

研究報告書  
令和2年度：A課題

2022年 5月 17日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 金沢大学医薬保健研究域 医学系

住 所 石川県金沢市宝町 13-1

研究者氏名 内藤 尚道

(研究課題)

腫瘍微小環境における血管と血球の相互作用の解明とその治療応用

---

令和3年 3月 31日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【背景及び目的】

がんの克服は、健康な生活を享受できる社会を実現するために解決すべき重要な課題である。腫瘍の病態を理解して、有効な治療法を開発するためには、腫瘍実質細胞の理解だけでなく、血球細胞、血管内皮細胞、線維芽細胞など複数の種類の細胞から構成される腫瘍間質細胞の機能を理解することが必須である。腫瘍間質の血球細胞には、マクロファージ、T細胞、NK細胞など多種類が含まれ、サイトカインの分泌を介して他の細胞に作用し、細胞増殖の制御、免疫応答、血管新生、炎症反応など様々な反応を惹起する。特に血球細胞と血管内皮細胞は腫瘍微小環境で複雑に相互作用しすることが知られている。

そこで本研究では1細胞遺伝子発現解析を用いて、腫瘍間質を構成する全ての間質細胞と血管内皮細胞の遺伝子発現解析を行い、個々の細胞の遺伝子発現情報をもとに、細胞間ネットワークを解明する。そして腫瘍血管内皮細胞と腫瘍内の血球細胞の間に働く分子ネットワークを解明し、さらにそれを阻害することで腫瘍を抑制する新たな方法を開発することを目的とした。

【方法と結果】

GFPマウスにLLC腫瘍を皮下移植し、10日後に作製した腫瘍を酵素処理により1細胞に分散してフローサイトメーターを用いてGFP陽性細胞を分離した。また、同時にCD31陽性CD45陰性の血管内皮細胞を分離した。両細胞群をそれぞれ10Xシステムにて、1細胞遺伝子発現

解析を行なった。得られた情報を解析して結果、血管内皮細胞には遺伝子発現レベルでの細胞多様性が存在し、複数のクラスターに分かれることが明らかとなった。

また得られた情報を NicheNet にて細胞間相互作用解析を実施した。血管内皮細胞に着目して解析した結果、血管内皮細胞の特定のクラスターと相互作用する血球細胞が同定でき、さらに相互作用に関わる遺伝子も同定できた（論文発表準備中のため詳細は非公開）。同定した。ある特定の表面マーカーを持つ血球細胞を腫瘍から分離して、ex vivo の血管新生解析系として知られる Aorta ring アッセイに添加すると、血管新生の抑制が認められた。また別の血球細胞では血管新生の抑制は認めなかったが、in vivo で血管内皮細胞との相互作用に関わるサイトカインを阻害すると、腫瘍の増大効果を認めた。

#### 【考察および展望】

本研究を通じていくつかの新たな知見が得られた。まず腫瘍血管内皮細胞には遺伝子発現レベルでの多様性を認めることを明らかにできた。これは、血管内皮細胞は均一であるとの従来の知見とは異なる。また細胞間相互作用解析を行うと、特定の血管内皮細胞クラスターと強く相互作用する血球細胞が存在することがわかった。この結果も従来の概念と異なり、血管内皮細胞の機能的多様性を示唆している。さらには、本研究結果は、特定の血管内皮細胞と特定の血球細胞の相互作用を標的とすることで、腫瘍の増大や腫瘍血管新生の制御が可能である事を示唆している。今後、血管内皮細胞と血球細胞の相互作用をより詳細に検討し、さらには腫瘍間質細胞全体、そして腫瘍実質細胞との細胞間相互作用解析に発展させることで、新たながん治療の標的の開発につながることを期待できる。

#### 【成果発表】

1. 内藤尚道、第 44 回日本分子生物学会年会、疾患病態における血管内皮細胞の多様性解析、2021 年 12 月 1 日
2. 内藤尚道、第 94 回日本生化学会大会、シングルセル解析による血管内皮細胞の多様性解析、2021 年 11 月 5 日
3. 内藤尚道、第 30 回日本がん転移学会学術集会・総会、腫瘍進展における血管内皮細胞多様性の役割、2021 年 7 月 29 日

#### 【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を賜りました、公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝致します。