

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10109

研究課題名(和文) 消化器癌における腫瘍間質から見た抗癌剤耐性のメカニズムの解明とその克服

研究課題名(英文) Analysis of the mechanism of resistance for anticancer drugs in respect with the stroma of gastrointestinal cancer

研究代表者

石神 純也 (Sumiya, ISHIGAMI)

鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員

研究者番号：90325803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：PD-L1 は腫瘍自体や間質に発現し、免疫寛容に関連した重要な分子である。胃癌に対してPD1、PDL1阻害薬が治療として使用されつつあり、これら分子の寡多が治療効果に関連することがわかってきたものの、これら薬剤は静脈投与であり、末梢血液中のPD-L1 mRNA 発現の意義は不明である。胃癌133例を対象とし、末梢血液中のPD-L1 mRNA の発現を定量RT-PCR法にて評価した。PD-L1 mRNA 発現において切除症例と切除不能症例を比較すると切除不能症例が有意に高値( $P<0.0001$ )であった。T因子と病期と有意の相関を認め、PD-L1 高発現群の予後は有意に予後不良であった。

研究成果の概要(英文)：Immuno-checkpoint blockers anti-PD1 and PDL1 agents have been popularly administrated for advanced gastric cancer patients in Japan. It has been reported that presence of PD1 and PDL1 expression in cancer stroma affects clinical outcome of these patients. In this paper we evaluated PDL1 expression of peripheral blood in the 133 gastric cancer patients by RT-PCR and clinical implication has been discussed. PDL1 expression positively correlated with the depth of the tumor and clinical stage significantly ( $p<0.01$ ). High PDL1 expression group had poorer postoperative course than low expression group. PDL1 expression of the peripheral blood may reflect significant immunologic marker for advanced gastric cancer.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：消化器癌 抗腫瘍免疫 癌間質 抗がん剤

## 1. 研究開始当初の背景

化学療法に進展により画像上腫瘍の縮小がみられ、根治切除可能症例が散見されるようになってきた。その切除標本に腫瘍の遺残が見られ、この腫瘍は繰り返す化療後の遺残腫瘍は治療抵抗性の腫瘍であり、いったん遺残細胞が治療耐性を獲得した病変であり、転移再発を来す場合、これら細胞が原因となりうる。この遺残病変こそ化療効果のない生物学的悪性度のもっとも高い腫瘍群とみなされ、幹細胞様のキャラクターや生物学的悪性度の高い性質を持っていることが予想されるものの、実際消化器癌臨床例で検討した報告は少ない。一方、治療耐性を獲得した腫瘍において腫瘍間質(ニッチ)の環境も通常と大きく異なっており、宿主が有する抗腫瘍免疫機能に対して負に採用することが指摘されており、遺残腫瘍の維持、増殖に腫瘍間質の要因も強く関わっていることが予想される最近、乳癌において腫瘍間質の免疫担当細胞のキャラクターや浸潤程度が化学療法の効果と密接に関係し、治療前に予測できる可能性を指摘しており、癌間質の免疫環境が化学療法の効果に密接にかかわってきていることが報告されている。

一方、immunocheck point 阻害薬がメラノーマや肺癌で著効し、临床上、使用できるようになってきた。消化器癌でも化学療法耐性切除不能胃癌に著効することが示され、治療薬の選択肢の一つとなりうる。腫瘍間質における炎症細胞上のPD1やPDL1発現程度と抗PD1抗体の治療効果と強く関連することが報告されており、この高額な薬剤のレスポンダーの拾い上げに癌間質の情報が有用である可能性が指摘された。今回われわれは消化器癌症例でしばしば経験される化学療法中、治療後の残存腫瘍とその腫瘍間質(特に腫瘍間質に浸潤した免疫担当細胞)のキャラクターを解析することで、これら化療により遺残、再燃した難治性腫瘍の制御・克服に向けた新たな治療戦略を立てていきたいと研究を開始した。

## 2. 研究の目的

消化器癌症例を対象に癌間質の抗腫瘍あるいは抑制性の免疫担当細胞に着目して、これらが化療治療効果判定および化療後の再発リスクの予測に関わっているのかを明らかにし、そのメカニズムを解明したい(研究1)。さらに、難治癌の臨床試験で有望な結果が示されたimmunocheckpoint 阻害薬の作用部位であるリンパ球や抗原提示細胞と腫瘍表面におけるPD1、PDL1発現を検索し、実際にimmunocheckpoint 阻害薬が腫瘍間質(末梢血)における免疫担当細胞のキャラクターの変調が腫瘍の進展や患者の予後にいかに影響をあたえるかを基礎的・臨床的な観点から明らかにした(研究2)。

## 3. 研究の方法

研究1) 化療治療後の胃癌組織における間質の免疫組織学的評価と治療効果、再発に与える影響に関する研究

進行胃癌 62 例を対象とした。内視鏡的にあるいは外科的に得られた組織標本を研究対象とした。腫瘍間質で発現が予測される幹細胞のマーカーとして ZEB-1、NRF-2 を、免疫抑制性マーカーとして foxp3 陽性細胞の浸潤を免疫組織学的に検討した。

研究2) 胃癌手術症例 133 例を対象とした。末梢血液中の PD-L1 mRNA 発現を RT-PCR 法で評価した。末梢血から有核細胞分画を分離したのち PD-L1 mRNA の発現を定量 RT-PCR 法にて評価し、腫瘍因子との関連性や患者の治療経過との関連性を評価した。

## 4. 研究成果

研究1) 各症例の化療評価は CR 2 例、PR 37 例、SD 11 例、PD 12 例であった。幹細胞のマーカーとして ZEB-1、NRF-2 を、免疫抑制性マーカーとして foxp3 陽性細胞の浸潤を免疫組織学的に検討した。NRF-2 陽性症例は陰性症例に比較して有意に予後不良であり、化療奏効程度と負の関連を認めた。

研究2) PD-L1 mRNA 発現において切除症例と切除不能症例を比較すると切除不能症例が有意に高値( $P < 0.0001$ )であった。T 因子と病期と有意の相関を認めた。PD-L1 高発現群の予後は有意に予後不良であった。

現在、代表者は大学から離れており、テーマに関連した実験は大学院生2名が主体となって遂行し、これを学会発表や論文作成に向けて結果の考察などフィードバックを適宜行っている。昨年終了した前回の研究課題で形成されたデータに基づいた論文も作成され、研究1)は学会で発表予定、論文投稿予定であり、研究2)は学会発表され、accept、publishされた。

ついに immunocheck point 阻害薬が胃癌で使用されるようになってきた。腫瘍間質における炎症細胞上の PD1 や PDL1 発現が治療効果との関連性はいまだ不明であり、本研究がレスポンダーの選別の際に有用な情報を提供できる可能性がある。化学療法後の腫瘍間質の情報はますます重要となることが予想される。本研究がそういった症例の治療効果判定に利用できるようにさらに研究を重ねていきたい。最後に腫瘍免疫や癌悪性度に関連したテーマを中心に研究期間の3年で36件の論文作成にかかわることができた。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計36件)

1) Shimonosono M, Ishigami S, (他15名, 14番目) The association of human endogenous retrovirus-H long terminal repeat associating protein 2 (HHLA2) expression

- with gastric cancer prognosis. *Oncotarget*. 2018 24;9(31):22069-22078 ( 査読有 )
- 2) Okubo K, Ishigami S, (他 11 名, 10 番目) Quantitative assessment of fluorescence intensity of ICG in sentinel nodes in early gastric cancer. *Gastric Cancer*. 2018 Mar 7. doi: 10.1007/s10120-018-0816-z. ( 査読有 )
- 3) Haraguchi N, Ishigami S, (他 12 名, 11 番目) Clinical significance of primary tumor score determined by tumor depth and size in patients with resectable gastric cancer. *Oncotarget*. 2018 Jan 4;9(9):8512-8520. doi: 10.18632/oncotarget.23953 ( 査読有 )
- 4) Yamasaki Y, Ishigami S, (他 9 名, 2 番目) Expression of gremlin1 in gastric cancer and its clinical significance. *Med Oncol*. 2018 Feb 2;35(3):30. doi:10.1007/s12032-017-1073-4 ( 査読有 )
- 5) Amatatsu M, Ishigami S (他 13 名 12 番目) Programmed death-ligand 1 is a promising blood marker for predicting tumor progression and prognosis in patients with gastric cancer. *Cancer Sci*. 2018 ;109(3):814 -820. ( 査読有 )
- 6) Nepal P, Ishigami S (他 12 名 10 番目) Management of horizontal duodenal perforation: a report of three cases and review of literature. *Surg Case Rep*. 2017 ;3(1):119. ( 査読有 )
- 7) Noda M, Ishigami S, (他 15 名 12 番目) Correlation Between Biomarker Candidate Proteins with the Effect of Neoadjuvant Chemoradiation Therapy on Esophageal Squamous Cell Carcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2018;25:449-455 ( 査読有 )
- 8) Arigami T, Ishigami S, (他 13 名 12 番目) Clinical application and outcomes of sentinel node navigation surgery in patients with early gastric cancer. *Oncotarget*. 2017 3;8(43):75607-75616. ( 査読有 )
- 9) Arigami T, Ishigami S, (他 11 名 3 番目) Clinical Significance of the Glasgow Prognostic Score in Patients with Gastrointestinal Stromal Tumors. *Anticancer Res*. 2016;36(12):6687-6690. ( 査読有 )
- 10) Kijima T, Ishigami S (他 13 名 12 番目) Combined fibrinogen and neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic marker of advanced esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci*. 2017 ;108(2):193-199. ( 査読有 )
- 11) 石神純也 (他 7 名 1 番目) 難治性腹水を伴った巨大胃 GIST の 1 例 日外連合会誌 42:632-636, 2017 ( 査読有 )
- 12) Arigami T, Ishigami S (他 3 名 11 番目) Clinical Impact of Stomach-partitioning Gastrojejunostomy with Braun Enteroenterostomy for Patients with Gastric Outlet Obstruction Caused by Unresectable Gastric Cancer. *Anticancer Res*. 2016 Oct;36(10):5431-5436. ( 査読有 )
- 13) Arigami T, Ishigami S, (他 13 名 12 番目) Sentinel node navigation surgery for gastroduodenal neuroendocrine tumors: Two case reports. *Medicine (Baltimore)*. 2016;95(26):e4063. ( 査読有 )
- 14) Tsuruda Y, Ishigami S, (他 13 名 2 番目) A Case of Recurred Gastric Cancer of the Anastomosis Completely Responding to Docetaxel, Cisplatin, and S-1 Triplet Therapy. *Gan To Kagaku Ryoho*. 2016;43(4):451-3 ( 査読有 )
- 15) Shimonosono M, Ishigami S (他 11 名 2 番目) A case report of curative distal gastrectomy for stage IV gastric cancer after chemoradiotherapy in a patient with a gastrojejunal gastric bypass. *Surg Case Rep*. 2016;2(1):131 ( 査読有 )
- 16) Aridome K, Ishigami S, (他 14 名 13 番目) A phase II, randomized study of aprepitant in the prevention of chemotherapy-induced nausea and vomiting associated with moderately emetogenic chemotherapies in colorectal cancer patients. *Mol Clin Oncol*. 2016;4(3):393-398 ( 査読有 )
- 17) Arigami T, Ishigami S, (他 15 名 3 番目) A Novel Scoring System Based on Fibrinogen and the Neutrophil-Lymphocyte Ratio as a Predictor of Chemotherapy Response and Prognosis in Patients with Advanced Gastric Cancer. *Oncology*. 2016;90(4):186-92. ( 査読有 )
- 18) Arigami T, Ishigami S (他 12 名 11 番目) Combined fibrinogen concentration and neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic marker of gastric cancer. *Oncol Lett*. 2016;11(2):1537-1544 ( 査読有 )
- 19) Tsuruda Y, Ishigami S (他 15 名 12 番目) A Case of Advanced Esophageal Cancer Patient with Schizophrenia Successfully Treated with Chemoradiation Therapy with S-1 and CDDP. ( 査読有 )
- 20) Kijima Y, Ishigami S (他 11 名 8 番目) Therapeutic mastoplasty combining partial mastectomy with nipple-areola grafting for patients with early breast cancer: a case series. *Surg Today*. 2016;46(10):1187-95. ( 査読有 )
- 21) Desaki R, Ishigami S (他 15 名 14 番目) As a Novel Prognostic Marker, Cysteine/histidine-rich 1 (CYHR1) is a Therapeutic Target in Patients with

Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Ann Surg Oncol. 2017 Feb;24(2):586-593 (査読有)

22) Okumura H, Ishigami S, (他 19 名 18 番目) Ferredoxin Reductase Is Useful for Predicting the Effect of Chemoradiation Therapy on Esophageal Squamous Cell Carcinoma. Anticancer Res. 2015 ;35(12):6471-4. (査読有)

23) Kurahara H, Ishigami S, (他 13 名 9 番目) Prognostication by inflammation-based score in patients with locally advanced pancreatic cancer treated with chemoradiotherapy. Pancreatology. 2015;15(6):688-93. (査読有)

24) Arigami T, Ishigami S (他 13 名 12 番目) Analysis of the Fibrinogen and Neutrophil-Lymphocyte Ratio in Esophageal Squamous Cell Carcinoma: A Promising Blood Marker of Tumor Progression and Prognosis. Medicine (Baltimore). 2015;94(42):e1702 (査読有)

25) Amatatsu M, Ishigami S, (他 11 名 9 番目) A Case of Concurrent Cancer of the Esophagus and Stomach with Severe Sepsis following Chemotherapy Gan To Kagaku Ryoho. 2015;42(10):1322-4. (査読有)

26) Megumi K, Ishigami S (他 15 名 13 番目) A Case of Esophageal Cancer in a Patient with CMV Reactivation after Neoadjuvant Chemoradiation Therapy. Gan To Kagaku Ryoho. 2015 Oct;42(10):1307-9 (査読有)

27) Yanagita S, Ishigami S (他 13 名 12 番目) The clinical usefulness of the intraoperative detection of sentinel lymph node metastases by a rapid RT-PCR system in patients with gastric cancer. Cancer. 2016;122(3):386-92. (査読有)

28) Harada A, Ishigami S (他 13 名 12 番目) Clinical implication of human leukocyte antigen (HLA)-F expression in breast cancer. Pathol Int. 2015;65(11):569-74(査読有)

29) Oki E, Ishigami S (他 19 名 6 番目) Surgical treatment of liver metastasis of gastric cancer: a retrospective multicenter cohort study (KSCC1302). Gastric Cancer. 2016 Jul;19(3):968-76.(査読有)

30) Okumura H, Ishigami S (13 名 12 番目) Clinical significance of mediastinoscope-assisted transhiatal esophagectomy in patients with esophageal cancer. Langenbecks Arch Surg. 2015;400(6):699-706 (査読有)

31) Kita Y, Ishigami S (他 10 名 7 番目) Mucinous adenocarcinoma emerging in sigmoid colon neovagina 40 years after its creation: a case report. World J Surg Oncol. 2015;13:213. (査読有)

32) Maemura K, Ishigami S (他 13 名 9 番目) Pancreaticogastrostomy after Pancreaticoduodenectomy Using Twin Square Wrapping with Duct-to-Mucosa Anastomosis. Eur Surg Res. 2015;55(1-2): 109-18.査読有)

33) Owaki T, Ishigami S, (他 10 名 6 番目) Present status of endoscopic mastectomy for breast cancer. World J Clin Oncol. 2015;6(3):25-9. (査読有)

34) Nabeki B, Ishigami S (他 11 名 2 番目) Interleukin-32 expression and Treg infiltration in esophageal squamous cell carcinoma. Anticancer Res. 2015 ;35(5):2941-7. (査読有)

35) Tamotsu K, Ishigami S (他 13 名 12 番目) Correlation of Aurora-A expression with the effect of chemoradiation therapy on esophageal squamous cell carcinoma. BMC Cancer. 2015;15:323 (査読有)

36) Ishigami S (他 13 名 1 番目) Human leukocyte antigen (HLA)-E and HLA-F expression in gastric cancer. Anticancer Res. 2015;35(4):2279-85. (査読有)

〔学会発表〕(計 17 件)

- 1) 石神純也、瀬戸山徹郎、中島三郎、恵浩一、保坂優斗、田辺寛、安留龍太郎、夏越祥次 腹腔鏡下腸閉塞手術症例の有用性と問題点 第 30 回日本内視鏡外科学会総会 12月4日 2017年 京都市
- 2) 石神純也、瀬戸山徹郎、中島三郎、恵浩一、保坂優斗、田辺寛、安留龍太郎、夏越祥次 腹腔鏡下腸閉塞手術症例の検討 第 79 回日本臨床外科学会総会 1月23日 2017年 東京
- 3) 石神純也、瀬戸山徹郎、中島三郎、恵浩一、保坂優斗、田辺寛、安留龍太郎、夏越祥次 PTGBD を伴う急性胆のう炎の治療 10月13日 福岡市 2017 JDDW2017
- 4) 石神純也、瀬戸山徹郎、中島三郎、恵浩一、保坂優斗、田辺寛、安留龍太郎、夏越祥次 胆嚢炎症例に対する至適手術時期の検討 第 107 回日本消化外科学会総会 7月20日 2017年 金沢市
- 5) 石神純也、中島三郎、柳田茂寛、恵浩一、田辺寛、橋口真征、平野拓郎、夏越祥次 急性虫垂炎に対する interval appendectomy 適応症例の検討 第 54 回日本腹部救急学会 3月2日 2017年 横浜市
- 6) 石神純也、中島三郎、柳田茂寛、恵浩一、橋口真征、田辺寛、鶴田祐介、夏越祥次 腹腔鏡下残胃全摘術の工夫と問題点 第 29 回日本内視鏡外科学会総会 12月9日 2016年 横浜市
- 7) 石神純也、中島三郎、柳田茂寛、恵浩一、田辺寛、橋口真征、平野拓郎、夏越祥次 腹腔鏡下腸閉塞手術症例の有用性と問題

- 点 日本内視鏡外科学会総会 12月4日 2016年 京都市
- 8) 石神純也、中島三郎、柳田茂寛、恵浩一、橋口真征、田辺寛、鶴田祐介、夏越祥次 PTGBDを伴う急性胆のう炎の治療 第74回腹部救急外科学会総会 11月29日 2016年 東京
- 9) 17) 石神純也(司会)大腸癌・病理セミナー in 奄美 11月7日 2016年 奄美市
- 10) 石神純也、柳田茂寛、恵浩一、橋口真征、平野拓郎、原純、服部淳一、夏越祥次 生血輸血と開腹止血術にて救命しえた高エネルギー外傷の1例 第8回日本 acute care surgery 学会総会 9月24日 2016年 大阪市
- 11) 13) 石神純也(司会)第27回日本消化器癌発生学会 一般演題 胃・十二指腸2 9月15日 2016年 鹿児島
- 12) 石神純也(司会)第67回日本消化器外科学会総会 一般演題 胃 7月20日 2016年 徳島市
- 13) 9) 石神純也、中島三郎、柳田茂寛、恵浩一、田辺寛、橋口真征、平野拓郎、夏越祥次 急性虫垂炎に対する interval appendectomy 適応症例の検討 JDDW 7月16日 2016年 福岡市
- 14) 石神純也(司会)第107回日本消化器病九州支部例会 一般演題 胃・十二指腸1 6月25日 2016年 佐賀市
- 15) 石神純也、柳田茂寛、恵浩一、橋口真征、平野拓郎、中島三郎、田辺寛、夏越祥次 難治性腹水を伴った巨大胃GISTの一例 第107回日本消化器病九州支部例会 6月25日 2016年 佐賀市
- 16) 石神純也(司会)第116回日本外科学会総会 一般演題 食道 悪性 14月14日 2016年 大阪市
- 17) 石神純也(司会) 第88回日本胃癌学会総会 一般演題 接合部その他 13月18日 2016年 大分市

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：  
 発明者：  
 権利者：  
 種類：  
 番号：  
 出願年月日：  
 国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：  
 発明者：

権利者：  
 種類：  
 番号：  
 取得年月日：  
 国内外の別：

〔その他〕  
 ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

石神 純也 (ISHIGAMI SUMIYA)  
 鹿児島大学・医歯学総合研究科・客員研究員  
 研究者番号：90325803

##### (2) 研究分担者

盛 真一郎 (MORI SHINICHIRO)  
 鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教  
 研究者番号：00620519

飯野 聡 (IINO SATOSHI)  
 鹿児島大学・医歯学域附属病院・助教  
 研究者番号：80598003