

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：20K22957

研究課題名(和文) scRNA-seqを用いた化学療法による癌免疫環境改変メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of the mechanism of cancer immune environment modification by chemotherapy using scRNA-seq

研究代表者

安藤 陽平 (ANDO, Yohei)

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：40746864

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)：当科で胃切除術を施行した胃癌症例から採取した腫瘍部を対象とし、術前化学療法(NAC)の有無によって変化する免疫細胞の機能関連遺伝子発現をscRNA-seqを用いて評価した。NAC群のCD8陽性T細胞は殺細胞性機能関連遺伝子の発現が有意に高値であったが、同時に疲弊化関連遺伝子も有意に高値であった。また、NAC群の胃癌細胞と制御性T細胞で免疫抑制機能関連遺伝子の発現が有意に高値であった。さらに、食道癌においてもNACによって変動する腫瘍免疫微小環境を評価し、NACにより抗腫瘍免疫反応が増強することを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胃癌に対する化学療法は免疫原性を高めると同時に、腫瘍は免疫回避機構として免疫抑制環境を形成していることが示唆され、これが治療耐性化の機序の一つである可能性が示唆された。本研究で明らかにしたNACによる腫瘍免疫微小環境の解明は、化学療法反応性のバイオマーカーや治療標的を検討する一助になると考えられた。

研究成果の概要(英文)：We collected tumors from gastric cancer patients who had undergone gastrectomy and then used scRNA-seq to evaluate function-related gene expression of immune cells changed by preoperative chemotherapy (NAC). CD8-positive T cells in the NAC group showed significantly higher expression of cytotoxicity-related genes and substantially higher expression of exhaustion-related genes. The expression of immunosuppression-related genes was also significantly higher in gastric cancer cells and regulatory T cells in the NAC group. Furthermore, we evaluated the tumor immune microenvironment altered by NAC in esophageal cancer and showed that NAC enhanced anti-tumor immune responses.

研究分野：医歯薬学

キーワード：scRNA-seq 消化器癌 化学療法 免疫微小環境

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、免疫チェックポイント阻害剤による反応を単細胞解析した報告は増えている。腫瘍特有の免疫環境の改変が有効な治療標的であることが証明されたが、その腫瘍免疫のメカニズムについては未だ不明な点も多い。腫瘍免疫は様々な細胞で構成され、複雑な相互作用により形成されており、その複雑性・多様性が精確な研究の妨げとなっている。マイクロ流体力学の発展により、単細胞レベルでの遺伝子発現、蛋白解析が可能となり、複雑な腫瘍内免疫環境の高解像度の解析が行われるようになり、機能的な多様性が徐々に解明されてきている。

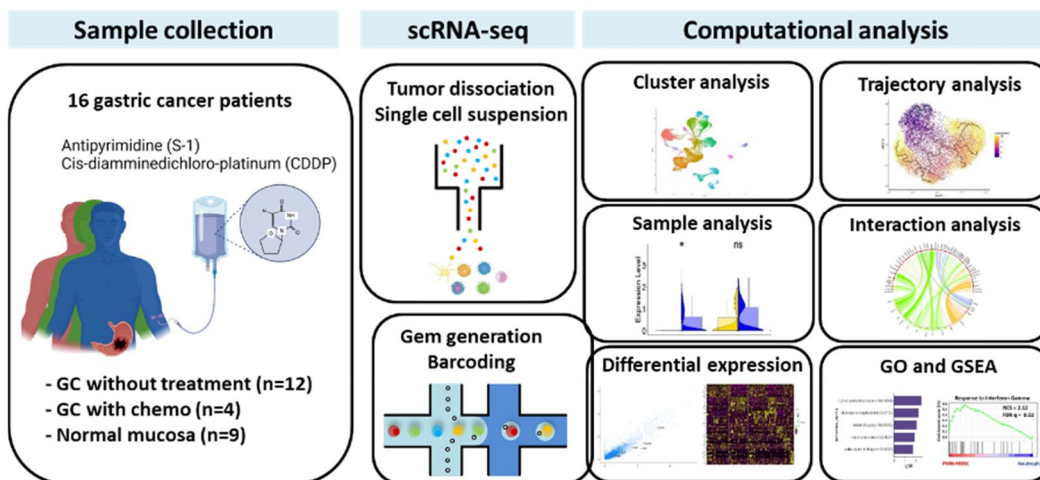
2. 研究の目的

本研究は消化器癌における標準的治療である化学療法がもたらす腫瘍免疫微小環境の変動を明らかにし、消化器癌に対する新規バイオマーカーの同定や新規治療の開発を目的とした。これまで、化学療法による腫瘍微小環境の変化に関する研究は多く存在するが、それを単細胞レベルで解析し、細胞種ごとに詳細に検討した研究は、消化器癌においては未だない。また、経時的空間的発現解析データを得ることによる、化学療法の治療効果、抵抗性メカニズムの解明に与える影響は大きい。この高精度解析により、従来の治療効果を改善し、化学療法による新たな治療プロトコルの開発につながると考えられる。

3. 研究の方法

胃癌の化学療法耐性化の機序に着目し、1細胞ごとの網羅的遺伝子発現解析を行うシングルセル RNA シーケシング(scRNA-seq)を行った。当科で胃切除術を施行した胃癌症例 16 例から採取した 16 例の腫瘍部と 9 例の正常粘膜を対象とした。腫瘍部の内訳は 12 例が術前化学療法 (NAC) 未施行群、9 例が NAC 施行群である。NAC の有無によって変化する免疫細胞の機能関連遺伝子発現を scRNA-seq を用いて評価した (下図)。化学療法によって変動している遺伝子を検索することで、新たな治療標的となり得る因子を検討する。

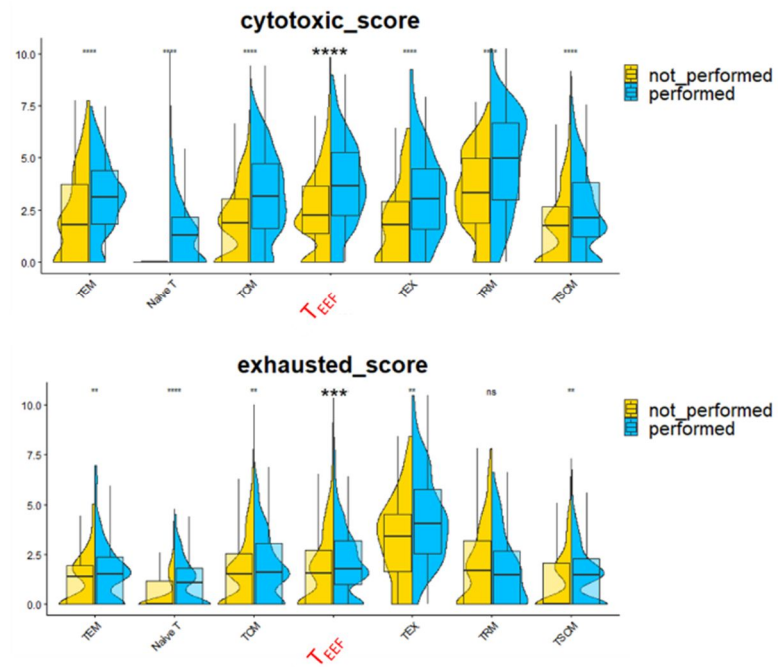
本研究方法



4. 研究成果

NAC 群の CD8 陽性 T 細胞は殺細胞性機能関連遺伝子の発現が有意に高値であったが、同時に疲弊化関連遺伝子も有意に高値であった。また、NAC 群の胃癌細胞と制御性 T 細胞で免疫抑制機能関連遺伝子の発現が有意に高値であった。以上から、胃癌に対する化学療法は免疫原性を高めると同時に、腫瘍は免疫回避機構として免疫抑制環境を形成していることが示唆され、これが治療耐性化の機序の一つである可能性が示唆された。さらに食道癌においても NAC によって変動する腫瘍免疫微小環境を評価し、NAC により抗腫瘍免疫反応が増強することを示した。本研究で明らかにした NAC による腫瘍免疫微小環境の解明は、化学療法反応性のバイオマーカーや治療標的を検討する一助になると考えられた。

**細胞障害性CD8陽性T細胞ではNAC群で
細胞障害性機能関連遺伝子と疲弊化関連遺伝子の発現が高い**



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名	堤 親範, 大内田 研宙, 中村 祥一, 奥田 翔, 久野 恭子, 大坪 慶志輝, 寅田 信博, 進藤 幸治, 森山 大樹, 水内 祐介, 仲田 興平, 中村 雅史
2. 発表標題	Single cell RNA sequenceを用いたpor2胃癌におけるcancer associated fibroblastのheterogeneityの解明
3. 学会等名	第94回日本胃癌学会総会
4. 発表年	2022年

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

1. 発表者名	奥田翔、大内田研宙、大坪慶志輝、中村祥一、久野恭子、持田郁己、新川智彦、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、森山大樹、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題	Single-cell RNA-sequenceを用いた食道扁平上皮癌の免疫環境についての解析
3. 学会等名	第29回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2021)
4. 発表年	2021年

1. 発表者名	大坪慶志輝、大内田研宙、奥田翔、中村祥一、久野恭子、進藤幸治、森山大樹、永井俊太郎、久保真、中村雅史
2. 発表標題	scRNAseqを用いた胃癌微小環境中のAPCのheterogeneityの検討
3. 学会等名	第57回九州外科学会
4. 発表年	2021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	奥田 翔 (OKUDA Sho)		
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
---------	---------