

令和元年5月23日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10488

研究課題名(和文)食道癌化学放射線療法後に誘導されるT細胞クローン多様性解析と臨床効果に関する研究

研究課題名(英文)T-Cell Receptor repertoire analyses in patients with esophageal cancer

研究代表者

森 隆弘 (Mori, Takahiro)

東北大学・医学系研究科・教授

研究者番号：00323030

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：化学放射線療法(CRT)を施行された食道癌患者の末梢血および切除標本でのTCRレパートア解析を行った。CRTが施行された68例では、末梢血由来のgenomic DNAを対象とし解析を行った。その結果、クローナリティが高い症例では、CRT後の予後が良好であることが示唆された。CRT施行後に根治切除手術を施行された4例は腫瘍および正常粘膜からRNAを抽出し解析を行った。CRT施行後に腫瘍と正常粘膜に共通するクローンが存在すること(腫瘍への浸潤が少ないもので予後が不良)、手術先行に比べるとCRT後切除例にクローナリティが高いという結果が得られた。CRTの治療効果に腫瘍免疫が関与する事が示唆される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

化学放射線療法(CRT)を施行された食道癌患者で腫瘍部と正常粘膜部に共通するユニークなT細胞クローンが存在すること(腫瘍への浸潤が少ないもので予後が8.5か月と不良)、末梢血でのクローナリティの高い症例ではCRT後の予後が良好であることが示唆された($p=0.103$)。手術先行に比較してCRT後の切除例にクローナリティの高いという結果が得られた(Shannon 3.12 ± 0.47 , Simpson 14.9 ± 5.77 ; 手術先行例ではShannon 5.72 , Simpson 97.3)。このように、CRTの治療効果には腫瘍免疫が関与しており、本研究がCRTの予後予測に貢献できると考える。

研究成果の概要(英文)：We analyzed TCR repertoire in patients with esophageal cancer who had been treated by chemoradiation (CRT). In 68 cases, genomic DNAs extracted from peripheral white blood cells were used for TCR repertoire. The obtained results suggested that cases with high TCR clonality have better prognosis. In 4 cases who had been treated primarily by CRT followed by surgery, mRNA extracted from tumors and normal mucosal tissues were used for repertoire analyses. The obtained results suggested that some T cell clones are shared both in tumors and mucosal tissues, which may represent Tumor Infiltrating Lymphocytes (TIL), and cases with less TILs had poor prognosis. Besides, cases after CRT had high clonality of TCR within tumors as compared to a case with surgery alone. These results suggested that tumor immunity should play an important role in CRT for esophageal cancers and that TCR repertoire could be prognostic marker candidate.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道癌 化学放射線療法 腫瘍免疫 予後予測因子

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

食道癌に対しての化学放射線療法による治療成績の向上により、その治療成績は根治切除術後の成績と殆ど変わらない。化学放射線療法は消化管（特に胃）機能温存が得られるメリットは大きいですが、一方で不応例や再燃例に対しては救済手術が必要となる事も多く、我々が報告したように救済手術は通常の治療手術に比べ術後合併症のリスクが高いことが問題になる。このため、化学放射線療法の効果予測因子の探索が必要であり、我々の研究をはじめとして、これまでも多くの研究報告があったが、本研究の開始の時点では有用な効果予測因子は確立していなかった。また、化学放射線療法の治療効果には治療によって惹起される宿主の免疫反応が関与しているのか、についても明確にされていなかった。

2. 研究の目的

化学放射線療法の治療効果には治療によって惹起される宿主の免疫反応が関与していると我々は考えており、この考えを支持するように、抗がん剤および放射線治療の治療効果について免疫の関与を示唆する知見が最近数多く報告されている。最近の免疫チェックポイント阻害薬による良好な治療成績も、腫瘍免疫が抗腫瘍効果の中心的な役割を果たすという視点を支持するものであろう。本研究では、これらの報告から示唆されるように、食道癌に対する化学放射線療法の治療効果に T 細胞の活性化を端緒とした免疫応答が関与していると仮定し、次項に詳細を記載するように「約 100 名の患者での治療終了後の末梢血中の T 細胞の抗原特異性およびクローンの多様性と臨床データとの関連（特に予後との関係）」を解析する。

3. 研究の方法

本研究では、前述したような理由から示唆されるように、食道癌に対する放射線化学療法の治療効果に T 細胞の活性化を端緒とした免疫応答が関与していると仮定し、数名の食道癌患者では治療前後の経時的ポイント（治療前、治療後 1 ヶ月、6 ヶ月、1 年）で、および約 100 名の患者では治療終了後での、末梢血中の T 細胞の抗原特異性およびクローンの多様性を明らかにする目的で、genomic DNA を用いて T 細胞受容体（T cell receptor; TCR）遺伝子を解析する。TCR 遺伝子の相補性決定領域（CDR3）はゲノム上で最も多様性に富む領域のひとつであるが、arm-PCR および次世代シーケンサーを用いることで数百万種類の相補性決定領域の配列を同定することができる。

4. 研究成果

本研究では CRT を施行された食道癌患者での末梢血および切除後の標本での TCR レパートア解析研究を行った。対象としては、食道癌に対して一次治療として化学放射線療法（CRT）が施行された 68 例については、末梢血由来の genomic DNA を対象とし、multiplex 法により TCR レパートア解析を行った（iRepertoire）。CRT 施行後に根治切除手術を施行された 4 例については凍結された切除標本の腫瘍部および正常粘膜部から RNA を抽出し、adopter 法によって TCR レパートア解析を行った。この理由として、1；根治的 CRT 後に救済手術になる症例が限られたこと、そのために多くの例で末梢血由来のサンプルで解析する必要があったこと、2；末梢血由来の genomic DNA がすでに抽出済みであったこと、3；本研究開始後、genomic DNA より RNA を対象として、特に adopter 法による repertoire 解析での定量性の優位性が指摘されたこと、などがある。

上記の結果として、現時点では CRT を施行せずに切除手術を施行した症例は 1 例のみの解析であるが、CRT 後の切除例にクローナリティが高いという結果が得られている（Shannon 3.12

±0.47, Simpson 14.9±5.77 いずれも平均±標準偏差; コントロールとして手術先行例では Shannon 5.72, Simpson 97.3)。この結果は今後、手術先行例での解析を追加し、論文とする予定である。CRT を施行された食道癌患者で腫瘍部と正常粘膜部に共通するユニークな T 細胞クローンが存在すること (図 1 ; CRT 後の切除標本での TCR β 遺伝子。腫瘍への浸潤が少ないもので予後が 8.5 か月と不良)、特定のクローンが末梢血中に多く確認された症例では、CRT 後の予後が良好である可能性が示唆された(図 2 ;末梢血での TCR β レパトア解析と CRT 後の生存。症例数が少ないために p=0.103 であるが、ある指標により完全奏効(CR)例を抽出の可能性)。このように、化学放射線療法の治療効果には腫瘍免疫が強く関与していることが示唆されている。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 3 件)

1. Mai, T Takano, A Suzuki, H Hirose, T **Mori, T** Teramoto, K Kiyotani, K Nakamura, Y Daigo, Y Quantitative analysis and clonal characterization of T-cell receptor β repertoires in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with cancer vaccine Oncology letters 2017 14(1) 283-292 (査読あり)
2. Takahashi M^{1,2}, Komine K^{1,2}, Imai H^{1,2}, Okada Y^{1,2}, Saijo K^{1,2}, Takahashi M^{1,2}, Shiota H^{1,2}, Ohori H¹, Takahashi S^{1,2}, Chiba N^{1,3}, **Mori T^{1,2}**, Shimodaira H^{1,2}, Ishioka C^{1,2}. Efficacy and safety of gemcitabine plus docetaxel in Japanese patients with unresectable or recurrent bone and soft tissue sarcoma: Results from a single-institutional analysis. PLoS One. 2017 May 10;12(5):e0176972. doi: 10.1371/journal.pone.0176972. eCollection 2017. (査読あり)
3. Takahashi M^{1,2}, Takahashi M^{1,2}, Komine K^{1,2}, Yamada H^{1,2}, Kasahara Y^{1,2}, Chikamatsu S^{1,2}, Okita A^{1,2}, Ito S^{1,2}, Ouchi K^{1,2}, Okada Y^{1,2}, Imai H^{1,2}, Saijo K^{1,2}, Shiota H¹, Takahashi S^{1,2}, **Mori T¹**, Shimodaira H^{1,2}, Ishioka C^{1,2}. The G8 screening tool enhances prognostic value to ECOG performance status in elderly cancer patients: A retrospective, single institutional study. PLoS One. 2017 Jun 22;12(6):e0179694. doi: 10.1371/journal.pone.0179694. eCollection 2017. (査読あり)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：末梢血のゲノム解析により食道癌に対する化学放射線療法の効果を予測する方法

発明者：森 隆弘

権利者：同上

種類：特許

番号：2016-239618;P20160080

出願年：2016

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：安田 純

ローマ字氏名：Yasuda Jun

所属研究機関名：宮城県立病院機構宮城県立がんセンター

部局名：発がん制御研究部

職名：部長

研究者番号（8桁）：00281684

研究分担者氏名：斎藤 さかえ

ローマ字氏名：Saitoh Sakae

所属研究機関名：東北大学

部局名：東北メディカル・メガバンク機構

職名：講師

研究者番号（8桁）：20335491

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。