

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：15401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09288

研究課題名(和文) 胸腺上皮性腫瘍の免疫逃避機構解明と免疫療法の開発

研究課題名(英文) Analysis of immune escape mechanism and development of immunotherapy for thymic epithelial tumors

研究代表者

宮田 義浩 (Miyata, Yoshihiro)

広島大学・原爆放射線医科学研究所・准教授

研究者番号：50397965

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)：本研究は胸腺上皮細胞(TET)の免疫逃避機構を解明し、免疫チェックポイント阻害剤(ICI)の有効な使用法を開発することである。TETのサブタイプ(A, AB, B1, B2, B3, C)と浸潤リンパ球(TIL)の免疫染色による定量解析により、PDL1, CD8, FOXP3の発現強度とその比率はサブタイプごとに異なり、これがTETの悪性度、予後に関連することを見出した。新鮮検体のFACS解析によりTETは正常胸腺に比してeffector T regを多く含んでいることがわかった。以上の結果よりサブタイプや腫瘍内T reg程度によりICI効果が異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

胸腺上皮細胞より発生する胸腺上皮性腫瘍(TET)は進行例では難治であり、近年免疫チェックポイント阻害剤(ICI)の臨床応用が期待されている。しかし胸腺上皮細胞は胸腺において自己を攻撃するT細胞を排除する中枢免疫寛容を司るため、胸腺上皮細胞より発生するTETについては、その免疫逃避機構が他の固形癌と全く異なる可能性があった。本研究によりTETの腫瘍微小環境の特殊性を踏まえた免疫逃避機構の一部が明らかになり、ICIの効果予測、有効な使用法が示された。TETの既存の抗癌剤への感受性は低く、新たな免疫療法の開発は社会的にも大きな意義がある。

研究成果の概要(英文)：This study aims to elucidate the immune escape mechanism of thymic epithelial cells (TET) and to develop the use of immune checkpoint inhibitor (ICI) for TETs. Quantitative immunostaining analysis of TET subtypes (A, AB, B1, B2, B3, C) and tumor infiltrating lymphocytes (TIL) revealed that the expression intensity and ratio of PDL1, CD8, FOXP3 differed by subtype. We found that this is related to the malignancy and prognosis of TET. FACS analysis of fresh specimens revealed that TETs contained more effector T reg (FOXP3^{high}CD45RA⁻) than normal thymus. The above results suggest that the ICI effect may differ depending on the TET subtype and the degree of intra-tumoral Treg.

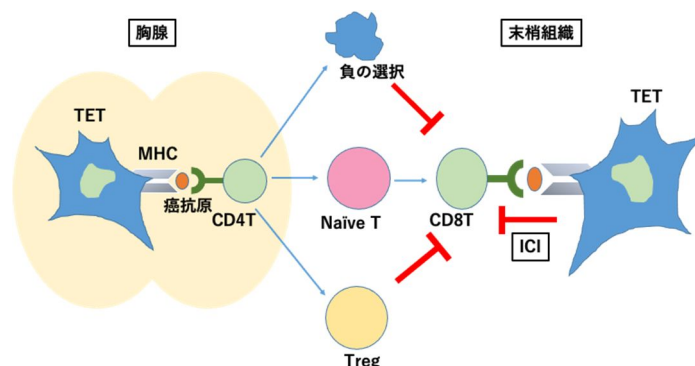
研究分野：呼吸器外科

キーワード：胸腺腫 免疫療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胸腺上皮細胞より発生する胸腺上皮性腫瘍 (TET) は進行例では難治であり、近年免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) の臨床応用が期待されている。しかし胸腺上皮細胞は胸腺において自己を攻撃する T 細胞を排除する中枢免疫寛容を司るため、胸腺上皮細胞より発生する TET については、その免疫逃避機構が他の固形癌と全く異なる可能性がある。そのため ICI を用いた場合の効果予測が困難であることが問題となる。



2. 研究の目的

本研究の目的は、他癌とは異なる特異な腫瘍免疫環境を有する TET の免疫逃避機構に着目し、そのメカニズムを解明することにより、ICI の適切且つ合理的な使用を目指したバイオマーカーの同定、効果、副作用予測方法を開発することである。

3. 研究の方法

(1) 免疫染色による腫瘍および浸潤リンパ球 (TIL) の解析 (保存検体)

腫瘍およびその周囲組織の TIL における PDL-1, PD-1, CD4, CD8, FOXP3, MHC のタンパク発現を免疫組織化学染色にて調べる。PDL-1 陽性細胞率と TIL の特徴を検証する。

(2) NGS による体細胞変異数 (TMB) 解析

ICI の奏効率が高い癌種の特徴として、腫瘍自体に遺伝子変異が多いことが知られている。次世代シーケンサー (NGS) を用いた target sequence により Ion AmpliSeq Comprehensive cancer panel の 409 の tumor suppressor gene および oncogene を解析する。

(3) フローサイトメトリー (FACS) を用いた TIL の解析 (新鮮検体)

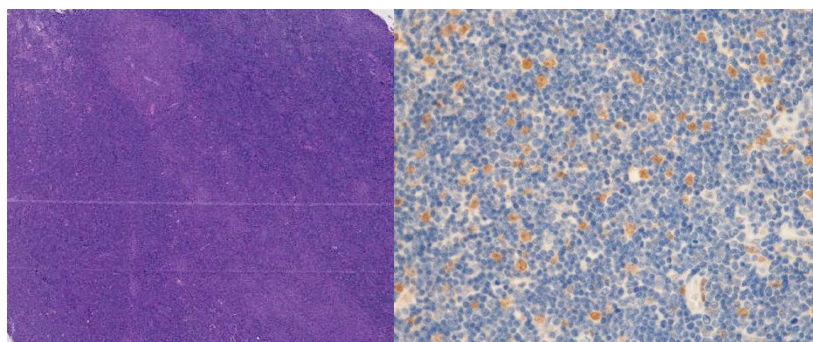
手術で切除した新鮮検体から正常胸腺、腫瘍部を別々に細断し、dissociator により細胞を単離したのち FACS により PDL-1, PD-1, CD4, CD3, CD8 などを解析する。CD4 陽性細胞 (ヘルパー T 細胞) 中の FOXP3 陽性細胞を分析したところ、多数の FOXP3 弱発現細胞 (FOXP3^{low}CD45RA⁺-CD4⁺) が浸潤しており、またそれらの細胞群はほとんど免疫抑制能を示さないことが明らかになっている。この Treg 分画 (Fr-I; FOXP3^{low}CD45RA⁺; naïve Treg, Fr-II; FOXP3^{high}CD45RA⁻; effector Treg, Fr-III; FOXP3^{low}CD45RA⁻; non-Treg) を正常胸腺、腫瘍部ごとに測定、解析し、TET の臨床病理学的因子との関わりを調べる。

4. 研究成果

(1) 免疫染色による腫瘍および浸潤リンパ球 (TIL) の定量解析

TET のサブタイプ (A, AB, B1, B2, B3, C) 各 10 例を選択し腫瘍および浸潤リンパ球 (TIL) について PDL-1, PD-1, CD4, CD8, FOXP3, MHC のタンパク発現を免疫染色により定量解析した。タイプ B1, B2, B3, C については既存リンパ球と TIL、腫瘍細胞の分離のための cytokeratin との 2 重染色を追加した。

その結果、PDL1, CD8, FOXP3 の発現強度とその比率はサブタイプごとに異なり、これが TET の悪性度、予後に関連することを見出した。



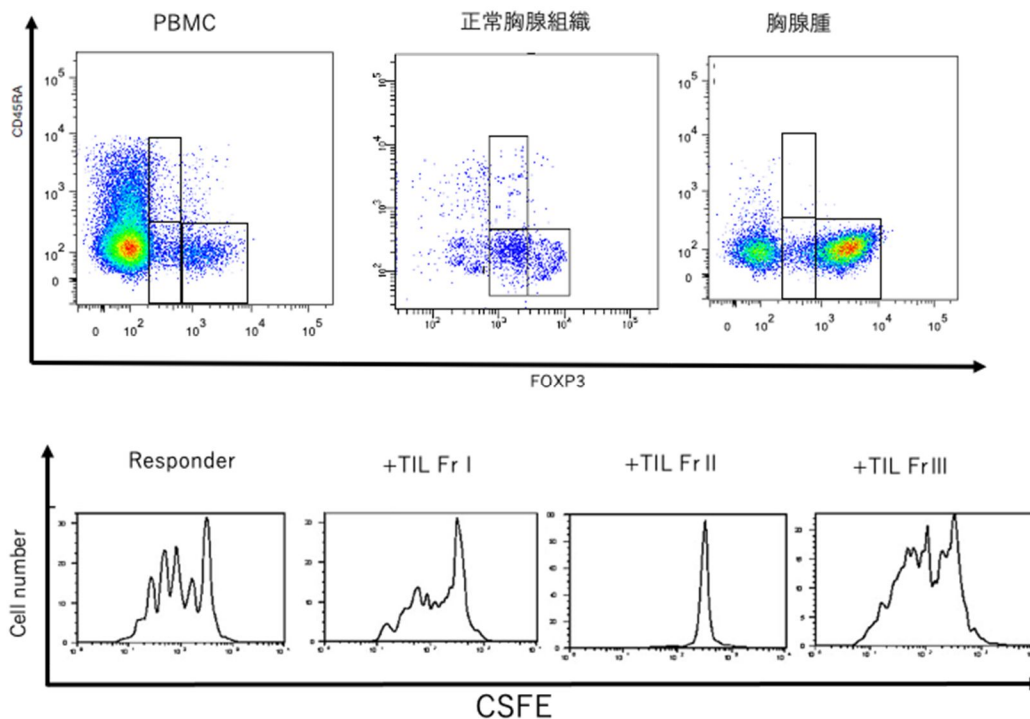
(2) NGS による体細胞変異数 (TMB) 解析

次世代シーケンサー (NGS) を用いた TMB 解析に向けて、保存しているサブタイプ (A, AB, B1, B2, B3, C) 6 例の TET 凍結検体、および正常胸腺検体により核酸抽出を行なった。現在 NGS 提出しその解析中である。

(3) フローサイトメトリー (FACS) を用いた TIL の解析

手術で切除した新鮮検体から正常胸腺、腫瘍部を別々に細断し、dissociator により細胞を単離し、計 12 症例 (A : 1 例, AB : 3 例, B1 : 3 例, B2 : 2 例, B3 : 2 例, C : 1 例、内重症筋無力症合併 3 例) のストックを採取した。FACS により PDL-1, PD-1, CD4, CD3, CD8、更には Treg 分画 (Fr-I; FOXP3^{low}CD45RA⁺; naïve Treg, Fr-II; FOXP3^{high}CD45RA⁻; effector Treg, :Fr-III; FOXP3^{low}CD45RA⁻; non-Treg) の測定、解析を順次行なっている。

Type B1 TET 症例の解析では、TET は正常胸腺に比して effector T reg (FOXP3^{high}CD45RA⁻) を多く含んでいること、そしてその分画がリンパ球増殖抑制作用を有していることを確認した。以上の結果より TET サブタイプや腫瘍内 T reg 程度により ICI 効果が異なる可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Miyata Y
2. 発表標題 VATS thymectomy: Current status
3. 学会等名 5th International Joint Meeting on Thoracic Surgery (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021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
---------	---------