

令和 4 年 5 月 30 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17772

研究課題名（和文）肺原発浸潤性粘液腺癌の免疫学的微小環境の解析とネオアンチゲン探索

研究課題名（英文）Immunologic microenvironment and neoantigen in resected lung primary invasive mucinous adenocarcinoma

研究代表者

仲西 慶太（Nakanishi, Keita）

名古屋大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：80868290

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,700,000円

研究成果の概要（和文）：112例を対象に解析を行い、うちinvasive mucinous adenocarcinomaが7例であった。Invasive mucinous群はnon-mucinous群と比較して、有意にsingle nucleotide variantが少なく、PD-L1 TPSスコアが低かった。腫瘍組織の浸潤CD8陽性リンパ球および、CD8陽性/CD39陽性/CD103陽性リンパ球が有意に少ない。さらにFoxP3、ICOS、LAG3、TIGIT、CTLA4などの分子発現が優位で免疫抑制環境が優位となっていることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Invasive mucinous adenocarcinomaはより免疫抑制的環境にあり、抗腫瘍免疫が働きにくい分子発現プロファイルが認められたことから、これを解除して抗腫瘍T-cellがより働く環境を作り出すことが治療につながる可能性が示唆された。Invasive mucinous adenocarcinomaに特異的なNeoantigenについては現在解析中であるものの、Invasive mucinous adenocarcinomaに対する免疫治療戦略を構築するうえで重要な基礎データが得られたと考えられる。今後、論文発表を通じて社会的な還元を目指していくつもりである。

研究成果の概要（英文）：During the study period, we analyzed 112 patients with lung adenocarcinoma, 7 patients with invasive mucinous adenocarcinoma among them. Invasive mucinous group showed lower single nucleotide variant and PD-L1 expression, also lower CD8 positive T-cells as well as CD8/CD39/CD103 triple positive T-cells in tumor tissue. In addition, it was shown that expression level of FoxP3, ICOS, LAG3, TIGIT, and CTLA4 were lower comparing to non-mucinous group.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：腫瘍免疫 肺腺癌 浸潤性粘液腺癌

1. 研究開始当初の背景

(1) 原発性肺癌は本邦のがん種別の年齢調整死亡率が最も高く、うち約 8 割を非小細胞肺癌が占める。近年、非小細胞肺癌のうちの大多数である肺腺癌の治療においては EGFR 遺伝子変異などのドライバー遺伝子変異に対する分子標的治療薬や免疫チェックポイント阻害剤の登場によって、これらの適応となる症例では予後の改善が認められている。肺腺癌のうち浸潤性粘液腺癌は数%程度と比較的稀な組織亜型である。他の組織亜型と異なり、遠隔転移は少ないが経気道的な肺転移が高頻度で起こるため肉眼的完全切除後も再発率が高く、放射線や殺細胞性抗癌剤による化学療法はほぼ無効であるという際立った特徴がある。また、K-ras 遺伝子変異の頻度が比較的高いものの、これを標的とする有効な薬剤は開発されていない。

(2) 近年、非小細胞肺癌に対する有意な予後延長効果が報告された免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) の単剤での奏効率は 20% と高くないものの、(Borghaei H, et al. N Engl J Med. (2015), Reck M, et al. N Engl J Med. (2016)) 完全奏功を含む病勢コントロールを長期にわたって得られる症例が存在することが特徴的な点である。また、殺細胞性抗癌剤との併用療法による奏効率は 40% 程度とされ、一定の割合で起こる早期の病勢進行や早期死亡を減らすことができる (Gandhi L, et al. N Engl J Med 2018; Reck M, et al. Lancet Respir Med 2019) が、浸潤性粘液腺癌に絞った解析はなされていない。浸潤性粘液腺癌の後方視的な解析では、腫瘍細胞における PD-L1 発現が比較的低いことが報告されている (Zhang C, et al. J Thorac Oncol 2019) ことから、ICI の効果が低いことが予想される。再発例や転移例では治療選択肢がほとんどないのが現状であり、殺細胞性抗癌剤や放射線治療とは異なる治療法が求められている。

(3) ICI の効果は免疫逃避機構の解除に起因しているが、類似の機序による PD-1 抗体と CTLA-4 抗体の併用療法と殺細胞性抗癌剤の比較試験では有効性を示すことができたものの、二剤併用の効果は予想より相当程度に低かったこと (Hellmann MD, et al. N Engl J Med 2019) から、ICI の有効性を増す併用薬剤には異なった機序が望ましいと考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、新たな治療戦略として相応しい免疫チェックポイント阻害剤とがんワクチン療法の併用を視野に入れて、前向きに集積した症例における浸潤性粘液腺癌の免疫学的微小環境の解析とネオアンチゲンを探索することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究では、愛知県がんセンター病院で外科的切除された浸潤性粘液腺癌症例を対象とし前向きに症例を集積した。500mg 以上の手術検体が採取された症例を対象とし、浸潤性粘液腺癌以外の原発性肺癌と臨床病理学的特徴および免疫学的微小環境について比較検討した。

4. 研究成果

愛知県がんセンターにおける症例集積では当該研究期間で完全切除を受けた原発性肺腺癌症例のうち mRNA シーケンスや FACS などの免疫学的解析を行えた症例は 112 例であった。そのうち invasive mucinous adenocarcinoma が 7 例であった。また、TCGA コホートでは原発性肺腺癌のうち adenocarcinoma subtype が判明している 186 例（うち invasive mucinous adenocarcinoma は 9 例）を external validation cohort として用いることとした。

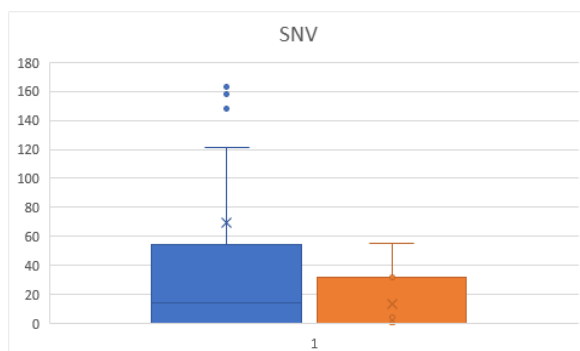
臨床病理学的因子との相関を解析すると invasive mucinous adenocarcinoma 群は non-mucinous 群と比較して、有意に組織学的グレードが低く、single nucleotide variant が少なく、EGFR 遺伝子変異が多く、PD-L1 の TPS スコアが低いということがわかった。（下図参照）

結果

Characteristic	others, N = 105 ¹	mucinous, N = 7 ¹	p-value ²
Age	70 (62, 74)	70 (66, 75)	0.582
Sex			0.451
female	43 (41%)	4 (57%)	
male	62 (59%)	3 (43%)	
BI	400 (0, 900)	420 (175, 970)	0.243
Histological grade			0.028
1	7 (6.7%)	3 (43%)	
2	59 (56%)	3 (43%)	
3	34 (32%)	1 (14%)	
Invasive tumor size	20 (14, 28)	21 (16, 34)	0.507
T factor			0.083
1	51 (49%)	4 (57%)	
2	46 (44%)	1 (14%)	
3	6 (5.7%)	1 (14%)	
4	2 (1.9%)	1 (14%)	
N factor			0.252
0	77 (73%)	4 (57%)	
1	7 (6.7%)	0 (0.0%)	
2	12 (11%)	1 (14%)	
X	9 (8.6%)	2 (29%)	
M factor			>0.999
0	103 (98%)	7 (100%)	
1	2 (1.9%)	0 (0.0%)	
Pathological Stage			0.371
1	75 (71%)	4 (57%)	
2	16 (15%)	1 (14%)	
3	12 (11%)	2 (29%)	
4	2 (1.9%)	0 (0.0%)	
SNV(Single Nucleotide Variant)	48 (19, 120)	32 (4, 55)	0.030
Unknown	45	4	
mut_EGFR			0.008
EGFR	12 (11%)	4 (15%)	
WT	93 (89%)	3 (85%)	
mut_KRAS			0.053
KRAS	4 (3.9%)	0 (0.0%)	
WT	101 (96%)	7 (100%)	
mut_TP53			>0.999
TP53	18 (30%)	1 (33%)	
WT	42 (70%)	2 (67%)	
Unknown	45	4	
PDL1_TPS	2 (0.0, 20)	0 (0.0, 3.8)	<0.001

¹Median (IQR); n (%)

²Wilcoxon rank sum test; Pearson's Chi-squared test; Fisher's exact test; Wilcoxon rank sum exact test



SNV の数だけでなく、腫瘍組織の FACS における CD8 陽性リンパ球および、より腫瘍特異

的な性格の CD8 陽性/CD39 陽性/CD103 陽性リンパ球が non-mucinous 群に比較して Invasive mucinous 群では有意に少ないことが判明した。

以上から、invasive mucinous adenocarcinoma では免疫微小環境がやや pro-tumor であることがわかった。

同様に免疫抑制環境についての解析では FoxP3、ICOS、LAG3、TIGIT、CTLA4 などの分子発現が優位で免疫抑制環境が優位となっていることがわかった。予後については今後のフォローアップが必要であるが、この結果をもって論文作成中である。

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