

令和 6 年 5 月 20 日現在

機関番号：17102

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08800

研究課題名（和文）scRNA-seqを用いた食道癌TME内NK細胞の化学療法による機能的変化の解析

研究課題名（英文）Analysis of functional changes in NK cells in the TME of esophageal cancer due to chemotherapy using scRNA-seq

研究代表者

森山 大樹（MORIYAMA, Taiki）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：70586859

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：TME(腫瘍微小環境)内にはheterogeneityと言われる不均一性が存在し、このheterogeneityが癌の浸潤・転移・治療抵抗性に関与し、治療抵抗性に寄与している。今回我々は、遺伝子の網羅的発現解析を一細胞ごとに行うscRNA-seq (single cell RNA-sequence)を用いて、術前補助化学療法前後の食道癌におけるTMEの機能的変化を解明した。また胃癌においてもHER2陽性群でNK細胞の機能的不均一性を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

食道癌は近年、術前化学療法を含む集学的治療が発展してきたが、依然予後不良な疾患でありその治療抵抗性の克服は重大な課題である。進行食道癌では標準治療となった術前化学療法によるTMEの変化をscRNA-seq解析で解明することで、従来にはなかったアプローチで新規個別化治療に繋がる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：There is a phenomenon known as heterogeneity within the tumor microenvironment (TME), which plays a role in cancer invasion, metastasis, and treatment resistance. This heterogeneity contributes to therapeutic resistance. In our study, we utilized single-cell RNA sequencing (scRNA-seq) to comprehensively analyze gene expression at the single-cell level. This allowed us to elucidate the functional changes in the TME of esophageal cancer before and after neoadjuvant chemotherapy. Additionally, in gastric cancer, we uncovered functional heterogeneity in NK cells within the HER2-positive group.

研究分野：医歯薬学

キーワード：腫瘍微小環境 heterogeneity scRNA-seq 食道癌

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦において食道癌は、男性においては罹患率8位、死亡率8位と、比較的多く死亡率も高い癌である。切除不能食道癌における5-FU/cisplatin療法の奏効率は36%程度、Stage IV食道癌の5年生存率は10.9%と依然として満足のものではなく、食道癌の治療抵抗性の克服は重大な課題である。腫瘍免疫の免疫監視機構の視点から見た癌発生の過程 cancer immunoediting においては、免疫監視から免疫選択、続く免疫逃避で免疫寛容を成立させ、臨床的な「癌」となる。TME内の各細胞の heterogeneity はいずれも癌免疫逃避に關与する形で不均一性を保持しており、これが癌の浸潤・転移・治療抵抗性に關わる。

一方、近年術前化学療法(NAC)が腫瘍免疫微小環境を改変し、腫瘍免疫の賦活化を誘導する可能性が示唆されている。食道癌において scRNAseq を用いてその機序を解明する報告は少なく、その機能的不均一性も未だ明らかにはなっていない。

今回、NACの前後に手術後の食道癌組織を用いて、TMEを構成する各種免疫細胞の解析を行い比較することで、NACがTMEの免疫学的環境にもたらす影響を解明することで新たな治療法の開発に至ることができるのではないかと考え、本研究を計画するに至った。

2. 研究の目的

TMEにおける免疫細胞の機能不全状態を明らかにし、免疫細胞が癌に免疫逃避を許してしまう機序を解明する。更にNACがTMEにもたらす機能的変化を特定し、その抗腫瘍免疫抑制機序に基づく新規個別治療を開発すること。

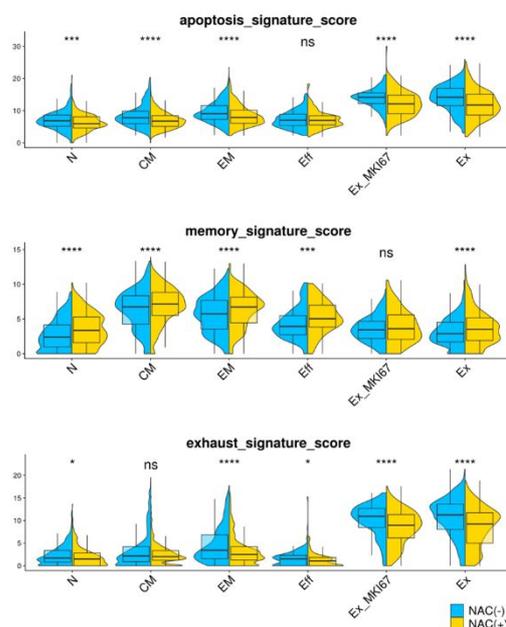
3. 研究の方法

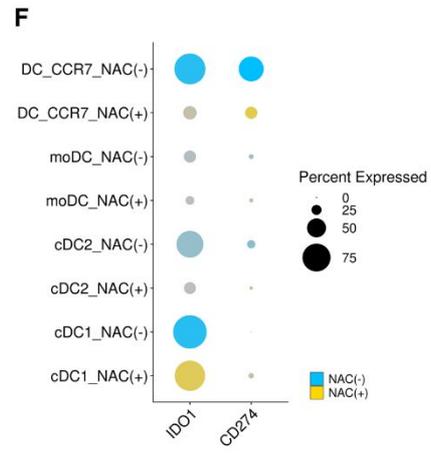
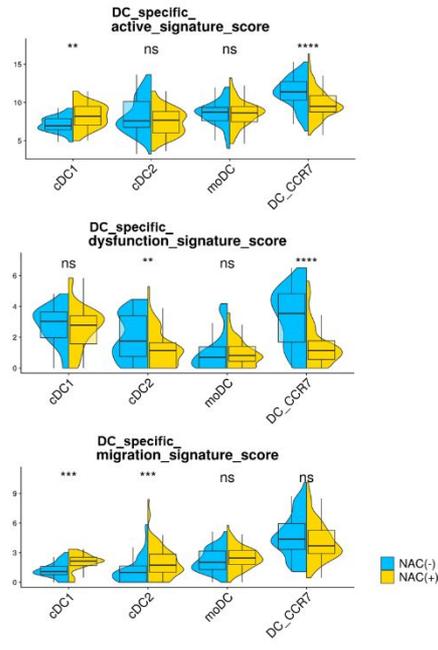
当院で食道癌に対しNACおよび手術加療を行った、ヒト食道癌検体(手術切除組織)を対象とした。当研究室で導入している Drop-seq 技術を基盤とした Chromium Single Cell Controller(10X GENOMICS社)を用いて、一細胞ごとの発現遺伝子を網羅的にcDNAライブラリ化し、NGS解析を行う。そのデータを使用し、シングルセル解析を行うことで、NAC前後の食道癌におけるTMEの機能的不均一性を解析する。

4. 研究成果

手術切除食道癌サンプルから得られたシーケンスデータを用いたシングルセル解析により、化学療法の有無による免疫細胞の機能変化を評価した。NAC+群においては、CD8陽性T細胞はアポトーシスや疲弊化を回避し、メモリー機能が亢進していた(下図)。またCD4陽性T細胞においては、ヘルパーT細胞の疲弊化が回避され、メモリー機能が亢進し、制御性T細胞では免疫抑制機能が低下していることがわかった。

樹状細胞では4つのサブクラスターを同定し、NAC+群で活性化、抗原提示能が亢進していた(次項)。今回食道癌の術前化学療法により各種免疫細胞の機能的不均一性が一部解明され、今後それに基づいた治療戦略の開発を検討していく予定である。





5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakamura Shoichi, Ohuchida Kenoki, Hayashi Masataka, Katayama Naoki, Tsutsumi Chikanori, Yamada Yutaka, Hisano Kyoko, Okuda Sho, Ohtsubo Yoshiki, Iwamoto Chika, Torata Nobuhiro, Mizuuchi Yusuke, Shindo Koji, Nakata Kohei, Moriyama Taiki, Morisaki Takashi, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 129
2. 論文標題 Tertiary lymphoid structures correlate with enhancement of antitumor immunity in esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1314 ~ 1326
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-023-02396-7	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 -

1. 著者名 Okuda Sho, Ohuchida Kenoki, Nakamura Shoichi, Tsutsumi Chikanori, Hisano Kyoko, Mochida Yuki, Kawata Jun, Ohtsubo Yoshiki, Shinkawa Tomohiko, Iwamoto Chika, Torata Nobuhiro, Mizuuchi Yusuke, Shindo Koji, Moriyama Taiki, Nakata Kohei, Torisu Takehiro, Morisaki Takashi, Kitazono Takanari, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 26
2. 論文標題 Neoadjuvant chemotherapy enhances anti-tumor immune response of tumor microenvironment in human esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 106480
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2023.106480	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakamura S, Ohuchida K, Ohtsubo Y, Yamada Y, Tsutsumi C, Okuda S, Hisano K, Mochida Y, Shinkawa T, Iwamoto C, Torata N, Mizuuchi Y, Shindo K, Nakat, Moriyama T, Torisu T, Nagai E, Morisaki T, Kitazono T, Oda Y, Nakamura M	4. 巻 13
2. 論文標題 Single cell transcriptome analysis reveals functional changes in tumour infiltrating B lymphocytes after chemotherapy in oesophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 e1181
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ctm2.1181	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shinkawa Tomohiko, Ohuchida Kenoki, Mochida Yuki, Sakihama Kukiko, Iwamoto Chika, Abe Toshiya, Ideno Noboru, Mizuuchi Yusuke, Shindo Koji, Ikenaga Naoki, Moriyama Taiki, Nakata Kohei, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 41
2. 論文標題 Subtypes in pancreatic ductal adenocarcinoma based on niche factor dependency show distinct drug treatment responses	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Experimental & Clinical Cancer Research	6. 最初と最後の頁 89
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13046-022-02301-9	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、堤親範、久野恭子、奥田翔、大坪慶志輝、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、中村雅史
2. 発表標題 single cell RNA sequenceを用いた食道癌浸潤リンパ球における化学療法後の機能変動の詳細な解明
3. 学会等名 第31回日本消化器関連学会週間 (JDDW 2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、片山直樹、堤親範、久野恭子、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 三次リンパ組織様構造の有無に着目したCD8陽性Tリンパ球の機能に関するscRNA-seq解析
3. 学会等名 第44回癌免疫外科研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、堤親範、久野恭子、奥田翔、大坪慶志輝、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、中村雅史
2. 発表標題 シングルセル解析を用いた食道癌における制御性B細胞の検討
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 奥田翔、大内田研宙、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 scRNA-seqを用いた食道扁平上皮癌浸潤T細胞に対する術前化学療法の影響の解明
3. 学会等名 第76回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田翔、大内田研宙、寅田信博、永吉絹子、水内祐介、進藤幸治、池永直樹、森山大樹、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 scRNA-seqを用いた食道扁平上皮癌浸潤マクロファージに対する術前化学療法の影響の解明
3. 学会等名 第77回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 奥田翔、大内田研宙、堤親範、中村祥一、久野恭子、持田郁己、大坪慶志輝、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微小環境中の樹状細胞の解析
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
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

〔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 分担者	甲斐 昌也 (KAI Masaya) (10755242)	九州大学・医学研究院・共同研究員 (17102)	

	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	中村 祥一 (NAKAMURA Shoichi)		
研究 協力者	奥田 翔 (OKUDA Sho)		

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
---------	---------