



PRESS RELEASE (2023/01/18)

大腸癌浸潤先進部癌微小環境における情報交換を1細胞レベルで解明 大腸癌に対する新たな免疫チェックポイント阻害剤に向けた一歩

ポイント

- ① 大腸癌は主要な癌関連死の一つで、大腸癌に対する新たな治療方法が求められている。
- ② シングルセル RNA シーケンス(scRNA Seq)と空間的転写産物解析(VISUIM)とを統合解析する事によって大腸癌の増殖/浸潤/免疫抑制に関与する細胞を特定しクロストーク (情報交換機構) を解明した。
- ③ 本研究成果は、免疫チェックポイント阻害剤(ICB)を基盤とする免疫療法において、大腸癌に対する ICB との併施等の開発に役立ち、大腸癌関連死の逡減に貢献する事が期待される。

概要

従来はバルクでの RNA シーケンスをする事しか出来なかったために1細胞レベルでの大腸癌浸潤先進部での現象が分かっておらず、空間情報を有したまま大腸癌浸潤先進部のイベントの解明が望まれていました。

大腸癌浸潤先進部の大腸癌の増殖能・浸潤能・免疫寛容に関与する新たな仕組みを解明しました。

九州大学別府病院外科の三森功士教授、九州大学大学院医学系学府博士課程4年の大里祐樹、名古屋大学大学院医学系研究科システム生物学分野の島村徹平教授、小嶋泰弘前特任講師の研究グループは、Publicのアジア人大腸癌患者(23名)のシングルセル RNA シーケンス(scRNA Seq、後述参照)とアジア人大腸癌患者(1名)の空間的転写産物解析(VISUIM、後述参照)を用いて統合解析を実施し、1細胞レベルで大腸癌の浸潤先進部での現象を明らかにしました。また、大腸癌検体20例に対して免疫組織化学染色を施行する事によって再現性を確認しました。

マウスの大腸癌 HLA-G ノックアウト細胞(※1)をマウスの皮下に移植する事によって再現性を確認しました。

今回の発見は第2の免疫チェックポイントといわれる悪性マクロファージを標的にした治療法の提案であり、大腸癌致死数逡減に繋がる新たな治療アプローチとなる事が期待されます。

本研究成果は米国の雑誌「Cell Reports」に2023年1月17日に掲載されました。

【研究の背景と経緯】

大腸癌は、わが国において罹患数、致死数ともに多く予後不良な疾患です。免疫チェックポイント阻害剤はじめ新たな革新的技術も実装化されてはきましたが、更なる予後改善のためには大腸癌の進化機構や免疫寛容獲得の機序への理解を更に深化する事が求められています。

九州大学別府病院では先行する進行大腸癌の一腫瘍多領域検体解析(MRA、※2)で、腫瘍内の全領域に共通して存在するクロナルな変異が存在し、そこに各ブロック固有の、いわゆるサブクロナル変異が存在してゲノム変異の多様性は形成され、難治性を呈することを明らかにしました。また、前癌病変および早期大腸癌においても同様の MRA アプローチを用いて、癌の早期の段階では様々なドライバー変異自身が多様性を形成しますが、強力なドライバー変異が選択され進行癌へと進展することを示し、癌の進化のモデルを示しました。

しかし、どちらの研究も腫瘍細胞自身の DNA の変化を解明していますが、癌微小環境の反応に関する視点が欠如しています。

また、ごく最近『シングルセル RNA シーケンス(scRNA Seq)』と『空間的転写産物シーケンス(VISUUM)』とが開発されました。前者は、組織を構成する個々の細胞に対して RNA シーケンスを施行し遺伝子発現レベルを測定する技術であり、1 細胞レベルでの解析をすることが出来るが空間情報を逸しています。一方、後者は、組織を空間情報を有した状態で RNA シーケンスを施行する技術であり、1 細胞レベルでの解析をする事は出来ませんが、空間情報を有しています。

両者を統合解析する事によって大腸癌内の腫瘍内不均一性(特に浸潤先進部)を 1 細胞レベルで明らかにする事が可能になりました。われわれは本論文において浸潤先進部癌細胞の進展を助ける細胞とクロストークする遺伝子を探索する事で新たな治療標的細胞/分子を探索しました。

【研究の内容と成果】

本研究では、Public のアジア人大腸癌患者(23 名)の scRNA Seq とアジア人大腸癌患者(1 名)の VISUUM を用いて統合解析を実施しました。まず、Public のアジア人大腸癌患者(23 名)のシングルセル RNA シーケンス・データを用いて次元圧縮を実施しました。その結果、上皮細胞は 14 個のクラスターに分類されました。この 14 種のクラスターの内、大腸癌浸潤先進部に局在するクラスター5、クラスター7 の 2 種類に注目しました。これらの大腸癌浸潤先進部と『共局在(※3)』している細胞は SPP1+マクロファージ(※4)である事が分かりました。ここで、SPP1+マクロファージを中心とした細胞間コミュニケーションを解析しました。その結果、大腸癌浸潤先進部の大腸癌細胞から分泌される HLA-G により SPP1+マクロファージが生産され、SPP1+マクロファージは更なる SPP1+マクロファージを誘引/CD8 の細胞障害性の低下/大腸癌細胞の増殖能・浸潤能の亢進等をしている事が示されました。また、大腸癌検体 20 例に対して免疫組織化学染色を施行する事によって再現性を確認しました。更にマウスの大腸癌細胞における HLA-G ノックアウトによりマウスの皮下移植腫瘍の増殖能低下と SPP1+マクロファージ局所集積の回避を確認しました。

【今後の展開】

SPP1+マクロファージは M2 マクロファージと同義であり第 2 の免疫チェックポイントと呼ばれ、免疫療法における新たな治療標的として注目されています。本研究で明らかにした HLA-G は第 2 の免疫チェックポイントを制御する上で重要な役割を担う分子として期待されます。大腸癌では免疫チェックポイント阻害剤に対する適応として MSI-H 大腸癌(※5)が知られており実装化されていますが、本研究の成果により症例数の多い MSS 大腸癌に対する新たな治療アプローチになる可能性が示唆されました。

【参考図】

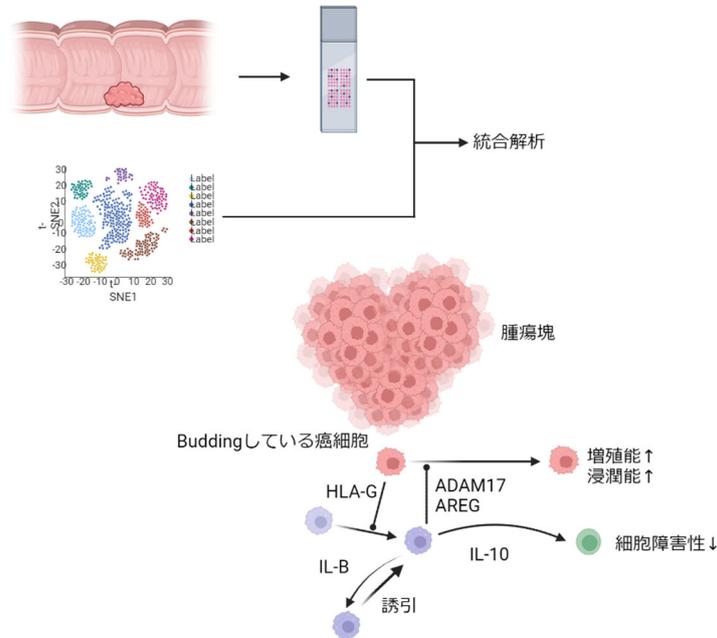


図1 簇出している大腸癌細胞による間質応答

シングルセル RNA シーケンスと空間的転写産物シーケンスとの統合解析に加えて、20 例の大腸癌検体の免疫組織化学染色、マウスの同種移植実験により、大腸癌上皮細胞のうち、特に簇出(budding、※6)している大腸癌細胞において特に HLA-G を分泌する事で SPP1+マクロファージを誘導することも明らかにした。

【用語解説】

(※1) 大腸癌 HLA-G ノックアウト細胞：HLA-G は正常組織では主に胎盤に発現し分泌され母体の免疫系から胎児を保護する役割を担っており成人の正常組織には発現を認めない。他方多くの癌で HLA-G の発現を認め免疫逃避に関わっていると考えられている。本研究では HLA-G 遺伝子に変異を加えて、HLA-G タンパクを作れないようにした大腸癌細胞を用いて実験を行った。

(※2) 一腫瘍多領域検体解析(MRA)：ひとつの腫瘍において、どのように重要ながん遺伝子変異が蓄積して進化したかを解析する上で、複数箇所の検体をシーケンスして統合解析し進化系統樹を描く手法。

(※3) 共局在：VISIUM 解析において共に存在する頻度の高い細胞間の関係性。

(※4) SPP1+マクロファージ：マクロファージには癌細胞に対して抑制的に働く善玉(M1)と癌細胞の進展に寄与する悪玉(M2)とがあるが、後者と同義のマクロファージのこと。

(※5) MSI-H 大腸癌：ゲノム DNA は常に突然変異を来たしているが、その修復酵素が備わっており多くはがん化に到らない。しかしゲノム修復機構が破綻している細胞ではゲノム変異が蓄積しがん化する。またゲノムには繰り返し(マイクロサテライト)配列が散在するが、ゲノム修復機構が破綻すると細胞複製時に不安定な結果をもたらす。この現象をマイクロサテライト不安定性(MSI)とよび、このような細胞を有するのが MSI-H 大腸癌症例である。

(※6) 簇出：大腸癌において、癌細胞が個々に、あるいは小胞巣を形成しつつ散在性に間質内に浸潤する組織所見。

【謝辞】

本研究は、JSPS 科研費 (21K07179, 20H05039, 19H03715, 19K09176)、公益財団法人 大分がん研究振興財団 (JP20cm0106475h0001)、武田科学振興財団 (20cm0106475h0001); 科学研究費助成事業 (19H03715, 19K09176, 20H05039, 20K08930, 20H04841, 20H04281, 20K21832, 20K22839); JST, ACT-X (JPJPMJAX20AB)、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (19cm0106504h0004, 19ck0106259h0003, JP20ek0109488、JP21wm0425007)、科学技術振興機構 (Moonshot R&D, JPMJMS2025). の助成を受けたものです。

【論文情報】

掲載誌：Cell Reports

タイトル：Spatial and single-cell transcriptomics decipher the cellular environment containing HLA-G+ cancer cells and SPP1+ macrophages in colorectal cancer

著者名：Yuki Ozato, Yasuhiro Kojima, Yuta Kobayashi, Yuuichi Hisamatsu, Takeo Toshima, Yusuke Yonemura, Takaaki Masuda, Kouichi Kagawa, Yasuhiro Goto, Mitsuaki Utou, Mituko Fukunaga, Ayako Gamachi, Kiyomi Imamura, Yuta Kuze, Junko Zenkoh, Ayako Suzuki, Atsushi Niida, Haruka Hirose, Shuto Hayashi, Jun Koseki, Eiji Oki, Satoshi Fukuchi, Kazunari Murakami, Taro Tobo, Satoshi Nagayama, Mamoru Uemura, Takeharu Sakamoto, Masanobu Oshima, Yuichiro Doki, Hidetoshi Eguchi, Masaki Mori, Takeshi Iwasaki, Yoshinao Oda, Tatsuhiro Shibata, Yutaka Suzuki, Teppei Shimamura, Koshi Mimori

D O I : 10.1016/j.celrep.2022.111929

【お問合せ先】

<研究に関すること>

九州大学病院別府病院 外科

教授 三森 功士

TEL : 0977-27-1650 FAX : 0977-27-1651

Mail : mimori.koshi.791@m.kyushu-u.ac.jp

名古屋大学大学院医学系研究科システム生物学分野

教授 島村 徹平

TEL : 052-744-1980 FAX : 052-744-2029

Mail : shimamura@med.nagoya-u.ac.jp

<報道に関すること>

九州大学 広報室

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimu.kyushu-u.ac.jp