

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11384

研究課題名(和文) 唾液腺がんにおける免疫チェックポイント分子発現と遺伝子変異の探索

研究課題名(英文) Genetic alterations and expressions of immune check point molecules in salivary gland cancer

研究代表者

清田 尚臣 (Kiyota, Naomi)

神戸大学・医学部附属病院・特命准教授

研究者番号：40515037

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：Stage III/IVの唾液腺癌術後症例で粘表皮癌(low grade/high grade)、唾液腺導管癌、腺癌、腺様のう胞癌の各7例合計35例を解析した。遺伝子変化は、OncoPrint Tumor Mutation Load Assayを使用、免疫多重染色はCD3/CD4/CD8/CD204/FOXP3/PD-L1/PD-L2を用いて行った。Tumor Mutation Load (TML)は粘表皮癌(High grade)、唾液腺導管癌及び腺癌で高い傾向を認めた。免疫多重染色からは、組織型に関係なく腫瘍内Treg密度とPD-L1陽性細胞が予後不良因子である可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺癌は希少がんであり手術以外に標準的治療はなく、治療選択肢が乏しい状況である。特に再発及び転移を生じた場合に確立した薬物療法もない。しかし、今回の遺伝子変異量解析と免疫チェックポイント分子発現を主たる組織型で解析した結果からは、粘表皮癌(High grade)、唾液腺導管癌、腺癌においては免疫チェックポイント阻害薬による治療介入が有効な可能性が示唆され、治療開発が進まない唾液腺癌に対して免疫チェックポイント阻害薬を用いた臨床研究を推進する根拠となる点で有意義である。

研究成果の概要(英文)：Total of 35 cases with salivary gland cancer were analyzed. The pathological types of these cases are mucoepidermoid carcinoma(MEC) low-grade, high-grade, salivary duct carcinoma(SDC), adenocarcinoma (ANOS) and adenoid cystic carcinoma (ACC) and 7 cases in each. Genetic analyses were performed with OncoPrint Tumor Mutation Load Assay and multiplex immunohistochemistry was performed with CD3/CD4/CD8/CD204/FOXP3/PD-L1/PD-L2. Tumor mutational load appeared to be higher in MEC-high, SDC and ANOS. From the multiplex immunohistochemistry analysis, intra-tumor Treg and PD-L1 positive cell were suggested to be poor prognostic factors for disease-free survival irrespective of pathological subtypes.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：唾液腺癌 遺伝子変化 免疫チェックポイント

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我が国の 2012 年度の頭頸部がん罹患患者数は約 2 万 4 千人で、唾液腺悪性腫瘍は頭頸部がんの 3-6% を占めるとされ、年間罹患数は 700 ~ 1400 人程度と推計される稀な腫瘍である。更に、唾液腺腫瘍は 30 種類以上の組織型が存在し形態学的診断も非常に難しい。以上より、唾液腺がんは希少かつ多彩であるため診断方法及び治療法は確立していない。特に唾液腺癌における遺伝子変化や免疫チェックポイント発現がその予後や治療に關与するかの情報は乏しく、今回の研究を計画した。

### 2. 研究の目的

我々は先行研究(基盤研究 C【H26-28】、課題番号 26462605)において自施設の唾液腺がん 128 例中の 16% を占める唾液腺腺癌(NOS)の 44% において HER2 遺伝子増幅を認めることを見出した。また、これらの HER2 陽性唾液腺癌に対する共同研究(医師主導治験(UMIN000018165:研究代表者 秋田弘俊, N=16))抗 HER2 薬のトラスツズマブの有効性を確認している。更に、殺細胞性抗がん薬にも一定の有効性があることを多施設共同第 相試験(UMIN000008333:研究代表者 清田尚臣, N=23)で証明している。しかし、殺細胞性抗がん薬の限界は他癌腫でも共通した課題であり、免疫チェックポイント阻害薬のような新たな治療法の唾液腺がんにおける適応可能性を検討する必要がある。

免疫チェックポイント阻害薬の開発は、ほぼ全ての癌腫で行われているが、唾液腺がんのような希少がんでは報告は少ない。また、唾液腺癌に対して免疫チェックポイント阻害薬の治療開発を進める根拠になるデータは乏しい。

以上より、本研究において希少がんである唾液腺がんにおける免疫チェックポイント阻害薬の開発及び適応可能性を検討するための基礎データを収集する。

### 3. 研究の方法

#### ・ 研究に用いる試料

唾液腺がんデータベース:我々は当院耳鼻咽喉・頭頸部外科の協力の下に作成した連結可能匿名化された 158 例の臨床情報が記録されたデータベースを所有している。本データベースより、今回は背景を揃えるために手術治療後の Stage III/IVA/IVB の症例の中で保存組織が利用可能なもののうち、主な組織型である腺様のう胞癌(ACC 7 例)・粘表皮癌(MEC low grade 7 例、MEC High grade 7 例)・腺癌(ANOS 7 例)・唾液腺導管癌(SDC 7 例)の合計 35 例を解析に用いた。

#### ・ 研究に用いる方法

遺伝子変化及び Tumor mutational load の解析: OncoPrint Tumor Mutation Load Assay を用いて、409 遺伝子変化を検索し、tumor mutational load(TML)を推定する。

免疫多重染色:以下のパネルを用いて各組織型の染色を行い、腫瘍内及び腫瘍周囲の免疫細胞(CTL, Treg, Macrophage など)の分布や密度を検討した。更に、使用した症例の予後情報を含めた患者背景とこれらの解析結果との関係を検討した。

パネル 1	CD3	CD4	CD8	CD204	Foxp3	CK	DAPI
パネル 2	CD4	PD-1	CD8	PD-L1	PD-L2	CK	DAPI

### 4. 研究成果

Stage III/IVA/IVB の唾液腺癌術後症例全 35 例の生存期間中央値は未到達、5 年生存割合は 58% であった。一方で、無病生存期間中央値は 97 か月で、5 年無病生存割合は 46% であった。このため、遺伝子変化・TML・腫瘍内/周囲免疫細胞と予後の関係についてはイベント数が確保できる無病生存期間で行うこととした。尚、これらの無病生存期間は本研究で用いた症例においては組織別の予後に有意な差は認めなかった。

TML については、10 mutation/Mb 以上を TML(High)と定義した場合、TML 解析可能な症例において、ACC 33%、MEC low 0%、MEC high 57%、SDC 67%、ANOS 75%が TML(High)であった。5 年 DFS は TML(High) 55.6%で TML(Low) 62.8%と TML(High)でやや予後不良であるも有意差を認めなかった。

免疫多重染色の結果からは、ACC においては他の組織型に比較して腫瘍内の免疫細胞密度が低い傾向を認めた。腫瘍内免疫細胞密度と予後の関係は、CD4 密度、CD8 密度、TAM(CD204)密度においては明らかな差を認めなかった。しかし、制御性 T 細胞(FOXP3)密度が高い場合には DFS が不良な傾向を認めた(図 1: P=0.075)。PD-L1 陽性細胞密度が高い場合も有意に DFS が不良であったが(図 2: p=0.026)、PD-L2 陽性細胞密度、腫瘍内 CD4/PD-1 陽性細胞密度、腫瘍内 CD8/PD-1 陽性密度では明らかな差を認めなかった。

図1 制御性T細胞密度とDFSの関係

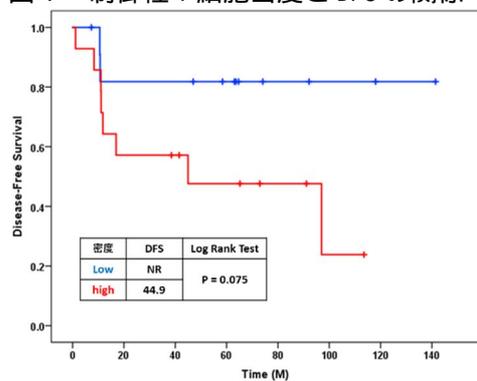
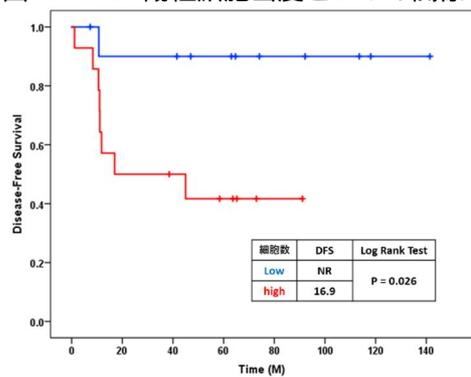


図2 PD-L1陽性細胞密度とDFSの関係



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計13件（うち査読付論文 13件／うち国際共著 10件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Gillison ML, Blumenschein G Jr, Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, Harrington KJ, Kasper S, Vokes EE, Even C, Worden F, Saba NF, Iglesias Docampo LC, Haddad R, Rordorf T, Kiyota N, Tahara M, Monga M, Lynch M, Li L, Ferris RL.	4. 巻 23
2. 論文標題 CheckMate 141: 1-Year Update and Subgroup Analysis of Nivolumab as First-Line Therapy in Patients with Recurrent/Metastatic Head and Neck Cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncologist	6. 最初と最後の頁 1079 ~ 1082
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1634/theoncologist.2017-0674.	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 該当する

1. 著者名 Ferris RL, Blumenschein G Jr, Fayette J, Guigay J, Colevas AD, Licitra L, Harrington KJ, Kasper S, Vokes EE, Even C, Worden F, Saba NF, Docampo LCI, Haddad R, Rordorf T, Kiyota N, Tahara M, Lynch M, Jayaprakash V, Li L, Gillison ML.	4. 巻 81
2. 論文標題 Nivolumab vs investigator's choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: 2-year long-term survival update of CheckMate 141 with analyses by tumor PD-L1 expression.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 45 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2018.04.008.	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 該当する

1. 著者名 Singer S, Amdal CD, Hammerlid E, Tomaszewska IM, Castro Silva J, Mehanna H, Santos M, Inhestern J, Brannan C, Yarom N, Fullerton A, Pinto M, Arraras JI, Kiyota N et al.	4. 巻 41
2. 論文標題 International validation of the revised European Organisation for Research and Treatment of Cancer Head and Neck Cancer Module, the EORTC QLQ-HN43: Phase IV.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Head and Neck	6. 最初と最後の頁 1725 ~ 1737
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hed.25609.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Head and Neck Cancer Study Group (HNCSG), Monden N, Asakage T, Kiyota N, Homma A, Matsuura K, Hanai N, Kodaira T, Zenda S, Fujii H, Tahara M, Yokota T, Akimoto T, Iwae S, Onitsuka T, Ogawa T, Okano S, Takahashi S, Shimizu Y, Yonezawa K, Hayashi R.	4. 巻 49
2. 論文標題 A review of head and neck cancer staging system in the TNM classification of malignant tumors (eighth edition).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 589 ~ 595
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyz052.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Saba NF, Blumenschein G Jr, Guigay J, Licitra L, Fayette J, Harrington KJ, Kiyota N, Gillison ML, Ferris RL, Jayaprakash V, Li L, Brossart P.	4. 巻 96
2. 論文標題 Nivolumab versus investigator's choice in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: Efficacy and safety in CheckMate 141 by age.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 7 ~ 14
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2019.06.017.	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 該当する

1. 著者名 Shinomiya Hirotaka, Shinomiya Hitomi, Kubo Mie, Saito Yuki, Yoshida Masafumi, Ando Mizuo, Teshima Masanori, Otsuki Naoki, Kiyota Naomi, Sasaki Ryohei, Nibu Ken-ichi	4. 巻 12
2. 論文標題 Prognostic value of ALDH2 polymorphism for patients with oropharyngeal cancer in a Japanese population	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0187992	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 Kiyota Naomi, Hasegawa Yasuhisa, Takahashi Shunji, Yokota Tomoya, Yen Chia-Jui, Iwae Shigemichi, Shimizu Yasushi, Hong Ruey-Long, Goto Masahiro, Kang Jin-Hyoung, Sum Kenneth Li Wing, Ferris Robert L., Gillison Maura, Namba Yoshinobu, Monga Manish, Lynch Mark, Tahara Makoto	4. 巻 73
2. 論文標題 A randomized, open-label, Phase III clinical trial of nivolumab vs. therapy of investigator's choice in recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck: A subanalysis of Asian patients versus the global population in checkmate 141	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oral Oncology	6. 最初と最後の頁 138 ~ 146
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.oraloncology.2017.07.023	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 該当する

1. 著者名 Kiyota Naomi, Robinson Bruce, Shah Manisha, Hoff Ana O., Taylor Matthew H., Li Di, Dutcus Corina E., Lee Eun Kyung, Kim Sung-Bae, Tahara Makoto	4. 巻 -
2. 論文標題 Defining Radioiodine-Refractory Differentiated Thyroid Cancer: Efficacy and Safety of Lenvatinib by Radioiodine-Refractory Criteria in the SELECT Trial	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Thyroid	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/thy.2016.0549	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 該当する

1. 著者名 Harrington Kevin J, Ferris Robert L, Blumenschein George, Colevas A Dimitrios, Fayette Jerome, Licitra Lisa, Kasper Stefan, Even Caroline, Vokes Everett E, Worden Francis, Saba Nabil F, Kiyota Naomi et al.	4. 巻 18
2. 論文標題 Nivolumab versus standard, single-agent therapy of investigator's choice in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (CheckMate 141): health-related quality-of-life results from a randomised, phase 3 trial	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Lancet Oncology	6. 最初と最後の頁 1104 ~ 1115
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/S1470-2045(17)30421-7	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 該当する

1. 著者名 Szturz Petr, Wouters Kristien, Kiyota Naomi, Tahara Makoto, Prabhask Kumar, Noronha Vanita, Castro Ana, Licitra Lisa, Adelstein David, Vermorken Jan B.	4. 巻 22
2. 論文標題 Weekly Low Dose Versus Three Weekly High Dose Cisplatin for Concurrent Chemoradiation in Locoregionally Advanced Non Nasopharyngeal Head and Neck Cancer: A Systematic Review and Meta Analysis of Aggregate Data	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 The Oncologist	6. 最初と最後の頁 1056 ~ 1066
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1634/theoncologist.2017-0015	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nibu Ken-ichi, Hayashi Ryuichi, Asakage Takahiro, Ojiri Hiroya, Kimata Yoshihiro, Kodaira Takeshi, Nagao Toshitaka, Nakashima Torahiko, Fujii Takashi, Fujii Hirofumi, Homma Akihiro, Matsuura Kazuto, Monden Nobuya, Beppu Takeshi, Hanai Nobuhiro, Kirita Tadaaki, Kamei Yuzuru, Otsuki Naoki, Kiyota Naomi et al.	4. 巻 44
2. 論文標題 Japanese Clinical Practice Guideline for Head and Neck Cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 375 ~ 380
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2017.02.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tahara Makoto, Kiyota Naomi, Yamazaki Tomoko, Chayahara Naoko, Nakano Kenji, Inagaki Lina, Toda Kazuhisa, Enokida Tomohiro, Minami Hironobu, Imamura Yoshinori, Sasaki Tatsuya, Suzuki Takuya, Fujino Katsuki, Dutcus Corina E., Takahashi Shunji	4. 巻 7
2. 論文標題 Lenvatinib for Anaplastic Thyroid Cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Frontiers in Oncology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fonc.2017.00025	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 該当する

1. 著者名 Singer Susanne, Jordan Susan, Locati Laura D, Pinto Monica, Tomaszewska Iwona M, Ara?jo Claudia, Hammerlid Eva, Vidhubala E, Husson Olga, Kiyota Naomi et al	4. 巻 24
2. 論文標題 The EORTC module for quality of life in patients with thyroid cancer: phase III	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Endocrine-Related Cancer	6. 最初と最後の頁 197 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1530/ERC-16-0530	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 11件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 頭頸部がん薬物療法の新展開
3. 学会等名 第42回日本頭頸部癌学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 Immunotherapy for Head and Neck Cancer
3. 学会等名 第16回日本臨床腫瘍学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 がん放射線治療と免疫チェックポイント阻害剤
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第31回学術大会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 頭頸部腫瘍 Up to Date
3. 学会等名 第57回日本癌治療学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Chiaki Suzuki, Naomi Kiyota, Yoshinori Imamura, Junpei Rikitake, Satoshi Sai, Taiji Koyama, Yasuko Hyogo, Yoshiaki Nagatani, Yohei Funakoshi, Masanori Toyoda, Naoki Otsuki, Ken-ichi Nibu, Hironobu Minami
2. 発表標題 21. Relationship between tumor burden to growth rate and treatment outcomes of nivolumab for patients with head and neck squamous carcinoma.
3. 学会等名 the 2019 ASCO-SITC, Clinical Immuno-Oncology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshinori Imamura*, Naomi Kiyota*, Kaoru Tanaka, Hidetoshi Hayashi, Ichiro Ota, Shigeru Hirano, Shigemichi Iwae, Shujiro Minami, Katsunari Yane, Tomoko Yamazaki, Yoshiaki Nagatani, Masanori Toyoda, Naoki Otsuki, Ken-ichi Nibu, and Hironobu Minami
2. 発表標題 Docetaxel plus Cisplatin in Recurrent and/or Metastatic Non-squamous Cell Carcinoma of Head and Neck: a Phase II Trial
3. 学会等名 第16回日本臨床腫瘍学会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 頭頸部がんに対する免疫チェックポイント阻害薬の適正使用
3. 学会等名 第31回日本耳鼻咽喉科学会専門医講習会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 頭頸部がんに対する分子標的薬及び免疫チェックポイント阻害薬の役割
3. 学会等名 第69回日本気管食道科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 口腔癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の適正使用と腫瘍内科医との診療連携
3. 学会等名 第36回日本口腔腫瘍学会総会学術大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 腫瘍内科医からみた頭頸部がん臨床試験におけるIMRTの重要性と課題
3. 学会等名 第41回日本頭頸部癌学会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 清田尚臣
2. 発表標題 頭頸部がんに対する免疫チェックポイント阻害薬
3. 学会等名 日本頭頸部癌学会主催第8回教育セミナー（招待講演）
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 公益社団法人日本臨床腫瘍学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 104
3. 書名 頭頸部がん薬物療法ガイドンス第2版	

1. 著者名 日本頭頸部癌学会	4. 発行年 2017年
2. 出版社 金原出版	5. 総ページ数 192
3. 書名 頭頸部癌診療ガイドライン 2018年版（第3版）	

1. 著者名 清田 尚臣、田原 信、藤井 正人	4. 発行年 2017年
2. 出版社 中外医学社	5. 総ページ数 232
3. 書名 頭頸部がん薬物療法ハンドブック	

〔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
研究協力者	長谷 善明  (Nagatani Yoshiaki)	神戸大学・医学部附属病院・医員  (14501)	
研究協力者	西尾 和人  (Nishio Kazuto)		
研究協力者	(10208134)		
研究協力者	坂井 和子  (Sakai Kazuko)		
研究協力者	(20580559)		
研究協力者	北野 滋久  (Kitano Shigehisa)		
研究協力者	(60402682)		
研究協力者	中山 貴之  (Nakayama Takayuki)		
研究協力者	(10727225)		
研究協力者	五十嵐 大樹  (Igarashi Daiki)		
研究協力者	(90802801)		
研究協力者	伊藤 智雄  (Itoh Tomoo)		
研究協力者	(20301880)		