

35. 癌組織中の単一細胞糖鎖プロファイリングと標的治療応用

東京大学医学部附属病院消化器内科 講師 早河 翼

概要

本研究は、我が国において依然として予後不良である進行胃癌・大腸癌に対し、腫瘍細胞に特異的に生じるムチン・糖鎖構造異常に着目し、その機能的意義の解明と新規治療戦略の開発を目的として実施された。申請者は予備的検討により、これらの癌発生過程において糖鎖構造の変化が腫瘍増殖および進展に深く関与し、治療標的となり得ることを見出している。本研究では、単一細胞解析および空間解析技術を統合することで、腫瘍組織における糖鎖およびレクチン受容体の発現動態を細胞種特異的かつ空間的に解明し、糖鎖—レクチン受容体を介した腫瘍—免疫相互作用の全体像の理解を目指した。

慢性炎症下の胃および大腸においては、異常なムチン・糖鎖構造を有する化生細胞の増殖が認められた。特に、新規に樹立した Muc6 欠損マウスでは、異常糖鎖を有する腸型細胞の増生とともに胃癌の自然発症を認め、腫瘍細胞におけるマンノース糖鎖の増加と、それに対応するマンノース受容体 MRC1 (CD206) 陽性腫瘍関連マクロファージ (TAM) の著明な浸潤が確認された。同様の現象は、大腸炎症発癌モデルにおいても認められ、胃・大腸に共通する糖鎖依存的腫瘍微小環境の存在が示唆された。

網羅的解析として、bulk レベルでの糖鎖およびレクチン受容体発現解析に加え、単一細胞 RNA シークエンスとレクチンアレイを統合した単一細胞 Glycan-RNA 解析 (scGR-seq) を実施し、腫瘍細胞および免疫細胞における糖鎖・受容体発現パターンを解明した。さらに、マウスモデルおよびヒト FFPE 検体を用いた digital spatial profiling により、糖鎖とレクチン受容体の空間的共局在と細胞間相互作用の実態を明らかにした。

機能解析として、腫瘍細胞と TAM の共培養系において糖鎖分解介入を行い、各糖鎖構造が免疫細胞機能に与える影響を検討した。その結果、腫瘍型マンノース糖鎖は TAM の抗原提示能を低下させ、免疫抑制状態を誘導することが明らかとなった。また、Kras 依存的胃腫瘍モデルでは、腫瘍細胞由来クラステリンと TAM 上の MRC1 を介した相互作用が免疫抑制的腫瘍微小環境の形成に寄与することが示唆された。さらに、大腸 Kras 変異モデルでは、腫瘍細胞のシアル酸と肥満細胞上の siglec-F を介した新たな相互作用が示唆され、炎症発癌における糖鎖依存的免疫制御の多様性が明らかとなった。

治療応用として、抗 CEA 抗体に異常 N 型糖鎖分解酵素 Endo-H を結合させた抗体薬物複合体 (CEA-EndoH) を開発し、その抗腫瘍効果を検証した。その結果、本複合体は腫瘍細胞のマンノース糖鎖発現を低下させるとともに、共存するマクロファージの M2 分化を抑制し、腫瘍微小環境の免疫抑制状態を改善することが確認された。

以上より、腫瘍細胞に発現する異常糖鎖は「糖鎖免疫チェックポイント」として機能し、これを標的とすることで腫瘍微小環境を再構築しうることが示された。本研究は、糖鎖生物学と腫瘍免疫学を融合した新たな治療概念を提示するものであり、進行消化器癌に対する革新的治療法の創出に資する重要な知見を提供するものである。

背景および目的

胃癌・大腸癌は本邦で頻度が高く、手術不能進行癌の根治は現在でも困難である。申請者は予備的検討によりこれらの癌発生過程で生じるムチン・糖鎖構造の変化が癌細胞の増殖・進展に極めて重要であり、治療標的とな

りうることを見出した。癌組織中の糖鎖とレクチン受容体の発現状態を単一細胞レベルで把握し、糖鎖・レクチン受容体依存的な相互作用の機序解明と同標的治療の開発を行う。

慢性炎症下の胃腺管では、異常なムチン・糖鎖構造を有する腸上皮化生細胞が増殖する。新規に樹立した胃のムチンコア蛋白である Muc6 の欠損マウスでは、異常な糖鎖構造をもつ腸型細胞が増生し胃癌を自然発症することが分かった。Muc6 欠損胃癌細胞ではマンノース糖鎖の発現増加を認め、腫瘍周囲にはマンノースに結合する MRC1 受容体を発現するマクロファージ (TAM) が著明に浸潤していることを確認している。一方、大腸の炎症発癌過程では、胃上皮化生と呼ぶべき胃分化マーカーの異常発現と糖鎖異常が認められ、独自の大腸炎症発癌マウスモデルにおいて Muc6 欠損胃癌と類似のマンノース発現・MRC1 陽性 TAM 浸潤を認めている。

本研究では、レクチン受容体ライブラリーを含む網羅解析により胃・大腸癌組織中の細胞種ごとの糖鎖・レクチン受容体発現パターンを把握し、癌細胞と免疫細胞の糖鎖・レクチン受容体を介した細胞間相互作用機序解明と同相互作用阻害による影響を検証し、糖鎖標的薬物複合体の開発として、異常糖鎖の分解酵素を結合させた抗体薬物複合体を作製し、新しい癌治療ブレイクスルーを目指す。

方法

胃癌マウスモデルと大腸癌マウスモデルを用い、各モデルの腫瘍サンプルの糖鎖・遺伝子解析を行った。Bulk サンプルでの糖鎖・レクチン受容体発現解析に加え、単一細胞 RNA シークエンス解析とレクチンアレイを組み合わせた単一細胞 Glycan-RNAseq (scGR-seq) を実施する。並行して、同マウスモデルおよび胃癌・大腸癌患者の FFPE 検体を用い、糖鎖・レクチンの多重免疫染色と遺伝子発現解析を同時に施行可能な digital spatial profiling 法により空間的に解析した。

癌細胞と免疫細胞 (TAM) の共培養を行い、そこに糖加水分解介入を加えつつ各糖鎖成分による免疫細胞活性化への影響を解析した。各細胞分画の遺伝子発現を RNAseq で解析するほか、活性化マーカーの発現変化を蛍光顕微鏡観察・flow cytometry で確認した。

胃・大腸の腫瘍細胞を良好に標識可能な抗 CEA 抗体、異常 N 型糖鎖の分解酵素である Endo-H を結合させた抗体薬物複合体を作成し、その抗腫瘍効果を検証した。

結果および考察

MUC6 変異胃癌モデルに加え、O 型糖鎖修飾に必須の Cosmc 遺伝子のノックアウトによる胃腫瘍モデル、マンノース結合糖蛋白である分泌型クラスレリン前駆体を高発現する Kras 依存的胃腫瘍モデル、スキルス胃癌を模倣する p53+Tgfbr2+Cdh1 変異モデル、および大腸腫瘍モデルとして Apc 変異 + DSS 腸炎モデル、Apc+Kras 変異モデルの単一細胞遺伝子解析および空間解析を実施した。分泌型クラスレリン前駆体の発現は Kras-MAPK 経路依存的な直接制御を受け、腫瘍細胞のクラスレリンとマクロファージのマンノース受容体 CD206 を介した相互作用により免疫抑制状態が生じ、結果として腫瘍促進作用を有していることが示唆された。一方、大腸の Kras 変異モデル腫瘍では肥満細胞の集積を認め、肥満細胞上の siglec-F と腫瘍細胞のシアル酸を介した相互作用の存在が示唆された。また、Apc 変異 + DSS 腸炎による炎症発癌性大腸腫瘍モデルでは不可逆的なパネート細胞化生変化が生じており、これに伴い high fucose/high mannose 状態が生じていることが確認された。

培養 TAM に対する腫瘍型マンノースポリマーの刺激により、TAM の抗原提示能低下が惹起されることを確認した。また、CEA-EndoH 複合体により、癌細胞のマンノース発現の低下と、共在マクロファージの M2 分化抑制作用が認められた。

以上の結果より、腫瘍細胞に発現する異常糖鎖は、糖鎖免疫チェックポイントとしての機能を有し、その阻害により腫瘍微小環境の変化を引き起こし、結果として抗腫瘍効果が誘導できる可能性が示唆された。

(完)

発表論文

- 1) Arai J, Hayakawa Y, , Tateno H, et al. ARID1A mutation drives gastric tumorigenesis via activating type 2 immune dominant microenvironment. *iScience*. 2025 Jul 15;28(8):113117.
- 2) Arai J, Iwata R,,,, Hayakawa Y, et al. Muc6-expressing gastric isthmus progenitors contribute to regeneration and metaplasia supported by myeloid-mesenchymal interactions. *bioRxiv* [Preprint]. 2025 Apr 16:2025.04.15.648856. doi: 10.1101/2025.04.15.648856.
- 3) Tu R,, Hayakawa Y, Wang TC. Tff2 marks gastric corpus progenitors that give rise to pyloric metaplasia/SPEM following injury. *Gut*. 2026. Accepted.