

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2022

課題番号：18K16867

研究課題名（和文）唾液腺癌に対するホウ素中性子捕捉療法後のゲノム学的変化の解明

研究課題名（英文）Elucidation of genomic alteration after boron neutron capture therapy in salivary gland carcinoma

研究代表者

福本 一郎 (Fukumoto, Ichiro)

千葉大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70748764

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000 円

研究成果の概要（和文）：総合南東北病院耳鼻咽喉科においてホウ素中性子捕捉療法施行後に腫瘍が再発・残存したため救済手術を行った耳下腺様嚢胞癌の症例が複数存在するため、その検体を用いて治療前後でのゲノム学的な変化を解析した。BNCT治療後にはCTLA4やICOSなどの腫瘍免疫に関する遺伝子が多く発現が増加していた。また、発現が最も上昇しているpathwayはallograft rejectionという腫瘍免疫に関わるpathwayでこの中にはCTLA4も含まれた。通常の放射線治療と同様に、BNCT照射により腫瘍の抗原性が増加し、CTLA4やICOSを発現したリンパ球が腫瘍周囲に浸潤している可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

唾液腺様嚢胞癌は外科手術が第一選択だが、遠隔転移をきたした症例は化学療法や放射線療法が中心の治療になる。現在分子標的薬を含めた化学療法や放射線療法が検討されているが、有効な治療法が確立されていないのが現状である。ホウ素中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy: BNCT)はその中でも効果が期待できる新たな治療だが、BNCTに対して治療抵抗性を示す腺様嚢胞癌では腫瘍免疫学的な機序が関与している可能性が示唆され、今後新たな治療法が期待できると考えられた。

研究成果の概要（英文）：Exhaustive analysis was performed on samples before and after BNCT in adenoid cystic carcinoma patients following surgical resection. Using the data from RNA sequencing, differentially regulated genes and pathways were identified. Expressions of genes involved in the anti-tumor immune response were enriched in post-BNCT samples. Particularly, gene expressions on T cells (CD2, CD3) and surface molecules involved in T cell activity regulation (CLAT-4, ICOS) were elevated after BNCT. Furthermore, the TCR signaling pathway was upregulated upon BNCT. The enrichment of T cell markers suggested immune cell recruitment after BNCT. Elevated CTLA-4 and ICOS expressions raise the possibility that the modulation of these receptors' activities via immune checkpoint inhibitors or agonistic monoclonal antibodies may be an effective combination strategy with BNCT.

研究分野：癌ゲノム

キーワード：唾液腺癌 腺様嚢胞癌 免疫チェックポイント阻害薬 ホウ素中性子捕捉療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

唾液腺癌は比較的珍しく頭頸部癌の約 1-6%を占めるとされており、組織型は腺様嚢胞癌、粘表皮癌、唾液腺導管癌、多形腺腫由来癌など 24 種類に分類され、多彩な組織像を呈する。化学療法や放射線治療の臨床試験は行われているが、いずれの組織型でもこれらの治療は十分有効とは言えず、切除可能であれば手術療法が第一選択となる。しかし遠隔転移を来たした症例にはプラチナ製剤をはじめとした化学療法や放射線療法が中心にならざるを得ず、多く場合で根治治療は望むことはできない。腺様嚢胞癌は全ての頭頸部悪性腫瘍の中で約 1%を占めており、唾液腺癌の中の約 22%を占めるとされる。比較的発育が遅く、リンパ節転移は起こしにくい、術後の局所再発や神経周囲進展、肺や肝をはじめとした遠隔転移を来すことが分かっている。他の唾液腺癌同様、治療の第一選択は手術療法であり、放射線療法や化学療法の効果は十分ではなく新規治療が求められる組織型である。

ホウ素中性子捕捉療法(Boron Neutron Capture Therapy: BNCT)は加速器からの中性子線と、癌細胞に集積するホウ素化合物の反応を利用して癌細胞をピンポイントに破壊する放射線治療であり、癌細胞周囲の正常組織を障害することが少なく、次世代の癌治療として期待されている。

2. 研究の目的

唾液腺腺様嚢胞癌において BNCT 抵抗性に関する遺伝子を探究する。

3. 研究の方法

耳下腺腺様嚢胞癌に対して BNCT を施行し、腫瘍が再発・残存したため救済手術を行った症例の治療前後の検体を用いて網羅的に解析し、治療前後でのゲノム学的な変化から治療抵抗性に関する遺伝子として候補となり得るものを検討した。

4. 研究成果

Number	Age	Sex	T	N	M	Stage	Pathology
1	63	F	1	0	0	I	adenoid cystic carcinoma
2	63	F	4a	0	0	IVA	adenoid cystic carcinoma
3	32	M	2	0	0	II	adenoid cystic carcinoma

総合南東北病院耳鼻咽喉科においてホウ素中性子捕捉療法施行後に腫瘍が残存したため救済手術を行った腺様嚢胞癌 3 症例の術前生検検体、術後手術検体、計 6 検体を採取した。これら 3 症例の患者のバックグラウンドと臨床情報は table1 に示す。

BNCT 治療施行し、腫瘍残存し救済手術を施行した検体が治療前の生検検体に比べて発現が上昇している mRNA を以下の Table2 へ示す。

Gene ID	p	Log FC	Gene Symbol	Description
8788	0.0041005	5.4904933	DLK1	delta-like 1 homolog (Drosophila)
29851	0.0005806	4.2273283	ICOS	inducible T-cell co-stimulator
914	0.0061882	4.2167945	CD2	CD2 molecule
6351	0.004397	4.10993	CCL4	chemokine (C-C motif) ligand 4
6347	0.0070943	4.006908	CCL2	chemokine (C-C motif) ligand 2
1493	0.0094261	3.9424472	CTLA4	cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4
2921	0.004889	3.8604474	CXCL3	chemokine (C-X-C motif) ligand 3
6096	0.0014427	3.7756145	RORB	RAR-related orphan receptor B
387357	0.0059294	3.7252138	THEMIS	thymocyte selection associated
814	0.0022323	3.3812668	CAMK4	calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV
128611	0.0054964	3.3504634	ZNF831	zinc finger protein 831
3561	0.006191	3.2581196	IL2RG	interleukin 2 receptor, gamma
916	0.0071466	3.2546287	CD3E	CD3e molecule, epsilon (CD3-TCR complex)
9518	0.0042387	3.2268145	GDF15	growth differentiation factor 15
8530	0.004478	3.2017648	CST7	cystatin F (leukocystatin)
4050	0.0020602	3.1447325	LTB	lymphotoxin beta (TNF superfamily, member 3)
120425	0.0095305	3.0773659	AMICA1	adhesion molecule, interacts with CXADR antigen 1
84969	0.0068434	3.068347	TOX2	TOX high mobility group box family member 2
2159	0.0029876	3.0648549	F10	coagulation factor X
6004	0.0039156	3.0528502	RGS16	regulator of G-protein signaling 16
6515	0.0050784	3.0492492	SLC2A3	solute carrier family 2 (facilitated glucose transporter), member 3
27022	0.0068011	3.0420253	FOXO3	forkhead box D3

細胞傷害性 T 細胞、制御性 T 細胞、および NK 細胞で発現する CTLA4（細胞傷害性 T リンパ球関連抗原-4）および誘導性 T 細胞共刺激因子（ICOS）が含まれており、T リンパ球が BNCT 後に発現が上昇している可能性が示唆された。

BNCT 治療後に遺伝子発現が上昇した pathway を Table3 に示す。

Table 3. Upregulated pathways after Boron Neutron Capture Therapy			
Pathway	Genes found in pathways [n]	Criterion for Z score [z]	Permuted P-Value [p]
Allograft Rejection	95	9.38	0
TYROBP Causal Network	60	6.61	0
Complement and Coagulation Cascades	58	6.54	0
Type II interferon signaling (IFNG)	37	6	0
Macrophage markers	9	5.71	0
Human Complement System	104	5.39	0
Microglia Pathogen Phagocytosis Pathway	40	4.75	0
Striated Muscle Contraction	38	4.65	0
Inflammatory Response Pathway	31	4.5	0
Complement Activation	21	4.49	0
Adipogenesis	131	3.99	0
Selenium Micronutrient Network	84	3.95	0
Spinal Cord Injury	116	3.84	0
The human immune response to tuberculosis	22	3.75	0.001
Prostaglandin Synthesis and Regulation	46	3.61	0
Ebola Virus Pathway on Host	127	3.59	0
Photodynamic therapy-induced NF-kB survival sig	35	3.47	0
Hair Follicle Development: Cytodifferentiation (Part	87	3.45	0.001
Folate Metabolism	67	3.43	0.002
Vitamin D Receptor Pathway	185	3.42	0
Vitamin B12 Metabolism	51	3.4	0
IL1 and megakaryocytes in obesity	24	3.38	0.001
Matrix Metalloproteinases	30	3.34	0.001
T-Cell antigen Receptor (TCR) Signaling Pathway	92	3.33	0.001
Overview of nanoparticle effects	19	3.28	0.001
EV release from cardiac cells and their functional e	9	3.28	0.002
Differentiation of white and brown adipocyte	25	3.21	0.002
Cytokines and Inflammatory Response	28	3.19	0.001
Lung fibrosis	63	3.18	0.005
Development of pulmonary dendritic cells and mac	12	3.09	0.004
Proteasome Degradation	65	3	0.003

これらの中で T 細胞抗原受容体 (TCR) シグナル伝達経路などの腫瘍免疫に関する pathway が含まれ、さらにこの pathway には誘導性 T 細胞共刺激因子 (ICOS) が含まれており、治療後の T 細胞の細胞活性化の可能性が示唆された。

自己に対する過剰な免疫反応を抑制するために備わる免疫チェックポイント機構は、腫瘍における微小環境において機能亢進しており、腫瘍細胞における PD-L1 と細胞障害性 T 細胞が結合することで腫瘍免疫の抑制が起こることがわかっている。この PD-1/PD-L1 pathway を阻害する免疫チェックポイント阻害薬は、近年癌治療の新たな戦略として注目されており、頭頸部癌においても例外ではない。

BNCT は癌新規治療として期待されているのにも関わらず、あまり効果が見られない症例があり、その治療抵抗性の作用機序は不明である。通常の放射線治療に対して抵抗性を示す頭頸部癌の腫瘍微小環境を検討したところ、腫瘍細胞及び免疫細胞の PD-L1 の発現が上昇しており、放射線治療抵抗性に関与するという報告がある。同様なメカニズムが BNCT の治療抵抗性、再発のメカニズムに腫瘍免疫学的な関与が疑われていたが、今回の腺様嚢胞癌に対して BNCT を施行した症例でも治療後に発現が上昇している遺伝子には CTLA4 や ICOS などが含まれており、腫瘍免疫学的な機序が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------