

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：17701

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K15219

研究課題名（和文）膵癌における免疫チェックポイント阻害療法効果予測因子の検索

研究課題名（英文）Exploration of predicting factor in immune checkpoint inhibitor therapy for pancreatic cancer.

研究代表者

田上 聖徳 (Tanoue, Kiyonori)

鹿児島大学・鹿児島大学病院・特任助教

研究者番号：50721031

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：膵癌組織内は細胞傷害性T細胞(CTL)が極端に少ないと言われているが、本研究では、多数のCTLが観察される症例も存在しており、CTLの数が多い群で有意に生存期間の延長を認めた。また膵癌組織における免疫チェックポイント分子のリガンドの検討では、PD-L1、PD-L2の発現をほとんど認めず、Tim-3のリガンドであるGalectin-9の発現は認めた。Galectin-9の発現が低い症例で有意に生存期間の延長を認め、膵癌においては免疫抑制系として強く作用している可能性も考えられ、Tim-3/Galectin-9経路が膵癌の免疫チェックポイント阻害療法で有用な標的経路とな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

免疫チェックポイント阻害剤の治療効果が認められ、消化器癌でも免疫療法が実臨床で用いられるようになってきた。しかし、膵癌においては臨床試験でも他の癌種に比べ十分な効果が得られず、適用が進んでいない。理由として膵癌の微小環境において免疫が著しく不活化されていることが挙げられ、そのため免疫療法の確立が困難であると考えられている。本研究は、膵癌切除標本を用いて免疫環境の解析を行い、免疫療法の効果を改善させるための標的分子を同定することを目的とした。今後さらに遺伝子変異も含めた膵癌の免疫抑制メカニズムを解析することにより、新規の膵癌免疫療法の開発に繋げ、膵癌患者の予後の改善を目指す。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic cancer is called “cold tumor” because the number of cytotoxic T cell (CTL) in tumor-infiltrating lymphocytes is extremely small. However, some cases of pancreatic cancer in this study had “hot tumor” in which a large number of CTLs were observed, and overall survival was significantly longer in patients with a large number of CTL. In these pancreatic cancer tissues, expression of PD-L1 and PD-L2 were not observed. Meanwhile, expression of immune checkpoint ligand such as Galectin-9, a ligand of Tim-3, was observed. Moreover, overall survival was significantly longer in the cases with low expression of Galectin-9, so it is considered that Galectin-9 may be an immunosuppressive factor in pancreatic cancer. These results suggest that the Tim-3/Galectin-9 pathway may be a useful target pathway for immune checkpoint inhibition therapy for pancreatic cancer.

研究分野：消化器外科

キーワード：膵臓癌 免疫チェックポイント分子

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

膵癌は極めて予後不良な疾患であり、進行膵癌では、1年生存率が16%、3年生存率が3%未満である。膵癌の薬物療法としては、ゲムシタピン+アルブミン懸濁型パクリタキセル、S1、FOLFIRINOX療法などが標準治療として位置づけられているが、その治療効果は限定的であり、新たな治療法開発が最も求められる領域である。近年、免疫チェックポイント阻害薬(immune checkpoint inhibitor; ICI)が、消化器癌領域でも、国内外で適応拡大が進められ、治療効果が証明されている。しかし、膵癌の臨床試験では、ほとんどの症例でICIの効果は得られていない。全例無奏功の臨床試験が多く、ICI単剤での使用では勿論、化学療法との併用で行った第1相試験(ゲムシタピン+トレメリムマブ)でも全例無奏功という厳しい結果であった(Ann Oncol. 2014)。免疫療法の効果が得られない理由として、「免疫が不活化された微小環境」が考えられている。治療耐性因子を阻害することで膵癌においても免疫療法によって抗腫瘍効果が得られる可能性を考え、本研究を開始した。

### 2. 研究の目的

「なぜ膵癌では一部の症例でのみ免疫チェックポイント阻害により治療効果がえられるのか」が、本研究課題の「問い」である。また免疫チェックポイント阻害剤のような免疫療法は腫瘍側が変異しても、リンパ球に作用する薬剤であるため、抗癌剤、分子標的治療薬のように、耐性獲得で効果が持続することが期待できると考えた。選択できる薬剤が少ない膵癌の免疫治療に対する抵抗性因子を同定することで、新規の膵癌免疫療法の開発に繋げ、膵癌患者の予後の改善を目指すことを目的としている。

### 3. 研究の方法

膵癌切除標本を用いて免疫環境の解析を行い、免疫療法の効果を改善させるための標的分子を同定する。また、遺伝子変異も含めた膵癌の免疫抑制メカニズムを解析する。第一段階として、in vitro モデルを用いた免疫チェックポイント阻害療法治療関連遺伝子の同定。第二段階として、マウスモデルで免疫チェックポイント分子の治療効果と治療耐性を検討。第三段階として、手術切除膵癌で免疫チェックポイント分子の治療耐性を検証していく。

### 4. 研究成果

免疫療法は血液癌と比較して、固形癌では十分な効果が得られないことが多い。固形癌は血液癌と比較して免疫環境が複雑かつ多様性があることが、免疫療法の大きな障害となっていると考えられる。固形癌の免疫療法を効果的に行うためには、それぞれの癌種における免疫環境の詳細な検討が必要であると考えた。固形癌の中でも特に膵癌のがん微小環境における免疫は高度に抑制されている。制御性T細胞(regulatory T cell; Treg)、骨髄由来免疫抑制細胞(myeloid-derived suppressor cell; MDSC)、腫瘍関連マクロファージ(tumor-associated macrophage; TAM)などの免疫抑制性の細胞が多数存在しており、また腫瘍内に間質細胞が豊富で免疫細胞の浸潤を妨げていると考えられている。多くの癌種で、その数が予後と相関を示す腫瘍浸潤リンパ球(tumor infiltrating lymphocyte; TIL)内のCD8陽性細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte; CTL)が、膵癌では極端に少ないとされており、またT細胞よりもNK細胞が強く関わっているとする報告もある(Biochem Biophys Res Commun. 2018)。これらはT細胞を用いた免疫療法の無奏功との関連を示唆し、膵癌はCTLの浸潤の少ない、いわゆる cold tumor であると考えられている。しかし、本研究で術前治療を施行していない膵癌切除症例を検討すると、明らかに多数のCTLが腫瘍内、腫瘍周囲に観察される hot tumor も存在していた。それらの症例を比較すると、膵癌においても他の癌種と同様TIL内のCTLの数が多し群で有意に生存期間の延長を認めた。また膵癌組織における免疫チェックポイント分子のリガンドの検討では、PD-L1、PD-L2の発現をほとんど認めなかったが、Tim-3のリガンドである Galectin-9 など他の免疫チェックポイント関連分子の発現を

認められた。この結果は抗 PD-1/PD-L1 抗体などが奏功しない原因の一つである可能性を示唆した。CTL の浸潤の多い hot tumor の状態であれば、阻害する経路の選択によって膵癌でも ICI で治療効果が得られる可能性もあると考え、Tim-3/Galectin-9 経路に注目した。膵癌組織における Galectin-9 の発現と予後の関連を The Cancer Genome Atlas data set (TCGA)を用いて解析すると、他の消化器癌では Galectin-9 の発現が高い症例で予後が良い傾向にあったが、膵癌のみ有意差を持って逆の結果であった。Galectin-9 は癌抑制因子として報告されていることが多く(Int J Cancer. 2002, Clin Cancer Res. 2005)、膵癌においては癌抑制より免疫抑制系として強く作用している可能性も考えられた。以上の結果より Tim-3/Galectin-9 経路が膵癌の ICI 治療で有用な標的経路となる可能性が示唆された。さらに膵癌組織で TIL 内の CTL 上での免疫チェックポイント分子の発現、三次リンパ様構造(tertiary lymphoid structures; TLS)、抑制性免疫細胞の解析を進めており、化学療法や放射線療法との併用による、膵癌の免疫環境の変化も検討している。

近年ではゲノム、エピゲノムの変化が免疫療法の治療効果に影響することが示されており、特に高頻度マイクロサテライト不安定性(MSI-high)を有する固形癌で免疫チェックポイント阻害剤の有効性が認められており、2018 年より抗 PD-1 抗体であるペムブロリズマブが全身化学療法後に増悪した進行・再発の MSI-high を有する固形癌へ適用拡大となった。しかし、膵癌では MSI-high を有する症例数自体が少なく、現在 ICI の治療効果に関連すると考えられている体細胞変異数も他癌種に比べて少ない腫瘍であることが分かっている。これらをマーカーとして免疫療法の治療効果が得られることが期待できる希少な症例を選別することも重要だが、膵癌においては免疫環境を cold にしているゲノム、エピゲノム変化の機序を明らかにすることが重要である。我々は ICI の治療耐性を付与するゲノム、エピゲノムの因子を同定する目的で、胃癌・食道癌におけるニボルマブ投与前の生検標本を用いて、次世代シーケンサーによる全エクソーム解析を行い、ICI の治療効果と関連する遺伝子変異に関する研究を進めている。ここで指摘された遺伝子変異を有する膵癌の微小環境の免疫状態を評価し、膵癌における ICI 治療の効果予測の新たなマーカー、免疫療法の効果を上げる標的分子の同定を目指し研究を継続する。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7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 1件）

1. 著者名 Kurahara Hiroshi, Maemura Kosei, Mataki Yuko, Tanoue Kiyonori, Iino Satoshi, Kawasaki Yota, Idichi Tetsuya, Arigami Takaaki, Mori Shinichiro, Shinden Yoshiaki, Higashi Michiyo, Ueno Shinichi, Shinchi Hiroyuki, Natsugoe Shoji	4. 巻 20
2. 論文標題 Lung recurrence and its therapeutic strategy in patients with pancreatic cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pancreatology	6. 最初と最後の頁 89～94
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.pan.2019.11.015	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 Khalid Muhammad, Idichi Tetsuya, Seki Naohiko, Wada Masumi, Yamada Yasutaka, Fukuhisa Haruhi, Toda Hiroko, Kita Yoshiaki, Kawasaki Yota, Tanoue Kiyonori, Kurahara Hiroshi, Mataki Yuko, Maemura Kosei, Natsugoe Shoji	4. 巻 11
2. 論文標題 Gene Regulation by Antitumor miR-204-5p in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: The Clinical Significance of Direct RACGAP1 Regulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 327～327
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers11030327	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 Fukuhisa Haruhi, Seki Naohiko, Idichi Tetsuya, Kurahara Hiroshi, Yamada Yasutaka, Toda Hiroko, Kita Yoshiaki, Kawasaki Yota, Tanoue Kiyonori, Mataki Yuko, Maemura Kosei, Natsugoe Shoji	4. 巻 64
2. 論文標題 Gene regulation by antitumor miR-130b-5p in pancreatic ductal adenocarcinoma: the clinical significance of oncogenic EPS8	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 521～534
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s10038-019-0584-6	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 Khalid Muhammad, Idichi Tetsuya, Seki Naohiko, Wada Masumi, Yamada Yasutaka, Fukuhisa Haruhi, Toda Hiroko, Kita Yoshiaki, Kawasaki Yota, Tanoue Kiyonori, Kurahara Hiroshi, Mataki Yuko, Maemura Kosei, Natsugoe Shoji	4. 巻 11
2. 論文標題 Gene Regulation by Antitumor miR-204-5p in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: The Clinical Significance of Direct RACGAP1 Regulation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 327 ~ 327
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11030327	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 Fukuhisa Haruhi, Seki Naohiko, Idichi Tetsuya, Kurahara Hiroshi, Yamada Yasutaka, Toda Hiroko, Kita Yoshiaki, Kawasaki Yota, Tanoue Kiyonori, Mataki Yuko, Maemura Kosei, Natsugoe Shoji	4. 巻 -
2. 論文標題 Gene regulation by antitumor miR-130b-5p in pancreatic ductal adenocarcinoma: the clinical significance of oncogenic EPS8	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	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) 10.1038/s10038-019-0584-6	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 Tanaka Takako, Kita Yoshiaki, Mori Shinichiro, Baba Kenji, Tanabe Kan, Wada Masumi, Tsuruda Yusuke, Tanoue Kiyonori, Yanagita Shigehiro, Maemura Kosei, Natsugoe Shoji	4. 巻 5
2. 論文標題 Three-stage laparoscopic surgery in a morbidly obese patient with Hinchey III diverticulitis: a case report	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surgical Case Reports	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) 10.1186/s40792-019-0588-7	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 ANDO KEI, SAKODA MASAHIKO, UENO SHINICHI, HIWATASHI KIYOKAZU, IINO SATOSHI, MINAMI KOJI, KAWASAKI YOTA, HASHIGUCHI MOTYUKI, TANOU KKIYONORI, MATAKI YUKO, KURAHARA HIROSHI, MAEMURA KOSEI, SHINCHI HIROYUKI, NATSUGOE SHOJI	4. 巻 38
2. 論文標題 Clinical Implication of the Relationship Between High Mobility Group Box-1 and Tumor Differentiation in Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3411 ~ 3418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.12609	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 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原弘、川崎洋太、伊地知徹也、飯野聡、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 当科における5年以上長期生存膵癌症例の検討
3. 学会等名 第48回 九州膵研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyonori Tanoue, Kosei Maemura, Yuko Mataka, Hiroshi Kurahara, Yota Kawasaki, Tetsuya Idichi, Satoshi Iino, Masahiko Sakoda, Shinichi Ueno, Hiroyuki Shinchi and Shoji Natsugoe
2. 発表標題 Clinical outcomes of conversion surgery after chemoradiotherapy for locally advanced pancreatic cancer
3. 学会等名 第31回日本肝胆膵外科学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原弘、川崎洋太、伊地知徹也、飯野聡、迫田雅彦、上野真一、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 当科におけるStage 膵癌の5年以上長期生存例の検討
3. 学会等名 第28回 日本がん転移学会学術集会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原弘、川崎洋太、伊地知徹也、飯野聡、迫田雅彦、上野真一、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 当施設におけるUR-LA膵癌に対する化学放射線療法後のConversion Surgeryの検討
3. 学会等名 第4回 鹿児島県消化器病学術講演会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kiyonori Tanoue, Masahiko Sakoda, Satoshi Iino, Yota Kawasaki, Motoyuki Hashiguchi, Yuko Matakai, Hiroshi Kurahara, Kousei Maemura, Hiroyuki Shinchi, Shinichi Ueno and Shoji Natsugoe
2. 発表標題 A Case of Hepatocellular Carcinoma with Distant Lymph Node Metastases .
3. 学会等名 第30回日本肝胆膵外科学会学術集会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原弘、川崎洋太、迫田雅彦、飯野聡、橋口真征、上野真一、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 膵Solid Pseudopapillary Neoplasm 10例の臨床病理学的特徴の検討
3. 学会等名 第49回 日本膵臓学会大会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原弘、川崎洋太、迫田雅彦、飯野聡、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 UR-LA膵癌に対する化学放射線療法後のConversion Surgeryの検討
3. 学会等名 日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原弘、川崎洋太、迫田雅彦、飯野聡、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 局所進行切除不能膵癌に対する化学放射線療法後のConversion Surgeryの検討
3. 学会等名 膵癌術前治療研究会
4. 発表年 2018年～2019年

1. 発表者名 田上聖徳、前村公成、又木雄弘、蔵原 弘、川崎洋太、伊地知徹也、飯野聡、新地洋之、夏越祥次
2. 発表標題 当科における5年以上長期生存膵癌症例の検討
3. 学会等名 第48回 九州膵研究会
4. 発表年 2018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

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