

令和 6 年 5 月 23 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：21K07244

研究課題名（和文）scRNA-seq解析による胃癌NAC後微小環境中B細胞subsetの変動解析

研究課題名（英文）Changes after neoadjuvant chemotherapy in B cell subsets of gastric cancer using scRNA-seq

研究代表者

永井 英司（NAGAI, Eishi）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：30264021

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）：B細胞には未熟性B細胞、活性化B細胞、メモリーB細胞といったheterogeneityを明らかにし、胃癌部では抗体依存性細胞障害性作用に関わる形質細胞のIgG関連遺伝子発現が非癌部と比較して有意に高値であった。近年、B細胞は腫瘍局所で3次リンパ濾胞を形成し、CD8陽性T細胞の機能活性を促進することが報告されており、化学療法を施行した胃癌症例ではCTLA4が、Nivolumab症例ではLAG3の発現が低かった。このことから、治療により標的となり得る免疫チェックポイント分子が異なる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、腫瘍免疫におけるB細胞の抗腫瘍機能について着目されており、本研究では明らかになった化学療法や免疫チェックポイント阻害薬によるB細胞の変化は胃癌腫瘍微小環境の理解の一助となり、治療抵抗性胃癌腫瘍微小環境のリモデリングが期待できる免疫チェックポイント分子の同定は胃癌新規治療開発につながる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The present study with scRNA-seq showed heterogeneity among B cells, such as immature, activated, and memory B cells. IgG-related gene expression of plasma cells involved in antibody-dependent cytotoxic effects was significantly higher in gastric cancer than in the adjacent normal tissues. Recently, it has been reported that B cells form tertiary lymph follicles in the tumor and promote the functional activity of CD8-positive T cells. In the present study, CTLA4 expression was low in chemotherapy-treated gastric cancer patients, and LAG3 expression was low in Nivolumab patients. These results suggest that the immune checkpoint molecules targeted by treatment may differ.

研究分野：医歯薬学

キーワード：胃癌 化学療法 B細胞 食道癌 scRNA-seq

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

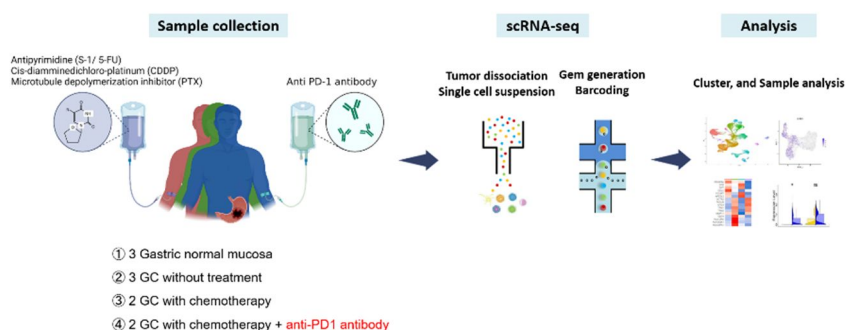
画像診断能の向上や手術手技・化学療法の進歩により胃癌患者の生存率が改善しているが、本邦における胃癌死亡者数は第3位であり依然予後不良な疾患の一つである。また、化学療法の進歩や様々な治験の蓄積に伴って術前化学療法(Neoadjuvant chemotherapy; NAC)の概念が出現し、本邦においても限られた症例に対しては有効性が示唆されている。一方、胃癌を含む消化器癌はがん微小環境中に Heterogeneity と呼ばれる不均一性を有しており、その腫瘍の生物像を決定し治療抵抗性を規定すると考えられている。近年、免疫微小環境の不均一性が重要視されているが、B細胞に関する報告は限られている。しかし、T細胞機能を抑制する制御性B細胞の存在が報告される(Elizabeth, et al. Immunity. 2015)など、B細胞も抗腫瘍免疫に大きく関与している可能性が示唆されている。一方、化学療法施行に伴い免疫微小環境は dynamic に変動し、その後の生命予後に影響するという報告もある(Alejando, et al. Nat Genet. 2020)が、その詳細は未だ不明である。

2. 研究の目的

本研究では Drop-Seq 技術を基盤とした single cell RNA-sequence(scRNA-seq)解析を用いて NAC 施行群 / 非施行群の胃癌切除症例を比較する。NAC 施行の有無に注目し免疫微小環境中の B細胞 subset の変動を明らかにすることで、これまで見出せなかった発癌・治療抵抗性に関わる新規の B細胞 subset や微小環境中の細胞相互作用を同定する。さらにその機序に基づく新たな治療法の開発につなげ、最終的には胃癌患者の予後改善を目指すことを目的とした。

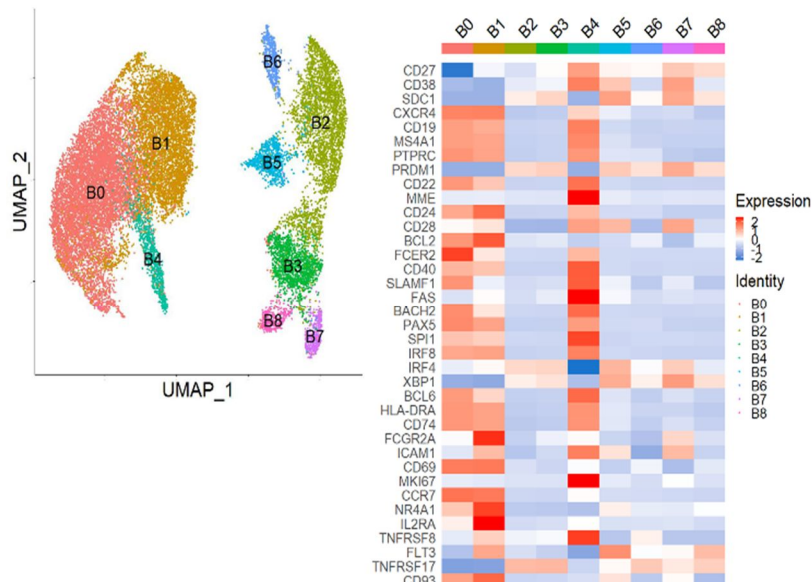
3. 研究の方法

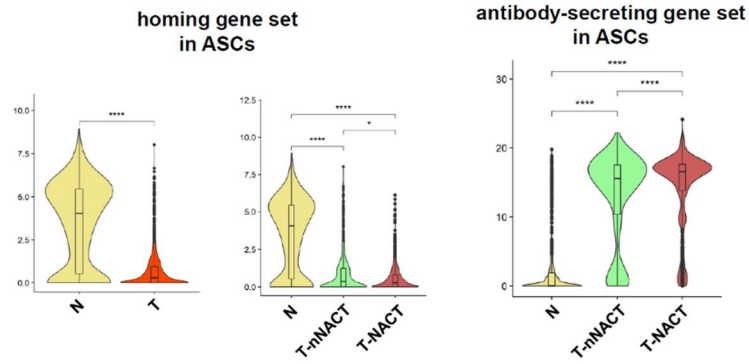
当科で胃切除術を施行した胃癌症例(未治療群、化学療法群、化学療法+抗PD-1投与群)から採取した腫瘍部と非腫瘍部を対象とし、B細胞の subset や機能関連遺伝子を scRNA-seq を用いて評価した。さらに腫瘍浸潤 CD8陽性 T細胞の免疫チェックポイント分子の発現についても比較評価を行った(右図)。



4. 研究成果

B細胞には未熟性B細胞、活性化B細胞、メモリーB細胞といった heterogeneity が存在することが明らかになった(右上図)。また、胃癌部では抗体依存性細胞障害性作用に関わる形質細胞の IgG 関連遺伝子発現が非腫瘍部と比較して有意に高値であった。次に胃癌と同様の上部消化管癌である食道癌浸潤 B細胞について評価したところ、化学療法後に共刺激や CD40 シグナルが亢進していた。また、腫瘍浸潤抗体産生細胞の割合は、遊走能の低下とともに増加し、抗体産生細胞の抗体産生関連遺伝子の発現は化学療法後に上昇していた(下図)。





近年、B細胞は腫瘍局所で3次リンパ濾胞を形成し、CD8陽性T細胞の機能活性を促進することが報告されており、CD8陽性T細胞の発現についても評価した。化学療法を施行した胃癌症例ではCD8陽性T細胞のCTLA4の発現が未治療症例やNivolumab治療症例よりも高かったが、LAG3はNivolumab症例で発現が低かった。このことから、治療により標的となり得る免疫チェックポイント分子が異なり、化学療法とCTLA4標的治療が有効である可能性が考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tsutsumi Chikanori, Ohuchida Kenoki, Katayama Naoki, Yamada Yutaka, Nakamura Shoichi, Okuda Sho, Otsubo Yoshiki, Iwamoto Chika, Torata Nobuhiro, Horioka Kohei, Shindo Koji, Mizuuchi Yusuke, Ikenaga Naoki, Nakata Kohei, Nagai Eishi, Morisaki Takashi, Oda Yoshinao, Nakamura Masafumi	4. 巻 27
2. 論文標題 Tumor-infiltrating monocytic myeloid-derived suppressor cells contribute to the development of an immunosuppressive tumor microenvironment in gastric cancer	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Gastric Cancer	6. 最初と最後の頁 248 ~ 262
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10120-023-01456-4	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 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 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, Nakata K, 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 -

〔学会発表〕 計8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、孫起和、林田さゆり、片山直樹、寅田信博、堀岡宏平、進藤幸治、水内祐介、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 シングルセル解析による免疫細胞プロファイリングに基づいた胃癌個別化治療のための標的分子探索
3. 学会等名 第124回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2024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 single cell RNA sequenceを用いた食道癌浸潤B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 堤親範、大内田研宙、片山直樹、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 胃癌免疫抑制性微小環境における腫瘍浸潤多形核系骨髄由来抑制細胞の重要性
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 堤親範、大内田研宙、片山直樹、大坪慶志輝、中村祥一、奥田翔、久野恭子、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 scRNA-seqを用いたHER2陽性胃癌におけるCD8陽性T細胞の細胞障害性分子の解明
3. 学会等名 第95回日本胃癌学会総会
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 中村祥一、大内田研宙、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 scRNA-seqを用いた術前化学療法に伴う食道癌内B細胞の不均一性の変動の解析
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 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
研究分担者	進藤 幸治 (SHINDO Koji) (00788432)	九州大学・大学病院・講師 (17102)	
研究分担者	藤田 逸人 (FUJITA Hayato) (40611281)	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	堤 親範 (TSUTSUMI Chikanori)		
研究協力者	中村 祥一 (NAKAMURA Shoichi)		

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