

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K16408

研究課題名(和文)腫瘍免疫に注目した遺伝子発現と病理組織による粘液型脂肪肉腫の予後予測モデルの構築

研究課題名(英文)Prognostic modeling of myxoid liposarcoma by gene expression and histopathology with focus on tumor immunity.

研究代表者

鎌谷 高志(Takashi, Kamatani)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・特任助教

研究者番号：90645764

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、粘液型脂肪肉腫(ML)の腫瘍免疫を遺伝子発現と病理組織に加え全エクソンデータから解明することで、予後予測のみならず、将来のがん免疫療法の薬剤応答への評価指標として期待ができるものである。我々はMLの遺伝子発現データ、病理画像のみならず、全エクソンシーケンスデータを組み合わせ、予後と関連する特徴量の抽出を行った。本研究で培った解析手法で複数の論文を出し、また本研究により得られた知見により、招待公演に呼ばれ発表を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、本邦でもがん免疫療法が開始されたが、奏効率は低く、有効な患者を予測する解析手法の探索が進んでいる。本研究により、粘液型脂肪肉腫の腫瘍免疫を遺伝子発現、DNA変異データと病理組織から解明することで、予後予測のみならず、将来のがん免疫療法の薬剤応答への評価指標として期待ができる。また今回開発した解析手法を、その他の別種のがんにも適応することで、従来とは異なった治療奏効マーカーの発見につながると考える。

研究成果の概要(英文):This study aims to elucidate tumor immunity in myxoid liposarcoma (ML) based on gene expression, histopathology and whole exome sequencing data so as not only to predict prognosis but also the response for cancer immunotherapy drugs. We combined gene expression data, pathology images, and whole exon sequencing data of ML to extract prognostic features. I published several papers using the analysis methods developed in this study and was invited as a guest speaker to conferences.

研究分野：がん免疫

キーワード：がん免疫 脂肪肉腫 遺伝子発現

1. 研究開始当初の背景

近年、免疫チェックポイント阻害薬(以下 ICI)などの新規がん免疫療法が利用されている。しかし、がん免疫療法が有効な患者ははっきりしておらず世界中の研究者が ICI の有効性の予測因子を探索している。がん免疫療法の有効性を予測する分類手法として提唱された hot 腫瘍と cold 腫瘍分類は、免疫学的プロファイルに基づき、腫瘍を Th1 細胞, NK 細胞, CD8 細胞, Th17 細胞, 抗原提示細胞などが癌細胞への浸潤を促進する hot 腫瘍、免疫細胞が癌細胞に浸潤しない cold 腫瘍に分類する。一部の腫瘍では、hot 腫瘍は ICI に対する高い反応性を示す。一方で、粘液型脂肪肉腫 (以下 ML) は染色体転座 t(12;16) (q13;p11) による FUS-DDIT3 融合遺伝子形成を特徴とした脂肪肉腫の 1 つであり、人口 100 万人あたり約 9 例程度の発症率と非常に希少である。ML を hot 腫瘍、cold 腫瘍に分類した報告はなく、免疫学的解析な解析も少数である。

2. 研究の目的

様々な腫瘍が、遺伝子発現データから hot 腫瘍、cold 腫瘍に分類されており、病理組織画像から免疫細胞が定量化され予後との関連を調べられているが、免疫細胞の相互作用まで考慮に入れた解析は少ない。ML に関しても、その希少性がゆえ、深い免疫学的解析は行われておらず、本邦においてもペンブロリズマブが特定の条件下で全固形癌に適応となった今、ML の免疫学的解析は急務である。

本研究の目的は、ML における腫瘍免疫解析を深めるために、病理組織を用いて CD8 陽性 T 細胞を含め、複数の免疫細胞を染色し、2 種免疫細胞の相互作用も考慮に入れた免疫細胞の分布を解析する。また、免疫細胞の不均一性や密度などの病理学的特徴と RNA-seq による免疫学的プロファイル、さらには全エクソンシーケンスデータを組み合わせて、ML の免疫環境データを解明する。

3. 研究の方法

本研究は、ML における免疫細胞の数理的分布解析結果、および RNA 発現量データから推測した免疫プロファイル、さらには全エクソンシーケンスデータを用いて、予後と関連する特徴を見つける。

4. 研究成果

がん研有明病院にて切除された世界最大規模の ML の 75 検体の RNA-seq データに対し、CIBERSORT, MCP-Counter, CYT(cytolytic activity score)などのソフトウェアを用いて免疫プロファイルの定量化を行った。その結果、免疫学的に hot 群の方が明らかに免疫反応が強く、細胞障害性 T 細胞などの免疫細胞が多く浸潤していると推測された。また、がん関連の 50 の Gene set(hallmarks)に対し、single sample Gene Set Enrichment Analysis(ssGSEA)を施行したところ、炎症反応に関連する gene set (INTERFERON_ALPHA_RESPONSE, INTERFERON_GAMMA_RESPONSE, INFLAMMATORY_RESPONSE など) が hot 群において、より enrich されていることがわかり、その他のがんと同様に hot 群には多くの免疫細胞が浸潤し、免疫が活性化していると考えられた (図 1)。

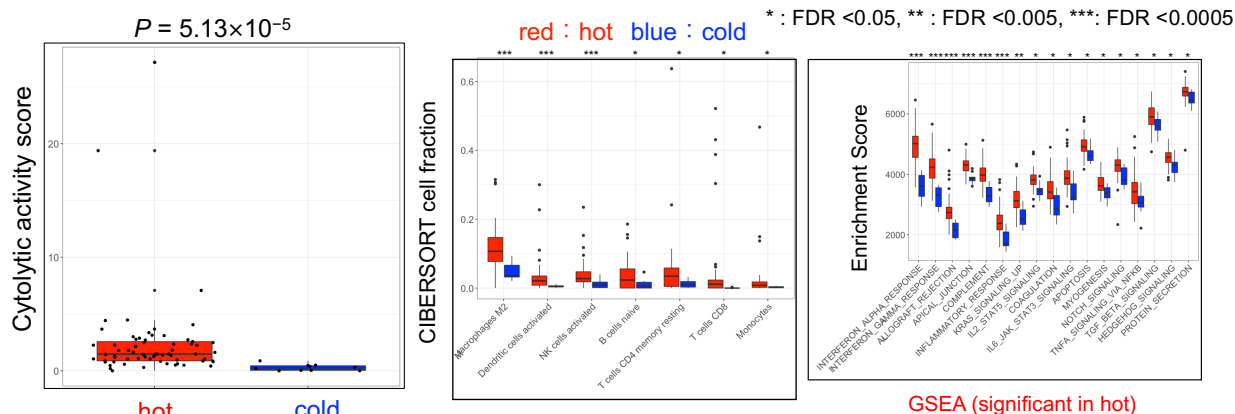
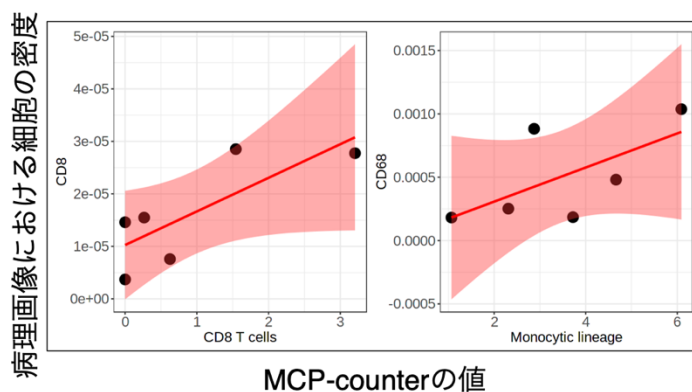


図 1

次に ML 患者の未染色スライドに対し、CD3, CD8, CD20, CD68, FOXP3, PD-1, PD-L1 の 7 種類の染色を行い、バーチャルスライドスキャナーを用いてデジタル化し、QuPath ソフトウェアにより陽性細胞を検出した。RNA-seq の免疫細胞推定量を病理画像の免疫染色を用いた密度のデータを用いて検証したところ、問題なく相関していることが示された (図 2)。



MCP-counterの値

図 2

また、各染色の密度において特に CD68 陽性細胞が他の陽性細胞と比べて非常に高密度に分布していることが分かり、ML は特にマクロファージの浸潤が特徴的ながんであるということが示された (図 3)。また、従来の一般的な病理画像における分布解析である単一の染色に対する分布や密度を調べるのみならず、複数の染色間での類似性を調べることで、免疫細胞同士の相互作用を考慮に入れた解析ができると考えた。そのためにも、免疫細胞の位置情報から、カーネル密度推定を用いて確率密度関数を推定し (図 4 a,b)、2 染色の確率密度を用いての 2 染色間の類似度を示す指標である Jensen-Shannon divergence を算出した。その結果、CD68 と PD-L1 との組み合わせで最も値が大きくなる、つまり分布の類似度が低かった (図 4 c)。

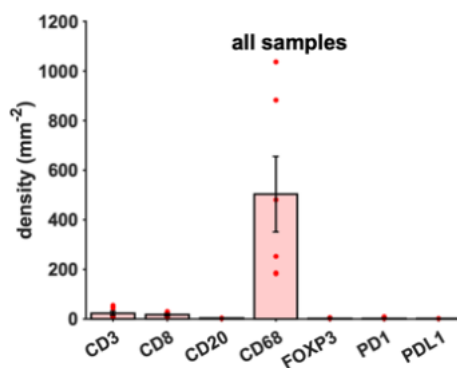


図 3

CD68 はマクロファージを反映すると考えられ、PD-L1 はマクロファージや血管内皮細胞で恒常的に発現しているが、腫瘍においては腫瘍細胞が発現し免疫逃避と関連することが知られている。CD8 と CD68 の類似度が高いこと、CD8 と PD-L1 の類似度は低いことなどから考えると、ML において腫瘍随伴マクロファージや腫瘍細胞からの PD-1/PD-L1 に関連する免疫逃避はそこまで多くはなく、マクロファージは TAM としては働いていない可能性が考えられ、一般的な固形がんとは違った免疫環境が構成されていることが考えられた。また、さらに 33 サンプルの全エクソンシーケンスデータからコピー数多形を調べたところ、非常に特徴的なコピー数異常が見られた (論文投稿前のためデータ非公開)。

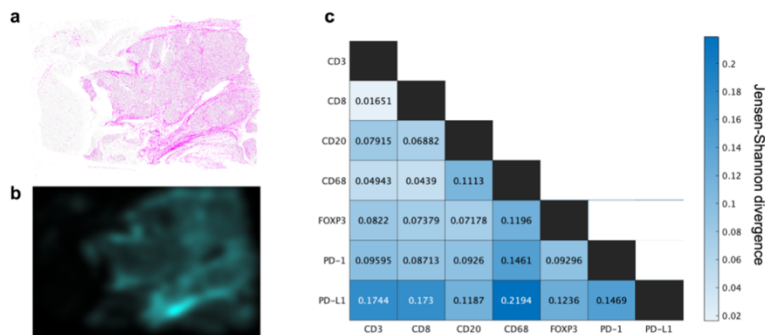


図 4

また、特に染色体全体のコピー数不安定性を fraction of genome altered (FGA) を用いて調べたところ、特に欠失における不安定性が高い群が予後が悪いことが示された。現在上記結果を論文として投稿準備中である。また、本研究で利用した複数の解析腫瘍を参考に、複数の論文を報告し、また本研究により得られた知見により、学会及び招待講演において発表を行った。

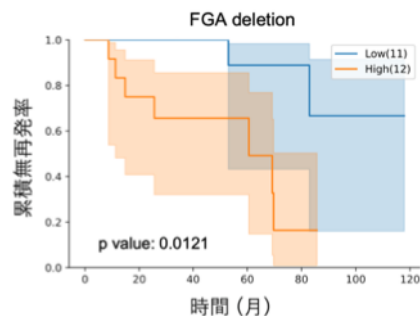


図 5

5. 主な発表論文等

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

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Hakozaki Kyohei, Tanaka Nobuyuki, Takamatsu Kimiharu, Takahashi Ryohei, Yasumizu Yota, Mikami Shuji, Shinojima Toshiaki, Kakimi Kazuhiro, Kamatani Takashi, Miya Fuyuki, Tsunoda Tatsuhiko, Aimon Eriko, Nishihara Hiroshi, Mizuno Ryuichi, Oya Mototsugu | 4. 巻 125 |
| 2. 論文標題 Landscape of prognostic signatures and immunogenomics of the AXL/GAS6 axis in renal cell carcinoma | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 British Journal of Cancer | 6. 最初と最後の頁 1533 ~ 1543 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-021-01559-8 | 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 Ishioka Kota, Kamatani Takashi, Fukunaga Koichi, et al. | 4. 巻 81 |
| 2. 論文標題 Upregulation of FGF9 in Lung Adenocarcinoma Transdifferentiation to Small Cell Lung Cancer | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Research | 6. 最初と最後の頁 3916 ~ 3929 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-4048 | 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 Nishiguchi Koji M., Miya Fuyuki, Kamatani Takashi, Ikeda Y, et al. | 4. 巻 4 |
| 2. 論文標題 A hypomorphic variant in EYS detected by genome-wide association study contributes toward retinitis pigmentosa | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Communications Biology | 6. 最初と最後の頁 140 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01662-9 | 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 Sato Yasuyoshi, Kamatani Takashi, Kakimi Kazuhiro, et al. | 4. 巻 9 |
| 2. 論文標題 Integrative immunogenomic analysis of gastric cancer dictates novel immunological classification and the functional status of tumor infiltrating cells | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Clinical & Translational Immunology | 6. 最初と最後の頁 e1194 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cti2.1194 | 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 |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 鎌谷高志 |
| 2. 発表標題 Immunological analysis of the tumor microenvironment for myxoid liposarcoma |
| 3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 鎌谷高志 |
| 2. 発表標題 生物情報科学の視点から行うがん研究 -DNA, RNA, 病理画像を用いた免疫環境解析や多領域解析を中心に- |
| 3. 学会等名 第19回関東骨軟部腫瘍の基礎を語る会（招待講演） |
| 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|