

令和 6 年 5 月 22 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：2022～2023

課題番号：22K20943

研究課題名（和文）スキルス胃癌の癌関連繊維芽細胞に着目したナノテクノロジー応用新規治療開発

研究課題名（英文）Development of a new treatment using nanotechnology focusing on cancer-related fibroblasts for scirrhous gastric cancer

研究代表者

松本 奏吉（MATSUMOTO, Sokichi）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：60963626

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）：スキルス胃癌を含む非充実性低分化型胃腺癌（por2）に着目したscRNA-seqを行った。por2胃癌CAFに過去に報告されている筋繊維性CAFや炎症性CAFを確認し、さらに筋繊維性CAFに特徴的な遺伝子発現が高いクラスターの割合がpor2以外の胃癌と比較して多く、細胞増殖に関わる経路が有意に上がっていた。por2胃癌のCAFには不均一性があり、筋繊維性CAFが腫瘍内へのCD8陽性T細胞浸潤を抑制している可能性が示唆された。GSEA解析ではpor2胃癌で神経伝達受容体活性が有意に高く、コアエンリッチメント遺伝子の中で治療標的になる可能性がある分子を特定することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、scRNA-seqを用いた研究で、膀胱癌には筋線維性CAF、炎症性CAF、抗原提示CAFが存在することが報告され、さらに大腸癌では炎症性CAFが予後不良因子であることが示された。しかし、スキルス胃癌CAFのheterogeneityの報告はこれまでにない。

研究成果の概要（英文）：We performed scRNA-seq focusing on noncomplex poorly differentiated gastric adenocarcinomas (por2), including scirrhous gastric carcinomas. We identified myofibrillary and inflammatory CAFs previously reported in por2 gastric cancer CAFs. Furthermore, the proportion of clusters with high gene expression characteristic of myofibrillary CAFs was higher than that of non-por2 gastric cancers, and pathways involved in cell proliferation were significantly elevated. The heterogeneity of CAFs in por2 gastric cancers suggested that myofibrillary CAFs may suppress CD8-positive T cell infiltration into the tumor. GSEA analysis showed significantly higher neurotransmitter receptor activity in por2 gastric carcinoma, identifying potential therapeutic target molecules among the core enrichment genes.

研究分野：医歯薬学

キーワード：スキルス胃癌 CAF DDS シングルセル遺伝子発現解析

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

スキルス胃癌は根治切除後であっても5年生存率4%と極めて予後不良である。スキルス胃癌は豊富な間質成分を有することが特徴であり、スキルス胃癌CAFが腫瘍微小環境をリモデリングすることが報告されている [Miki, Front. Oncol, 2020]。一方で、豊富な線維芽細胞を有する脾癌でCAFのheterogeneityが報告された [Elyada, Cancer Discov, 2019]。しかし、スキルス胃癌CAFのheterogeneityを明らかにした報告はなく、スキルス胃癌CAFの研究は脾癌と比較して後進的である。また、スキルス胃癌は診断時に切除不能であることが多く、切除不能スキルス胃癌に対して全身化学療法が推奨される。しかし、一定の割合で起こる有害事象の出現により治療継続が困難になる症例も存在する。全身化学療法による有害事象のコントロールが治療継続の鍵となっており、有害事象発生率が低い新規治療開発が期待されている。

2. 研究の目的

本研究では、スキルス胃癌におけるCAFのheterogeneityを明らかにし、炎症性CAFにおける腫瘍促進に関連する標的分子を明らかにする。そして、腫瘍特異的DDSを利用したスキルス胃癌CAFに特異的な新規治療を開発することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ヒトスキルス胃癌症例の集積と炎症性CAFにおける腫瘍促進分子の同定

ヒトスキルス胃癌の手術検体を採取し、scRNA-seqを用いて、スキルス胃癌における炎症性CAFにおける腫瘍促進関連分子を同定し、治療標的分子候補を検索する。そして、炎症性CAFの標的分子を多重免疫染色でタンパク質発現を確認する。

(2) 3D観察モデルによる炎症性CAFの誘導と炎症性CAFの機能実証

CAFは2D培養下では筋線維性CAFが誘導されることが報告されている。炎症性CAFを誘導するために、まずマウス胃癌移植モデルから3D培養下でCAFを樹立し、その後IL-1刺激によって炎症性CAFを誘導する [Nicolas, Cancer Cell, 2022]。そして、マウス脾臓から抽出して活性化したCD8陽性T細胞を炎症性CAFと共培養し、活性化CD8陽性T細胞の増殖活性や細胞障害機能(GZMB, PRF1, IFNG)の変化を蛍光色素CFSEとPCRで評価する。

(3) 項目(1)の標的分子制御により変動する炎症性CAFを評価

項目(2)で誘導した炎症性CAFに対して、項目(1)で同定した標的分子をRNA干渉により発現を抑制する。標的分子制御によって変化する炎症性CAFの腫瘍促進関連分子発現と、標的分子を制御した炎症性CAFと共培養した活性化CD8陽性T細胞の機能変化を評価する。

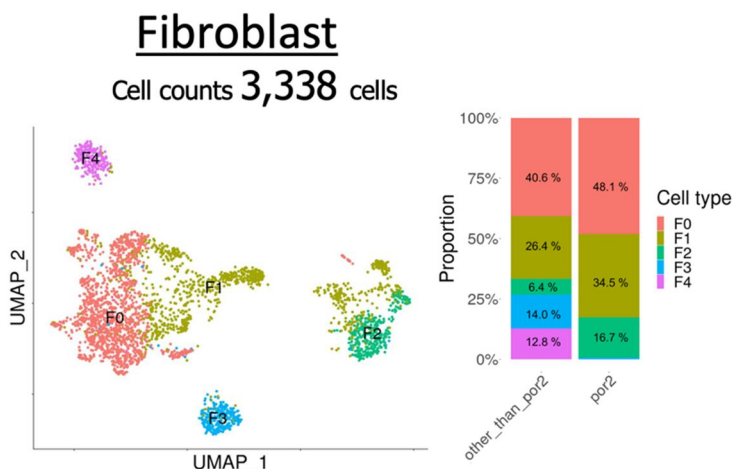
(4) 標的分子阻害薬を組み込んだナノ粒子を用いた新規治療開発

乳酸・グリコール酸重合体ナノ粒子である標的分子阻害薬担持ナノ粒子の製造を、すでに所属研究室から委託した経験がある先端医療開発株式会社で作成する。作成した標的分子阻害薬担持ナノ粒子をマウス胃癌移植モデルに投与することで変化する腫瘍径や生存期間を評価する。具体的にはマウス胃癌移植モデルに胃癌細胞株移植群、胃癌細胞株+炎症性CAF移植群、胃癌細胞株+炎症性CAF移植+標的阻害薬分子担持ナノ粒子投与群で腫瘍微小環境を比較する。また、胃癌細胞株+炎症性CAF+標的分子阻害薬静脈投与群との比較で有害事象の評価も行う。

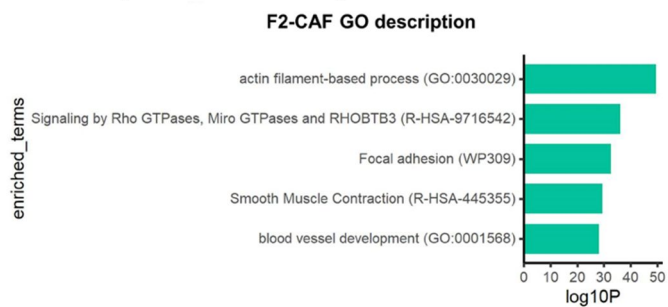
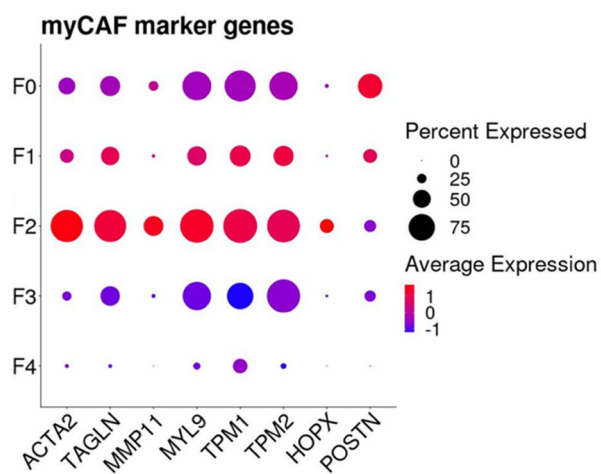
4. 研究成果

スキルス胃癌を含む非充実性低分化型胃腺癌(por2)に着目したシングルセル遺伝子発現解析を行った。その結果、por2胃癌CAFにも過去に報告されている筋線維性CAFや炎症性CAFの集団が存在することを確認した。また、por2胃癌では筋線維性CAFに特徴的な遺伝子発現が高い一つのクラスターの割合がpor2以外の胃癌と比較して多く、細胞増殖に関わる経路が有意に上がっていた。por2胃癌のCAFにはheterogeneityがあり、筋線維性CAFが腫瘍内へのCD8陽性T細胞浸潤

を抑制している可能性が示唆された。さらにGSEA解析ではpor2胃癌で神経伝達受容体活性が有意に高く、coreenrichmentgeneの中で治療標的になる可能性がある分子を特定するこ



とができた。現在までにスキルス胃癌症例のシングルセル遺伝子発現解析データを集積できており、さらなる詳細な解析を行う予定である。また、今後は同定した分子の機能的意義を評価し、治療候補分子標的ナノテクノロジーを応用した有害事象が少ない、かつCAF特異的治療の開発を目指す。



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 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 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0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 堤親範、大内田研宙、片山直樹、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 por2胃癌・食道胃接合部癌における癌関連線維芽細胞とCD8陽性T細胞の相互作用の解明
3. 学会等名 第78回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 片山直樹、大内田研宙、堤親範、奥田翔、久野恭子、中村祥一、進藤幸治、森山大樹、水内祐介、中村雅史
2. 発表標題 scRNA-seqを用いた胃癌におけるCPSとCD8陽性T細胞との関連と意義
3. 学会等名 第78回日本消化器外科学会総会
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細胞の疲弊化分子の解明
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 片山直樹、大内田研宙、堤親範、大坪慶志輝、奥田翔、久野恭子、中村祥一、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を用いた胃癌におけるT細胞のサブタイプ分類およびCPSとの関連について
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

〔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	堤 親範 (TSUTSUMI Chikanori)		
研究協力者	片山 直樹 (KATAYAMA Naoki)		

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