

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09130

研究課題名(和文) Helicobacter pylori免疫応答が胃癌術後補助化学療法に及ぼす影響

研究課題名(英文) Improved survival by Helicobacter pylori-modulated immunity in gastric cancer patients with adjuvant chemotherapy

研究代表者

肥田 圭介 (Koeda, Keisuke)

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：10285596

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)：胃切除症例に組織マイクロアレイを作製し、ヘリコバクターピロリの感染状態を491症例を対象に行った。免疫回避の指標である PD-L1の発現を免疫組織学的および分子生物学的手法により半定量的に判定を行った。無再発生存期間ではS-1 doseとPD-L1において交互作用が認められ、PD-L1-ではHP+がHP-に対して有意に高い5年生存率を示した。全生存率および無再発生存率に対する独立因子としてpStageおよびHPとPD-L1の組み合わせが同定された。免疫逃避機構が働いていない胃癌患者に術後化学療法を行った場合、HPの既感染による宿主免疫の活性化が生存率改善に寄与してい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

胃癌発症のリスク因子として知られているHelicobacter pylori(HP)感染が、進行胃癌患者では逆説的に予後が良いことが各国から報告されている。我々も同様の結果を報告してきたが、今回HP感染と免疫応答の関連、特に術後補助化学療法の効果に着目し研究を行った。

結果、PD-L1陰性かつHP陽性症例において術後補助化学療法の効果が強く認められていることが明らかになった。今後手術検体より術後補助化学療法の効果および予後予測が可能となり、治療のオーダーメイド化に繋がる事が期待される。

研究成果の概要(英文)：Paradoxically, Helicobacter pylori-positive gastric cancer patients have a better prognosis than those who are HP-negative. Immunologic and statistical analyses can be used to verify whether systematic mechanisms modulated by HP are involved in this more favorable outcome. A total of 658 advanced gastric cancer patients who underwent gastrectomy were enrolled. HP infection and programmed death-ligand 1 (PD-L1) were analyzed. Among 491 cases that were analyzed, analysis of RFS indicated an interaction of HP status among the subgroups for S-1 Dose and PD-L1. HP+ patients in the PD-L1 group had significantly higher five-year OS and RFS than HP- patients. Thus, HP status was identified as one of the most potentially important independent factors to predict prolonged survival. Modulation of host immune system function by HP may contribute to prolonged survival in the absence of immune escape mechanisms of gastric cancer.

研究分野：消化器外科

キーワード：胃癌 Helicobacter pylori 術後補助化学療法 免疫応答

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胃癌発生のリスク因子として知られる *Helicobacter pylori*(HP)感染の有無により胃癌の予後に影響があることが報告されている。我々も同様な傾向を先行研究において報告してきた。一方 *Helicobacter pylori*(HP)感染状況と宿主免疫能との関連ならびに術後補助化学療法の効果についてはいまだ検証がなされていない。

2. 研究の目的

分子生物学的および免疫学的視点から *Helicobacter pylori*(HP)に対応する免疫反応が胃癌患者の予後に影響を及ぼす可能性について検証する。

3. 研究の方法

集積された症例は北海道・東北地区の12施設で2009年までに胃切除を施行された658症例の進行胃癌症例である(Northern Japan Gastric Cancer Consortium)。全658症例について組織マイクロアレイを作製し、HPの感染状態の解析を行った。HPの判定が可能であった491症例を解析の対象とした。

胃癌細胞の免疫回避の指標である Programmed cell death ligand 1(PD-L1)の発現およびCD4とCD8陽性Tリンパ球数、Total Lymphocyte Count (TLC)、ミスマッチ修復機構の機能障害の指標である Mismatch Repair deficiency (dMMR)を免疫組織学的および分子生物学的手法により可視化し半定量的に判定を行った。PD-L1の判定は全腫瘍組織の10%以上染色されている場合を陽性と判定した。また、CD4、CD8、TLCに関しては1切片あたり3視野の対象細胞数のカウントを行い、平均値を算出した。CD4陽性リンパ球は1つ以上を陽性と判定した。また、CD8陽性リンパ球とTLCは平均値を用いてヒストグラムを作成し、中央値を任意のカットオフ値と設定した。MMRについてはMLH1、MSH2、MSH6、PMS2の4つのタンパク質に対する免疫染色を行い、それぞれ腫瘍組織全体の30%以上が染色されない場合を陰性とした。1つ以上のタンパク質発現が陰性である場合を deficient MMR、タンパク質発現が陰性であるものが1つもみられない場合を proficient MMR と判定した。

手術単独群/術後化学療法群から100例を選定してゲノムDNA抽出を行い、免疫チェックポイント阻害剤の効果予測に用いられる Microsatellite Instability (MSI)の検証を行った。BAT25、BAT26、NR21、NR24、MONO27の5つのサテライトマーカーを用いて検出を行った。PCRで増幅したDNAを電気泳動し、1つ以上のマーカーで正常組織では見られない分子量にピークが認められた場合を MSI とし、正常組織と腫瘍組織で相違がみられないものを microsatellite stable (MSS)と判定した。

得られたデータとHPとの関連性については、解析ソフト JMP を用いてフィッシャーの正確確率検定、サブグループ解析、Kaplan-Meier 推定による生存解析、および Cox 比例ハザード回帰モデルを用いた独立予後因子の同定を行った。

4. 研究成果

1) フィッシャーの正確確率検定において、PD-L1, CD4/CD8, TLC, MMR, MSI それぞれのパラメーターとHPとの関連は認められなかった。

2) サブグループ解析を用いた全生存期間での検討では、交互作用は認められなかった。無再発生存期間での検討ではS-1 dose ($P=0.049$)とPD-L1 ($P=0.016$)において交互作用が認められた。

3) PD-L1⁺ではHP⁺/HP⁻の5年生存率には差がなかったが、PD-L1⁻ではHP⁺がHP⁻に対して有意に高い5年生存率を示した。そこで腫瘍の免疫逃避機構が働いていないPD-L1⁻に対してHP⁺/HP⁻と治療との関連を調べた。PD-L1⁻/HP⁺の5年生存率は80.6%(95CI: 72.5-86.8)とPD-L1⁻/HP⁻の5年生存率67.9%(95CI: 61.3-73.8)($P=0.0011$; HR 0.477; 0.303-0.751)よりも高値であった。症例をStage II/IIIに限定しても同様の結果が得られた。PD-L1⁻/Surgery+S-1/HP⁺の5年生存率は82.3%(95CI: 69.4-90.5)でPD-L1⁻/Surgery+S-1/HP⁻の5年生存率55.3%(95CI: 43.5-66.6)($P=0.0008$; HR 0.304; 0.146-0.635)よりも高値であった。さらにPD-L1⁻/S-1 reduced/HP⁺の5年生存率は86.2%(95CI: 68.5-94.7)とPD-L1⁻/S-1 reduced/HP⁻の5年生存率46.4%(95CI: 31.2-62.3)($P=0.0014$; HR 0.205; 0.07-0.602)よりも高値であった。

4) 年齢, 性別, pStage, S-1用量, 組織型, CD4, CD8, TLC, MSI, MMR, およびHP*PD-L1を選択可能パラメーターとして5種類のパラメーターによるCox比例ハザード回帰モデル解析を行った。全生存率および無再発生存率に対する独立因子としてpStageおよびHP*PD-L1が同定された。以上より、免疫逃避機構が働いていない進行胃癌患者がS-1術後化学療法を行った場合、HPの既感染による宿主免疫の活性化が生存率改善に寄与している可能性が示唆された。

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 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yuka Koizumi, Sheny Ahmad, Keisuke Koeda, Satoshi S. Nishizuka,	4. 巻 -
2. 論文標題 Improved survival by Helicobacter pylori-modulated immunity in gastric cancer patients with S-1 adjuvant chemotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of the National Cancer Institute	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） 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 該当する

1. 著者名 Omori Y, Nomura T, Fukushima N, Takahashi F, Iwaya T, Koeda K, Nishizuka SS	4. 巻 120
2. 論文標題 Recurrence risk evaluation in T1N1M0/T2N0M0/T3N0M0 gastric cancer with TP53 codon 72 polyphorphism	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Surg Oncol	6. 最初と最後の頁 1154-1161
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/jso.25718	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1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Nishizuka S, Ohmori Y, Iwaya T, Koeda K, the Northern Japan Gastric Cancer Study Consortium
2. 発表標題 Recurrence risk evaluation in stage IB gastric cancer with TP53 codon 72 polymorphism.
3. 学会等名 ASCO Annual Meeting（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	西塚 哲 (Nishizuka Satoshi) (50453311)	岩手医科大学・医歯薬総合研究所・特任教授 (31201)	

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
---------	---------