

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K16902

研究課題名(和文)機能イメージングを用いたがん微小環境、特に抗がん免疫環境の評価法の検討

研究課題名(英文)Evaluating method for tumor immune microenvironment by using the functional imaging

研究代表者

大橋 敏充(Ohashi, Toshimitsu)

岐阜大学・医学部附属病院・併任講師

研究者番号：80707860

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：FDG-PET/CTはがん組織の解糖系亢進を反映している。この検討で、FDG-PET/CTパラメーター(SUVmax、SUVmean)などは、末梢血中の好中球数、CRPと正の相関を認めた。がんにおける慢性炎症は、がん免疫抑制に繋がる。さらに、SUVmax、SUVmeanはがん組織に浸潤する免疫抑制性マクロファージ極性化とも正の相関を認めた。つまり、FDG-PET/CTは慢性炎症や免疫抑制状態を反映している可能性が示唆された。また、ドップラーエコーで血流の少ない転移リンパ節では、マクロファージ浸潤が有意に少なかった。この結果は、当初の仮定とは全く逆であり、解明にはさらなる研究が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

解糖系が亢進(SUVmax、SUVmeanが高値)している、つまりWarburg効果が亢進しているがんは、炎症が誘導され免疫抑制状態になっていると考えられた。炎症が誘導され免疫抑制状態になっているがんでは、治療抵抗性が高いと予想される。特に免疫チェックポイント阻害薬の治療効果に大きく関わるかもしれない。今回の結果は、FDG-PET/CTが、がん微小環境の免疫状態を反映することを示しており、将来的に免疫チェックポイント阻害薬などの治療効果を予測ツールとして使用が期待される。

研究成果の概要(英文)：Fluorine-18 fluorodeoxyglucose uptake detected by positron emission tomography/computed tomography (FDG-PET/CT) is considered as a good indicator of aerobic glycolysis.

In this study, whole-body FDG-PET/CT parameters; the maximum standardized uptake value (SUVmax) and mean SUV (SUVmean), were correlated with the C-reactive protein level, and neutrophil count. Furthermore, we investigated the relationships between FDG-PET/CT parameters and M2-macrophage polarization in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) tissue. FDG-PET/CT has the potential to reflect cancer-related chronic inflammation and immunosuppressive conditions in cancer patients. FDG-PET/CT parameters appear to be useful in assessing the immune status in HNSCC. Doppler ultrasound was used to measure blood flow in metastatic lymph nodes. Metastatic lymph nodes with decreased blood flow are related with decreased macrophage infiltration. This result was contrary to my hypothesis.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：頭頸部癌 FDG-PET/CT Warburg効果 M2マクロファージ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん微小環境には、転酸素、低 pH (高乳酸) など共通した特徴がある。これらは、様々な経路を介して腫瘍を悪性化させ、その進展を促進させる。頭頸部癌をはじめ、様々な腫瘍において、低酸素や高乳酸であるほど、保護が悪いことが報告されている。

腫瘍は、正常酸素存在下において解糖系が亢進し、大量の乳酸を産生している(Warburg 効果) がん微小環境において、乳酸は免疫細胞に作用し、要腫瘍免疫液を抑制することで、腫瘍の進展を促進する。また腫瘍は急速に増大する股に十分な血流が確保されず、多くの場合低酸素領域が存在する。そして低酸素も乳酸同様に、免疫細胞に作用して、抗腫瘍免疫活性を抑制する。つまりがん特有の微小環境が、抗腫瘍免疫を効きにくい状況を作り出していると考えられる。

2. 研究の目的

非侵襲的に微小環境の免疫状態を画像的に評価する方法は臨床的に用いられていない。そこで、低酸素やがん細胞の解糖系亢進を機能イメージングで評価することで、がん微小環境の免疫抑制状態の予測が可能であるか検討を行う。

3. 研究の方法

当院にて頭頸部癌で治療を行った患者を対象とした。血液検査は治療開始前に行ったものを使用した。また治療開始前に機能イメージング (FDG-PET/CT、ドップラーエコー) を行い、低酸素・糖代謝評価を行った。手術検体は、そのまま乳酸濃度の測定を行い、残りは凍結保存もしくはホルマリン固定した。

血液検査の炎症マーカー (CRP、白血球、好中球、リンパ球) と FDG-PET/CT パラメーターの関連性の比較検討を行った。FDG-PET/CT パラメーターとして、SUV 最高値 (SUV_{max})、SUV 平均 (SUV_{mean})、代謝腫瘍体積 (metabolic tumor volume: MTV)、総腫瘍体積 (total lesion glycolysis: TLG) を測定した。

手組織中の解糖系関連因子や低酸素関連因子を測定し、さらに腫瘍浸潤リンパ球の評価をおこなった。それらを比較することで、解糖系亢進・低酸素が免疫状態と関連性があるのか、機能イメージングによる免疫状態が予測可能か検討をした。

4. 研究成果

FDG-PET/CT はグルコース取り込み亢進を測定する。進行頭頸部癌患者の血液炎症マーカーを FDG-PET/CT パラメーターと比較を行った。FDG-PET/CT パラメーター (SUV_{max}、SUV_{mean}、MTV、TLG) は、CRP、白血球、好中球と正の相関関係を認めしたが、リンパ球とは相関関係を認めなかった (Figure 1)。つまり、グルコース取り込みが亢進した頭頸部癌患者では、全身性炎症、特に好中球炎症が亢進していることを示唆していた。さらに、手術標本を用いて好中球およびリンパ球の浸潤を評価し、FDG-PET/CT パラメーターと比較検討を行ったが、それらの関係性を示すような結果は得られなかった。これらから、解糖系が亢進している頭頸部癌患者ほど、全身炎症が誘導されていることが示唆された。がんにおける慢性炎症は、がん免疫抑制に繋がる。

次に、FDG-PET/CT パラメーターと手術検体の免疫細胞との比較を行った。リンパ球がほとんど浸潤していないがん組織では、リンパ球中等度浸潤、高度浸潤のがん組織と比べて、SUV_{max} が高値であった (Figure 2)。また、SUV_{max}、SUV_{mean} はがん組織に浸潤する免疫抑制性マクロファージとも正の相関を認めた (Figure 3)。つまり、実際の患者でも、解糖系が亢進した頭頸部癌ほど、リンパ球浸潤が抑制され、免疫抑制状態が誘導されていることが示された。一方で、がん細胞の PD-L1 発現に関しては、PD-L1 低発現群・高発現群と比べると、中等度発現群が有意に SUV_{max}、SUV_{mean} が低値であった。この結果に関しては解釈が難しく、さらなる検討が必要と考えている。

当初、低酸素イメージングとして光音響イメージング (Photoacoustic imaging) を予定していた。多方面に依頼したが、使用することができなかった。そこで、光音響イメージングの代わりにドップラーエコーの使用することとした。そして、ドップラーエコーの画像を処理して、血管の割合を計算した。転移リンパ節における低酸素関連マーカーである Carbonic anhydrase 9 (CA9) 発現は、血管の割合と負の相関を認めた (Figure 4)。つまり、血管が少ないものほど低酸素であることが示され、ドップラーエコーが低酸素イメージングとして代用可能と考えられた。ドップラーエコーで血流の少ない転移リンパ節では、マクロファージ浸潤が有意に少なかった (Figure 4)。この結果は、当初の仮定とは全く逆であった。評価対象が、もともとマクロファージが多数存在する転移リンパ節としたことで、免疫細胞浸潤に別の要因が加わった可能性が否定できない。今後は、原発の低酸素イメージングの方法を考え、原発での評価を考えていきたい。

FDG-PET/CTマーカーと血液炎症マーカー

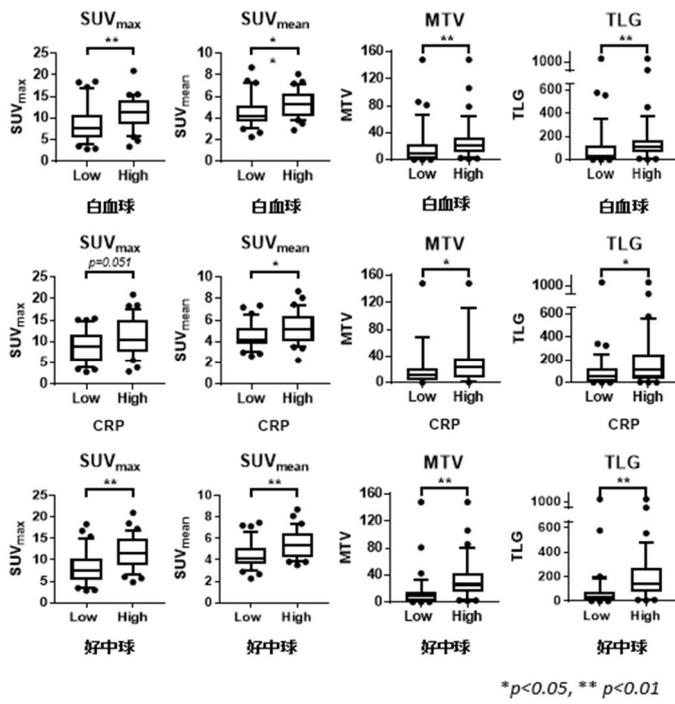


Figure 1

SUV_{max}とリンパ球浸潤、腫瘍PD-L1発現

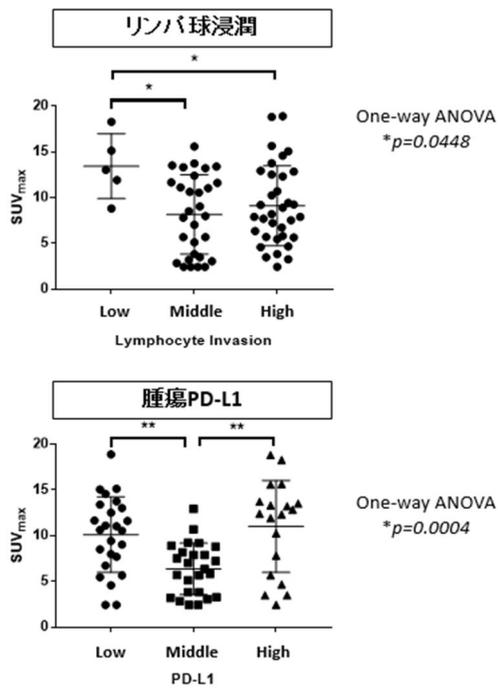
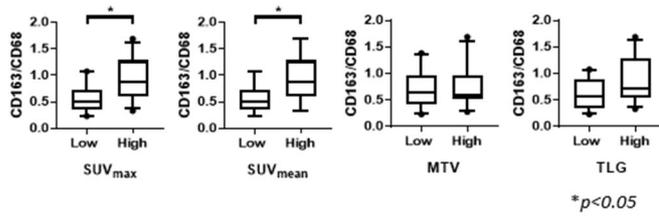


Figure 2

FDG-PET/CTマーカーとM2マクロファージ



Parameter	Spearman r	95% CI	P
SUVmax	0.4481	0.006635 to 0.7433	0.042*
SUVmean	0.4273	-0.01907 to 0.7316	0.053
MTV	0.3195	-0.1436 to 0.6678	0.158
TLG	0.3701	-0.08683 to 0.6984	0.099

Figure 3

ドップラーエコーの血管影の割合と低酸素マーカーの相関性

	Spearman r	95% CI	P-value
HIF-1 α	-0.1485	-0.4914 to 0.2344	0.4337
CA9	-0.4461	0.7004 to -0.09116	0.0135*

ドップラーエコーの血管影の割合とマクロファージ浸潤

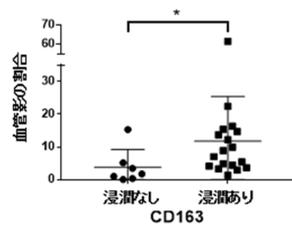


Figure 4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Ohashi Toshimitsu, Terasawa Kousuke, Aoki Mitsuhiro, Akazawa Takashi, Shibata Hirofumi, Kuze Bunya, Asano Takahiko, Kato Hiroki, Miyazaki Tatsuhiko, Matsuo Masayuki, Inoue Norimitsu, Ito Yatsuji	4. 巻 -
2. 論文標題 The importance of FDG-PET/CT parameters for the assessment of the immune status in advanced HNSCC	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	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) 10.1016/j.anl.2020.01.002	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 大橋敏充, 井上徳光, 青木光広	4. 巻 47
2. 論文標題 頭頸部腫瘍におけるWarburg効果と腫瘍内M2マクロファージ	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 癌と化学療法	6. 最初と最後の頁 6-10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 Okuda Hiroshi, Ohnishi Masami, Takahashi Hiroki, Takagi Chiaki, Takada Natsuki, Ohashi Toshimitsu	4. 巻 46
2. 論文標題 Long-term efficacy and toxicity of concurrent chemoradiotherapy with nedaplatin and S-1 for head and neck squamous cell carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Auris Nasus Larynx	6. 最初と最後の頁 882 ~ 888
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anl.2018.12.013	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 Ogawa Bakushi, Aoki Mitsuhiro, Ohnishi Hidenori, Ohashi Toshimitsu, Hayashi Hisamitsu, Kuze Bunya, Ito Yatsuji	4. 巻 15
2. 論文標題 The Long-Term Efficacy of Cochlear Implantation for Hearing Loss in Muckel-Wells Syndrome	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of International Advanced Otology	6. 最初と最後の頁 454 ~ 458
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5152/iao.2019.6871	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 大橋 敏充, 柴田 博史, 久世 文也, 青木 光広, 水田 啓介, 伊藤 八次	4. 巻 36
2. 論文標題 気道確保に検討を要した巨大甲状腺腫を伴うパセドウ病の1症例	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本内分泌外科学会雑誌	6. 最初と最後の頁 245-249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 黒木将、久世文也、水田啓介、大橋敏充、青木光広、伊藤八次	4. 巻 111
2. 論文標題 小児喉頭玩具異物	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 耳鼻臨床	6. 最初と最後の頁 747-751
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ohashi Toshimitsu, Aoki Mitsuhiro, Tomita Hiroyuki, Akazawa Takashi, Sato Katsuya, Kuze Bunya, Mizuta Keisuke, Hara Akira, Nagaoka Hitoshi, Inoue Norimitsu, Ito Yatsuji	4. 巻 108
2. 論文標題 M2-like macrophage polarization in high lactic acid-producing head and neck cancer	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1128 ~ 1134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13244	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 Akazawa T, Ohashi T, Wijewardana V, Sugiura K, Inoue N.	4. 巻 in press
2. 論文標題 Development of a vaccine based on bacteria-mimicking tumor cells coated with novel engineered TLR2 ligands	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13576	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7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大橋敏充、寺澤耕祐、柴田博史、久世文也、青木光広
2. 発表標題 頭頸部癌症例におけるFDG-PET/CTと慢性炎症の関係
3. 学会等名 第43回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大橋敏充、石原宏政、久世文也、高橋洋城、山田南星、大西将美、白戸弘道、青木光広
2. 発表標題 好中球の変化がNivolumabの効果を反映する
3. 学会等名 第30回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大橋敏充、久世文也、青木光広、水田啓介、伊藤八次
2. 発表標題 頭頸部癌におけるWarburg効果とM2様マクロファージ分化促進
3. 学会等名 第42回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大橋敏充、青木光広、赤澤隆、柴田博史、久世文也、井上徳光、伊藤八次
2. 発表標題 頸部癌におけるWarburg効果とM2様マクロファージの解析
3. 学会等名 第22回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大橋敏充、柴田博史、赤澤隆、井上徳光、
2. 発表標題 FDG-PET/CTを用いた腫瘍内M2様マクロファージの評価
3. 学会等名 第77回日本癌学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大橋敏充、青木光広、赤澤隆、久世文也、水田啓介、井上徳光、伊藤八次
2. 発表標題 高乳酸頭頸部癌におけるM2様マクロファージ分化の促進
3. 学会等名 第21回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 大橋敏充、Greg M Delgoffe、久世文也、青木光広、水田啓介、Robert F Ferris、伊藤八次
2. 発表標題 低酸素環境における有効なNK細胞活性化法の検討 - 糖代謝の評価を中心に -
3. 学会等名 第41回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2017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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------