

大腸癌浸潤先進部がん微小環境における情報交換を一細胞レベルで解明

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(現在:東京医科歯科大学難治疾患研究所に所属)、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の大里祐樹の研究グループは、アジア人大腸がん患者のシングルセル RNA シークエンス^{※1} と空間トランスクリプトーム解析^{※2} を用いて統合解析を実施し、HLA-G を介した SPP1+マクロファージの誘導という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。

従来の研究においては一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において腫瘍の浸潤を可能にする分子機構の解明が望まれていました。本研究では、大腸癌患者の一細胞、並びに空間解像度を伴った網羅的な転写産物の観測データの統合的な情報解析により、がん細胞由来の HLA-G 分子が、腫瘍の悪性化に大きく関わる SPP1+マクロファージの誘導に関与することを示しました。さらに、これらの解析結果は、大腸癌検体 20 例に対する免疫組織化学染色、並びにマウスへの大腸癌 HLA-G ノックアウト細胞の移植実験により、その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ことが期待されます。

本研究成果は、国際学術誌「Cell Reports」オンライン版に 2023 年 1 月 17 日に掲載されました。

ポイント

- 大腸癌においてシングルセル RNA シークエンスと空間トランスクリプトーム解析とを統合解析
- HLA-G を介した大腸癌の増殖/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
- 新規免疫チェックポイント阻害剤(ICB)を基盤とする免疫療法への発展が期待

1. 背景

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となっています。免疫チェックポイント阻害剤をはじめとして新たな革新的技術も実装化されてきてはいますが、更なる予後改善のためには大腸がん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。

本研究グループでは、先行する進行大腸癌の一腫瘍多領域検体解析(MRA1)により、腫瘍内の全領域に共通して存在するクローナルな変異が存在し、そこに各ブロック固有の、いわゆるサブクロー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するものの、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、新たな癌の進化のモデルを示しました。

しかし、どちらの研究においても腫瘍細胞自身の DNA の変化の解明を進めてきましたが、がん微小環境の反応に関してはその解明が不十分なままとなっております。近年、シングルセル RNA シークエンスと空間トランスクリプトーム解析の発展により、組織を構成する個々の細胞に対する遺伝子発現レベルの定量化や、1 細胞レベルでの遺伝子発現量の解析や、組織内における転写産物の空間分布を網羅的に把握することが可能になりつつあり、両者を統合解析する事によって、浸潤先進部といった空間的なコンテキストと紐づけて大腸癌の腫瘍内不均一性を 1 細胞レベルで明らかにする事が可能となりました。このような統合的なアプローチにより、本論文においては、浸潤先進部がん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。

2. 研究成果

本研究では、Public のアジア人大腸がん患者(23 名)のシングルセル RNA シークエンスデータとアジア人大腸癌患者(1 名)の空間トランスクリプトームデータを用いて統合解析を実施しました。まず、Public のアジア人大腸がん患者(23 名)のシングルセル RNA シークエ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+マクロファージである事が分かりました。ここで、腫瘍の悪性度と関連が指摘されている 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に着目した解析を行ったところ、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、これらの解析結果について、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その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。

3. 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。大腸がん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 大腸がん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。

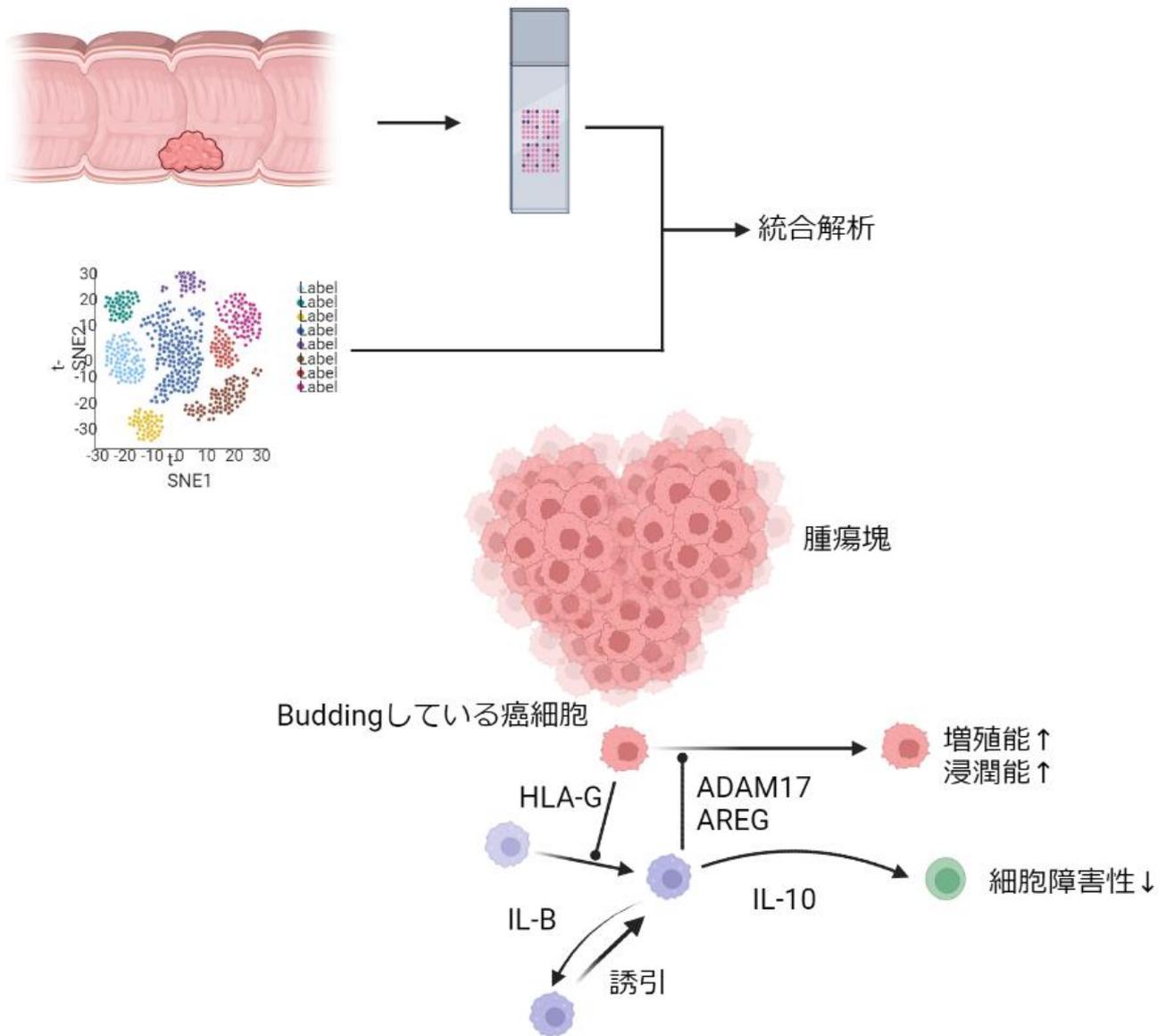


図1 簇出^{※4}している大腸癌細胞による間質応答

シングルセル RNA シークエンスと空間的転写産物シークエ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、大腸がん上皮細胞のうち、特に簇出(budding)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。

4. 用語説明

※1 シングルセル RNA シークエンス

一細胞ごとの区別をつけた状態で RNA 分子の網羅的なシークエンシングを行うことにより、細胞ごとの遺伝子発現量の網羅的な定量化を行う手法

※2 空間トランスクリプトーム解析

転写産物の網羅的な発現の解析を各転写産物の組織内における空間的コンテキストを保持したまま行う技術。普及技術においては、一細胞レベルの解像度となっていないため、シングルセル RNA シークエンスとの統合解析が重要となる。

※3 共局在

組織中において、異なる特徴を持つ細胞集団が類似した空間的分布を呈すること。空間トランスクリプトーム解析により組織全体の細胞腫にわたる網羅的な解明が可能になりつつある。

※4 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。

5. 発表雑誌

掲載誌: Cell Reports

論文タイトル: Spatial and single-cell transcriptomics to decipher the cellular society 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, Takeharu Sakamoto, Haruka Hirose, Shuto Hayashi, Jun Koseki, Eiji Oki, Satoshi Fukuchi, Kazunari Murakami, Masanobu Oshima, Taro Tobo, Satoshi Nagayama, Mamoru Uemura, Yuichiro Doki, Hidetoshi Eguchi, Masaki Mori, Takeshi Iwasaki, Yoshinao Oda, Tatsuhiro Shibata, Yutaka Suzuki, Teppei Shimamura, Koshi Mimori

DOI:10.1016/j.celrep.2022.111929

論文掲載 URL:

[https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247\(22\)01830-7](https://www.cell.com/cell-reports/fulltext/S2211-1247(22)01830-7)