また、本研究で腫瘍免疫逃避機構のhubとなる新たな細胞集団を同定し、それらの制御法が確立できれば、膵癌における新たな免疫治療薬開発につながることとなり、本研究は社会的要請度・貢献度が非常に高いといえる。また、全細胞から蓄積される膨大な発現データは、生物学的、免疫学的、腫瘍学などにおいてもその根幹にも影響をあたえるもので、広範な学術的波及効果も期待される。

### 3. 研究の方法

膵癌自然発癌モデル由来の膵癌細胞を用いてC56BL/6マウスに同所に移植した。

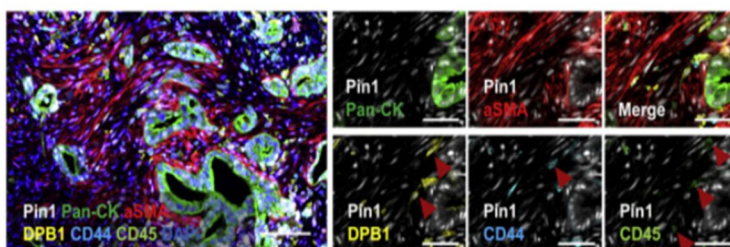
癌関連線維芽細胞(CAF)が免疫抑制性微小環境を構築しているという所属研究室のこれまでの知見から、膵癌とCAFの相互作用を明らかにすることを目的とし、プロリンイソメラーゼであるPin1分子に着目した。

scRNA-seqによる膵癌免疫微小環境を評価する前に、まず同じ消化器癌であるヒト胃癌で免疫抑制性微小環境を評価した。

### 4. 研究成果

膵癌自然発癌モデル由来の膵癌細胞を用いてC56BL/6マウスに同所移植を行い、膵癌微小環境再現モデルを作成した。プロリンイソメラーゼであるPin1分子に着目し、Pin1は膵癌細胞とCAFで過剰発現していることを確認した(右図)。

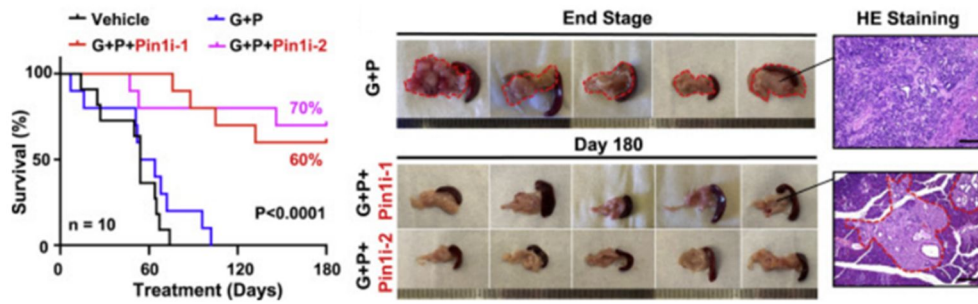
#### Pin-1は膵癌細胞と癌関連線維芽細胞で過剰発現



そして、Pin1 に対する標的治療によって免疫抑制性微小環境をリモデリングできることを膵癌微小環境再現モデルで示した(下図; Koikawa K, et al. Cell. 2021;184:4753-4771.e27)。

同じ消化器癌であるヒト胃癌で scRNA-seq を用いて免疫抑制性微小環境を評価したところ、骨髄系細胞の免疫抑制関連遺伝子の発現が他の免疫抑制細胞よりも高値であった。以上から、消化器癌の免疫逃避機構に骨髄系細胞が重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## Pin-1に対する標的治療は膵癌微小環境をリモデリング



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iwamoto Chika, Ohuchida Kenoki, Shinkawa Tomohiko, Okuda Sho, Otsubo Yoshiki, Okumura Takashi, Sagara Akiko, Koikawa Kazuhiro, Ando Yohei, Shindo Koji, Ikenaga Naoki, Nakata Kohei, Moriyama Taiki, Miyasaka Yoshihiro, Ohtsuka Takao, Eto Masatoshi, Akashi Koichi, Nakamura Masafumi	4. 巻 512
2. 論文標題 Bone marrow-derived macrophages converted into cancer-associated fibroblast-like cells promote pancreatic cancer progression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Letters	6. 最初と最後の頁 15~27
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.canlet.2021.04.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Chikanori Tsutsumi, Kenoki Ohuchida, Shoichi Nakamura, Sho Okuda, Kyoko Hisano, Yoshiki Otsubo, Koji Shindo, Taiki Moriyama, Yusuke Mizuuchi, Kohei Nakata, Masafumi Nakamura
2. 発表標題 Functions of CD8-positive T cells in gastric non-solid type poorly differentiated adenocarcinoma
3. 学会等名 INTERNATIONAL GASTRIC CANCER CONGRESS 2022（国際学会）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
研究協力者	新川 智彦  (SHINKAWA Tomohiko)		
研究協力者	堤 親範  (TSUTSUMI Chikanori)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------