

令和 2 年 6 月 7 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10469

研究課題名(和文) 進行がんに対する免疫放射線治療開発のためのトランスレーショナル研究

研究課題名(英文) Translational Research and Immunoradiotherapy in Advanced Cancer

研究代表者

吉本 由哉 (YOSHIMOTO, YUYA)

福島県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：80594390

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)：我々はこれまで、放射線治療により誘導される抗腫瘍免疫が、がん治療における重要な役割を担っていることを明らかにしてきた。本研究では、抗腫瘍免疫を積極的に利用して治療効果を増強する、“免疫放射線療法”を開発するための検討を行った。子宮頸癌放射線治療患者の治療前生検組織の免疫染色により、腫瘍組織に浸潤するCD3+リンパ球、CD8+リンパ球の多寡が予後と相関することを見出した。一方で、試料由来のDNAを用いて、409癌関連遺伝子のターゲットシーケンスにより変異遺伝子を同定した。FGFRなどレセプターキナーゼ遺伝子の変異を有する症例では治療反応性、予後共に不良であることを新規に見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮頸癌放射線治療においても抗腫瘍免疫が予後に関与することを明らかにした。一方、日本人コホートを対象とした子宮頸癌の網羅的遺伝子変異解析を初めて行い、PIK3CAやFBXW7、ARID1Aの変異が高頻度に認められた。このことは、癌ゲノム解析による個別化医療時代における重要な参照情報となる。さらに、FGFRなどレセプターキナーゼ遺伝子の変異を有する症例では、治療反応性、予後共に不良であることを新規に見出した。子宮頸癌は抗がん剤に対する奏効率が低く、一方で、レセプターキナーゼ遺伝子に対する分子標的薬剤は既に他がんで臨床応用されているために、医師主導治験などで速やかに臨床導入出来る可能性がある。

研究成果の概要(英文)：[Objective] To elucidate tumoral mutation profiles and immune profiles associated with outcome in uterine cervical cancer (UCC) patients treated with definitive radiotherapy.

[Methods] Newly diagnosed and pathologically confirmed treated with definitive radiotherapy were analyzed. DNA was extracted from pre-treatment tumor biopsy specimens and exons of 409 cancer-related genes were sequenced using a next-generation sequencer. Immunohistochemical studies were also performed and analyzed for correlation with clinical outcome.

[Results & Conclusions] The presence of CD8+TILs, CD3+TILs in the tumor nests has the potential to be an independent favorable prognostic factor for UCC patients treated with definitive radiotherapy. Also, the prevalence of mutation in FGFR family genes (i.e., FGFR1–4) was as high as that for PIK3CA and the FGFR mutation was associated with worse PFS. These results warrant validation by further prospective study.

研究分野：放射線治療

キーワード：子宮頸癌 抗腫瘍免疫 放射線治療 分子標的薬 precision medicine 変異解析 腫瘍浸潤T細胞

1. 研究開始当初の背景

放射線治療の効果が宿主の免疫に関係している可能性は古くより考えられていたが、そのことを直接明らかにするような研究は 2000 年代後半まで非常に少なかった。我々は、放射線治療によるがん特異的免疫の活性化を証明する研究を行い、抗腫瘍免疫が、がんの進展を制御する重要な因子であることを、臨床及び動物モデルを用いて示してきた。我々の研究結果は、放射線が DNA 障害による細胞死をメカニズムとした局所治療であるという従来の考えを覆し、新しい治療戦略の可能性を示しており、今後、放射線により誘導される免疫を積極的に利用する“免疫放射線療法”が確立される可能性がある。

2. 研究の目的

本研究課題は、免疫治療と放射線治療を併用した新規の治療方法を開発するためのトランスレーショナル研究である。そのために、均質かつ高精度な臨床情報を有する放射線治療患者コホート約 200 名より得られた生検組織を主に用いる。

これまで我々は、抗腫瘍免疫が、がんの進展を制御する決定的な因子であることを、臨床及び動物モデルで示してきた。すなわち、1)放射線照射によりがん特異的 T 細胞免疫が誘導され、2)誘導された免疫が治療効果に寄与した。さらに、3)薬剤での免疫修飾により非照射部位を含めてさらなる治療効果が認められた。1)、2)は、放射線が DNA 障害による細胞死をメカニズムとした局所治療であるという従来の考えを覆す発見であり、また 3)は、放射線誘導の抗腫瘍免疫を利用した、新しい全身の可能性を示している。この、免疫を積極的に利用する“免疫放射線療法”を確立するための基礎的検討が本研究課題の目的である。

3. 研究の方法

放射線誘導の抗腫瘍免疫が目に見える抗腫瘍効果を発揮するかは、細胞障害性 T 細胞などエフェクター細胞、制御性 T 細胞など抑制性細胞、及び腫瘍細胞の免疫感受性の 3 要素により決定する。このバランスを薬剤などで修飾すると強力な抗腫瘍免疫が得られると考えられるが、その詳細は不明である。そこで 3 要素について、既に予後の判明している、根治的放射線治療子宮頸癌患者 200 名の生検組織を免疫染色することで検討した。エフェクター細胞・抑制性細胞については CD3、CD8 などリンパ球マーカーを、腫瘍細胞の感受性については MHC 分子や PD-L1 などを網羅的に染色し、予後に関与する分子の推定を試みた。

一方で、当初計画では免疫染色による感受性因子検出を主に予定していたが、免疫染色等タンパクを標的とする検出方法は、対象分子毎に検出抗体が必要なこと、検鏡が必要なことより、検討できるタンパクの数に限界がある。そこで試料由来の DNA を用いた変異解析を組み合わせれば、網羅的・より高次的な情報が得られると考え、文科省科研費助成事業「先進ゲノム支援」を依頼し、2017 年度、2018 年度に採択された(札幌医大拠点・佐々木泰史先生、時野隆至先生)。当施設で 2006 年 1 月 1 日から 2013 年 11 月 30 日までに治療を行った子宮頸癌患者 275 例中、以下の条件を満たす 188 例の腫瘍生検・ホルマリン固定パラフィン包埋 (FFPE) 検体抽出 DNA 試料(初発症例、放射線または化学放射線の標準治療を受けている、使用可能な生検組織の保存がある、画像による評価がある、研究同意を得られている)を対象として、がん関連遺伝子、および薬剤代謝・感受性関連遺伝子に対するアンプリコンシーケンスにより、体細胞変異に加え、コピー数異常の同定を依頼し、そのデータを当施設の有する臨床データと、免疫染色等の当初予定されていた取得データと組み合わせることで、より高次的な解析を行った。

4. 研究成果

まず始めに、抗腫瘍免疫と放射線治療予後の関連を検討するために、子宮頸部腺癌の放射線治療患者 71 例を対象として、腫瘍巣に浸潤する CD8+陽性 T 細胞(CD8+TILs)と治療予後の関連を検討する多施設共同後向き試験を行った。観察期間中央値は生存症例で 5 年に及んだ。生検組織を抗ヒト CD8 マウスモノクローナル抗体(M7103)で免疫染色し、検鏡下に腫瘍巣に浸潤する CD8+TILs が存在する群(陽性群)と存在しない群(陰性群)に分類した。その結果、CD8+TILs 陽性群は陰性群に対して、全生存率が有意に高いことが明らかになった(5 年生存率 53.8% vs 23.8%, $p = 0.038$)。また、多変量解析においても、臨床病期、腫瘍最大径、併用化学療法と並んで、腫瘍巣内の CD8+TILs は独立した予後因子(ハザード比 0.13; 95%信頼区間 0.04-0.49)であった。このように、放射線治療において、抗腫瘍免疫が重要な役割を果たしていることが確認された。

さらに、子宮頸部扁平上皮癌 161 例を対象として、治療前生検組織の免疫染色により、腫瘍組織へのリンパ球の浸潤数や、PD-L1 分子の発現量など免疫学的特性(免疫 Signature)と予後の相関を検討したところ、同様に、腫瘍組織に浸潤する CD3+リンパ球、CD8+リンパ球の多寡が予後と相関することを見出し、これらのパラメータにより免疫放射線治療の適応判断を行える可能性が示された。

一方で、免疫染色では検討できる分子の数に限りがあることより、試料由来の DNA を用いた変異解析を行い、放射線治療応答性に関与する因子のより高次的な解明を追加した。免疫 signature と、それに影響を与える、ドライバー変異など体細胞変異との関連が明らかとなれば、これは全く新しい知見となる。患者コホートより 106 例を選定し、409 癌関連遺伝子のターゲットシーケンスにより変異遺伝子を同定した。日本人コホートを対象とした子宮頸癌の網羅的遺伝子変異解析は本研究が初であるが、欧米人、アジア人を対象とした報告と同様に、PIK3CA や FBXW7、ARID1A の変異が高頻度に認められた。一方で大変興味深いことに、FGFR などレセプターキナーゼ遺伝子の変異を 30%程度認め、これらの症例では治療反応性、予後共に不良であることを新規に見出した。子宮頸癌は抗がん剤に対する奏効率が低く、一方で、レセプターキナーゼ遺伝子に対する分子標的薬剤は既に他がんで臨床応用されているために、医師主導治験などにより速やかに臨床導入出来る可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Nuryadi E, Sasaki Y, Hagiwara Y, Permata TBM, Sato H, Komatsu S, Yoshimoto Y, Murata K, Ando K, Kubo N, Okonogi N, Takakusagi Y, Adachi A, Iwanaga M, Tsuchida K, Tamaki T, Noda SE, Hirota Y, Shibata A, Ohno T, Tokino T, Oike T, Nakano T	4. 巻 9
2. 論文標題 Mutational analysis of uterine cervical cancer that survived multiple rounds of radiotherapy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 32642-32652
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Miyasaka Yuhei, Yoshimoto Yuya, Murata Kazutoshi, Noda Shin-ei, Ando Ken, Ebara Takeshi, Okonogi Noriyuki, Kaminuma Takuya, Yamada Seiji, Ikota Hayato, Yokoo Hideaki, Ohno Tatsuya, Nakano Takashi	4. 巻 61
2. 論文標題 Treatment outcomes of patients with adenocarcinoma of the uterine cervix after definitive radiotherapy and the prognostic impact of tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes in pre-treatment biopsy specimens: a multi-institutional retrospective study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 275 ~ 284
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/jrr/rrz106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuya Yoshimoto, Takahiro Oike, Yasushi Sasaki, Endang Nuryadi, Kazutoshi Murata, Takuya Kaminuma, Daisuke Irie, Daijiro Kobayashi, Tatsuya Ohno, Takashi Tokino, Takashi Nakano
2. 発表標題 Mutational Profiling of Japanese Cervical Cancer Patients Treated with Radiotherapy
3. 学会等名 The 9th Annual Meeting of The International Society of Radiation Neurobiology（国際学会）
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	野田 真永 (NODA Shin-ei) (60396645)	埼玉医科大学・医学部・教授 (32409)	
研究分担者	村田 和俊 (MURATA Kazutoshi) (60644557)	群馬大学・重粒子線医学推進機構・助教 (12301)	
研究分担者	佐藤 浩央 (SATO Hiro) (90750571)	群馬大学・重粒子線医学推進機構・助教 (12301)	
研究分担者	尾池 貴洋 (OIKE Takahiro) (10643471)	群馬大学・医学部附属病院・講師 (12301)	
研究協力者	宮坂 勇平 (MIYASAKA Yuhei)	群馬大学・医学部附属病院・医員 (12301)	