

令和 6 年 5 月 28 日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17610

研究課題名（和文）EMAST陽性胃癌に対する抗PD-1抗体による抗腫瘍免疫応答の解明

研究課題名（英文）Elucidation of anti-tumor immune response by anti-PD-1 antibody in
EMAST-positive gastric cancer

研究代表者

北嶋 貴仁（Kitajima, Takahito）

三重大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：30586772

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）：胃癌におけるEMAST発生は約30%に認め、EBVによる慢性炎症との関連は認めないことを証明した。MSI-H胃癌、EBV陽性胃癌以外にも、EMAST陽性胃癌で抗PD-1抗体の治療効果が高い症例を認めた。MSS胃癌と比較して4-1BB発現による予後との相関が異なることから、EMAST陽性胃癌ではMSS胃癌とは異なる免疫応答が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

EMAST陽性胃癌に関して治療効果ならびに治療効果予測に関して基礎的、臨床的検討を行うことで胃癌患者における抗PD-1抗体の免疫療法の新たな治療対象の可能性について検討し、EBVや4-1BBの炎症・免疫応答とは異なる関与の可能性を証明した。今後は更なる免疫応答との関連を検討するとともに、抗PD-1抗体の治療効果との相関を検証することで、EMAST発現と癌組織免疫応答の機序解明を進めていく予定であり、本研究成果はその試金石となりうる役割を果たしていると考えられる。

研究成果の概要（英文）：EMAST occurs in approximately 30% of gastric cancers, and it has been demonstrated that there is no association with chronic inflammation induced by EBV. In addition to MSI-H and EBV-positive gastric cancers, cases of EMAST-positive gastric cancer also demonstrated a high therapeutic efficacy of anti-PD-1 antibodies. Compared to MSS gastric cancer, the correlation between prognosis and 4-1BB expression differs, suggesting that a distinct immune response may contribute to EMAST-positive gastric cancer.

研究分野：消化器癌

キーワード：胃癌 EMAST

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本邦における胃癌患者数はヘリコバクターピロリ菌の除菌治療の普及により近年減少傾向にあるものの、現在もなお罹患数、死因臓器別分類でも男女ともに上位を占めている。胃癌の5年生存率は化学療法の進歩などにより、治癒切除例では70%で治癒が期待できるようになったが、Stage III胃癌では45%、Stage IV胃癌では12%の5年生存率であり、依然として治癒を望むことは難しい現状である。現在、胃癌治療の基本となる外科療法・化学療法・分子標的薬に加え、近年「第四のがん治療」として免疫療法が注目されている。

PD-1 (programmed cell death -1/CD279)は主に活性化したリンパ球の細胞膜表面上に発現するレセプターで、リンパ球の活性化を抑制する免疫チェックポイント分子の一つである。PD-1はそのリガンドであるPD-L1 (programmed cell death-1 ligand-1)とともにPD-1/PD-L1経路を形成しており、腫瘍に発現したPD-L1からT細胞上のPD-1にシグナルが送られると、T細胞の活性化が抑えられ、腫瘍免疫の応答が抑制される。そのため、PD-1/PD-L1経路を遮断することによって腫瘍免疫応答を再活性化させることが期待され、癌治療の新規治療として注目されている。最近、完全ヒト型IgG4モノクローナル抗体である抗PD-1抗体(Nivolumab)は悪性黒色腫、肺扁平上皮癌、胃癌に対して薬事承認され、2018年にはMSI-Hを伴う悪性腫瘍に対して抗PD-1抗体(Pembrolizumab)が薬事承認された。

MSI(microsatellite)とは異なるスペクトラムを示すEMASTがDNAのミスマッチ修復異常であるMSH3の欠失のバイオマーカーであることも報告されており、EMAST大腸癌では、MSI-H大腸癌と同様に癌細胞周囲への細胞障害性T細胞(CD8陽性細胞)の浸潤を認めることが報告されている。抗PD-1抗体が奏功すると報告されているEpstein-Barr virus(EBV)陽性胃癌ではリンパ球浸潤が多いと報告されており、EMAST陽性胃癌では抗PD-1抗体の治療対象群になりえる可能性が推測される。

2. 研究の目的

MSI-H胃癌は体細胞変異が多く、免疫原性が高いことから、腫瘍内への免疫細胞浸潤が多くなり、PD-1/PD-L1経路阻害薬が有望であることが考えられている。GubinらによるIn vivoの研究で、遺伝子変異癌抗原特異的T細胞の存在と免疫チェックポイント阻害剤により同細胞の再活性化が示されている(Nature. 2014; Gubin M et al.)。Leらによると、胃癌を含むミスマッチ修復(MMR)遺伝子欠損非大腸癌の抗PD-1抗体の奏効率、疾患制御率は、MMR遺伝子非大腸癌に比べてともに高いことが示されている(N Engl J Med. 2015; Lee DT et al.)。しかし、MSI-H胃癌は全体の約22%であり、治療対象となりえる2次治療対象群になると約5%程度であることが問題である(Nature. 2014; Bass AJ et al., Lancet. 2018; Shitara K et al.)。

一方、EMAST陽性大腸癌では癌細胞周囲への細胞障害性T細胞(CD8陽性細胞)の浸潤することを報告しており(Dig Dis Sci 2012; Lee SY et al.)、EBV陽性胃癌ではリンパ球浸潤が多く、抗PD-1抗体での高い奏効率を認めることが報告された(Nat Med. 2018; Kim ST et al.)。これらの報告からEMAST陽性胃癌が大腸癌同様に癌細胞周囲への細胞障害性T細胞(CD8陽性細胞)の浸潤し、PD-1/PD-L1経路阻害薬の治療対象になりえる可能性が示唆される。

本研究の目的はEMAST陽性胃癌に関して治療効果ならびに治療効果予測に関して基礎的、臨床的検討を行うことである。当科で手術を施行した胃癌組織を用い、癌部のEMAST発現と癌組織免疫応答との関連を検証する。現在、胃癌に導入された抗PD-1抗体の免疫療法の新たな治療対象の可能性ならびにその効果予測を判定する指標を提示できる可能性があると考えている。

3. 研究の方法

(1)原発胃癌組織におけるEMAST, EBV/MSI statusの検討

胃癌切除症例90例を対象に、FFPE切片癌部からマイクロダイセクションを行い、DNAを抽出する。BNRF1 primer, 8個のマイクロサテライトマーカー、4塩基リピートのマイクロサテライトマーカーをMultiplex PCRで評価し、EBV, MSI, EMASTを判定する。

(2)EMAST, MSI statusと4-1BBの検討

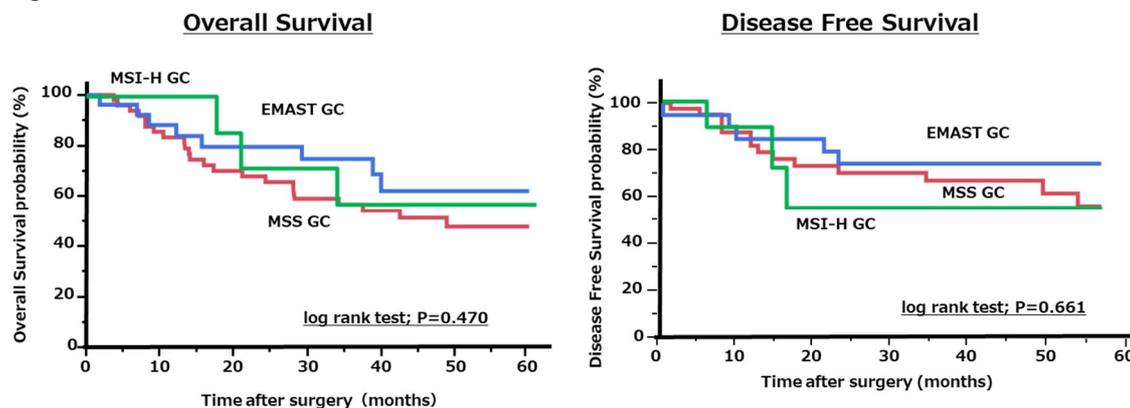
RNA later sampleを使用し、胃癌組織からTotal RNAの抽出を行い、リアルタイムRT-PCR法で胃癌組織における4-1BB mRNA発現を測定し、EMAST, MSI status関連を検討した。

4. 研究成果

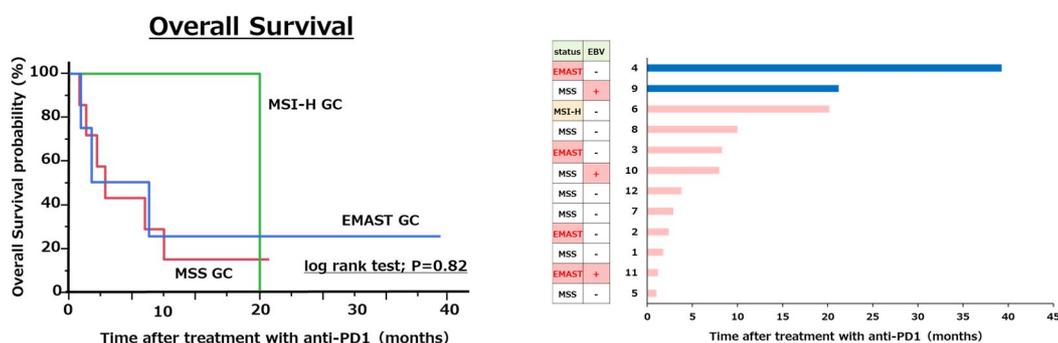
(1)8個のマイクロサテライトマーカーと6個の4塩基リピートのマイクロサテライトマーカーの合計14個のマーカーをMultiplex PCRでMSS, MSI-H, EMASTに分類した。胃癌患者90例中、28例でEMAST陽性(30.1%)を認めた。EBV陽性胃癌は30例(33.3%)で認めたが、EBV陽性とEMAST陽性には明らかな相関を認めなかった($p=0.306$)。以上の結果から、EMAST発生にはEBVに起因する炎症が関与していない可能性が示唆された。

(2)胃癌患者におけるMSI, EMAST statusと予後との関連を検討した結果、MSS胃癌、MSI-H

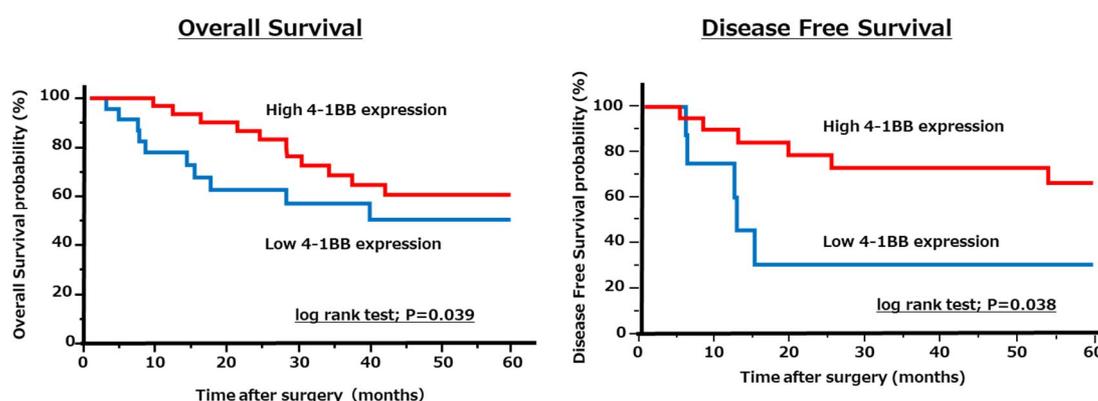
胃癌、EMAST 陽性胃癌において予後には有意な関連を認めなかった(OS; $p=0.47$, DFS; $p=0.66$, Log-rank test)。



(3)抗 PD-1 抗体を投与した胃癌患者 12 例について、胃癌患者における MSI, EMAST status と抗 PD-1 抗体の治療効果との関連を検討したが、予後には有意な関連を認めなかった(OS; $p=0.82$, Log-rank test)。一方で、MSS 胃癌・EBV 陽性胃癌以外に、EMAST 陽性胃癌で抗 PD-1 抗体が著効した症例を認めた。



(4)MSS 胃癌, EMAST 陽性胃癌における 4-1BB 発現と予後との検討では、MSS 胃癌においては 4-1BB 低発現群が有意に予後不良であったが(OS; $p=0.039$, DFS; $p=0.038$, Log-rank test)、EMAST 陽性胃癌では明らかな相関は認めず、MSS 胃癌と EMAST 陽性胃癌では異なる免疫応答が関与している可能性が示唆された。



成果のまとめ

低酸素下での EMAST 陽性胃癌細胞株の作成には難渋したが、胃癌組織における EMAST, MSI Status の解析を行い、EBV や 4-1BB といった炎症・免疫応答との関連を検証できた。今回、検証できた炎症・免疫応答との関連を基に、今後更なる免疫応答との関連を検討するとともに、抗 PD-1 抗体の治療効果との相関を検証することで、EMAST 発現と癌組織免疫応答の機序解明を進めていくため、今後も研究を継続していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北嶋貴仁、大井正貴、諸戸紗依、山本晃、今岡裕基、志村匡信、川村幹雄、森本雄貴、奥川喜永、大北喜基、横江毅、問山裕二
2. 発表標題 抗PD-1抗体治療を施行した胃癌患者におけるMSI,EMAST, EBV statusと治療効果との検討
3. 学会等名 JDDW2022 第20回日本消化器外科学会大会、福岡
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北嶋貴仁、今岡裕基、志村匡信、奥川喜永、横江毅、問山裕二
2. 発表標題 胃癌患者におけるMSI,EMAST,EBV statusと抗PD-1抗体治療効果の関連
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会、横浜
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 北嶋貴仁、市川崇、今岡裕基、安田裕美、藤川裕之、奥川喜永、横江毅、問山裕二、大井正貴、楠正人
2. 発表標題 胃癌におけるEMAST,MSIの臨床病理学的検討
3. 学会等名 第75回日本消化器外科学会総会、和歌山
4. 発表年 2020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
---------	---------