

令和 5 年 5 月 23 日現在

機関番号：13301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18026

研究課題名（和文）脊椎転移に対する腫瘍塞栓の癌免疫増強効果の解明 癌免疫療法と脊椎手術の融合

研究課題名（英文）Systemic antitumor immune response following preoperative tumor embolization for the patients with spinal metastasis

研究代表者

米澤 則隆（Noritaka, Yonezawa）

金沢大学・医学系・協力研究員

研究者番号：10749154

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究結果により、液体窒素処理骨移植による凍結免疫のほかに、脊椎腫瘍手術の術前に行う脊椎腫瘍塞栓術による腫瘍壊死効果、壊死による癌免疫上昇効果が明らかとなった。具体的には、癌特異的免疫上昇効果が得られるタイミングは術後1週間から1か月をピークに徐々に漸減していくことが明らかとなった。術前腫瘍塞栓術による腫瘍壊死効果による癌免疫増強効果を確認できた一方で、その効果は限定的であることが明らかとなった。術前塞栓術による免疫上昇効果の経時的傾向をさらに検証することで、抗PD1抗体等の効果的なアジュバント投与方法が確立される可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、脊椎腫瘍手術における術前腫瘍塞栓術の有効性が、手術時の出血のリスクを抑えること以外に、周術期における癌免疫を増強させる効果の2つの意義があることが明らかとなった。今後癌免疫療法の発展にともない、液体窒素処理骨移植と脊椎腫瘍塞栓術の組み合わせは、脊椎転移の根治的治療として、治療の選択肢として有効な選択肢の一つとして有効であると考えられる。免疫チェックポイント阻害薬等のアジュバント物質を適切な方法で追加投与することでがん免疫賦活化の相乗効果が得られ、局所治療に加え全身の遠隔転移巣の治療へと繋がる戦略が重要であると考えられた。

研究成果の概要（英文）：The results of this study revealed that in addition to cryoimmunity from liquid nitrogen-treated bone grafts, tumor necrosis effect from spinal tumor embolization, which is performed before spinal tumor surgery, and cancer immunosenescence effect from necrosis were found. Specifically, the timing of the cancer-specific immunosenescence effect peaked at 1 week to 1 month postoperatively and gradually tapered off. While the tumor necrosis effect of preoperative tumor embolization was found to enhance cancer immunity, the effect was found to be limited. Further validation of the temporal trend of the immune-enhancing effect of preoperative embolization may establish an effective method of adjuvant administration, such as anti-PD1 antibody.

Translated with www.DeepL.com/Translator (free version)

研究分野：脊椎外科

キーワード：転移性脊椎腫瘍 脊椎転移 腫瘍脊椎骨全摘術 凍結治療 凍結免疫 腫瘍塞栓術 Abscopal効果

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

これまで、転移性脊椎腫瘍に対する腫瘍塞栓術の癌特異的免疫学的上昇効果を検証した報告はない。当教室では転移性脊椎腫瘍に対する腫瘍塞栓術を併用した根治的切除術を多数実施してきたが、腫瘍塞栓術を併用することで術後全身治療を行っていないにもかかわらず、他の転移巣が縮小した症例が散見され、腫瘍塞栓による癌特異的な免疫上昇効果が得られた可能性があることを報告してきた。腫瘍塞栓術を併用した転移性脊椎腫瘍手術の癌免疫上昇効果を科学的に立証するために、患者採血検体および切除した腫瘍検体を用いて、各治療のポイント（初診時、塞栓術後、手術後1か月、3か月）で免疫モニタリングを行い、癌特異的免疫上昇効果を立証する。

#### はじめに



2人に1人  
**がん**

Bray F, CA Cancer J Clin, 2018



担がん患者の30%  
**脊椎転移**

Wong DA, Spine, 1990



ADL↓QOL↓  
脊椎転移の20%  
**脊髄麻痺**

Kobayashi VR, NACL Med Rev Cent East Eur, 2013

Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

#### はじめに

**術前塞栓療法**

転移性脊椎腫瘍に対する手術は、著しい出血を伴うことがある Chen Y, et al. Bone Joint J 2013

**術前塞栓術**は脊椎腫瘍手術の**術中出血量**を有意に減少させる Oleud C, et al. Acta Orthop Scand 1992

▼

Total en bloc spondylectomy (TES) を含む  
脊椎腫瘍手術前に腫瘍栄養血管の塞栓術を施行

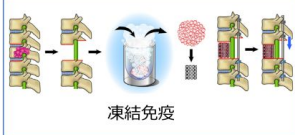


Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

#### はじめに

**研究背景**

- ▶ 液体窒素処理自家骨移植 → 凍結免疫の可能性 Murakami, Spine Journal, 2014
- ▶ 術前腫瘍栄養血管塞栓術 → Abscopal効果の可能性



凍結免疫

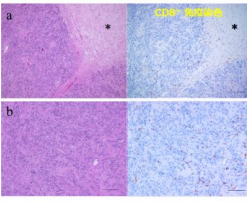


塞栓免疫

Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

#### はじめに

**研究背景**



a



b



Resected lung metastasis (Case 4)  
(hematoxylin and eosin staining)

**腫瘍に対する免疫活性化の可能性**

Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、転移性脊椎腫瘍に対する術前腫瘍塞栓術の癌特異的免疫増強効果を科学的に立証することである。塞栓術の癌特異的免疫上昇効果が明らかとなれば、今後の脊椎転移に対する治療戦略の一つとして、現在低侵襲である腫瘍塞栓術が広く普及し、これまで主に手術もしくは放射線治療しか存在しなかった脊椎転移の治療戦略が革新され、また癌免疫療法との併用による相乗効果が期待できると考える。またサブ解析を行い、手術方法の違い（根治的腫瘍切除、姑息的除圧固定術など）による免疫上昇効果の違いや、以下の因子（癌種による違い、腫瘍血流量、腫瘍塞栓術の効果、残存血流の有無、腫瘍の局所再発の有無、転移出現・増大の有無、予後など）と免疫上昇効果の関連を調査し、がん特異的免疫増強効果がどのような症例でより得られやすいかを検討する。

### 3. 研究の方法

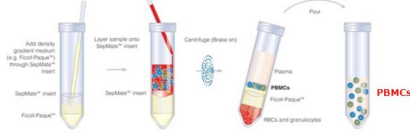
2019年4月～2021年8月に術前塞栓術を施行した脊椎転移手術13例を対象にした。いずれも液体窒素処理自家骨移植は併用していない。これらの転移性脊椎腫瘍患者を対象に、初診時、塞栓術後、脊椎手術後1週間、1ヶ月、3ヶ月に採血を行い、末梢血を30ml採取した。末梢血全血より、リンパ球分離溶液（Lymphoprep™）を用いて末梢血単核球（PBMC）を分離し、凍結保存した。また術中に採取した腫瘍をCollagenase処置して、腫瘍細胞を分離し培養し保存した。これらを用いて以下の免疫学的評価を行った。原発巣は腎細胞癌4例、甲状腺癌1例、肺癌2例、乳癌2例、肝細胞癌1例、平滑筋肉腫1例、悪性神経線維腫1例、原発不明1例であった。

IFN-gamma ELISOT assayを行い、免疫モニタリングを行う。一定の濃度の患者PBMC（ $1.0 \times 10^7$  cells/ml）に、抗原刺激として術中採取し培養した癌細胞を投与（ $2.0 \times 10^6$  cells/ml）して24時間共培養を行った。共培養後にPBMCより放出されるIFN-gammaがスポットとして描出され、そのスポット数を測定することでがん特異的免疫増強効果を評価した。また抗原刺激として腫瘍組織のlysateも用いて同様に行う。Spot数の測定はエムエステクノシステムズELISPOTキットスキャンサービスを用いて行った。

研究はH28年1月に金沢大学医学倫理委員会により臨床研究（「転移性脊椎腫瘍患者に対する手術前後の免疫モニタリング」）として承認されている。

評価方法

- ・ 規定のタイムポイントで患者から採血
- ・ 末梢血単核細胞 (PBMC: Peripheral Blood Mononuclear Cell) を分離・保存



Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

PBMC (末梢血単核細胞) 採取のタイムポイント



Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

実験方法

ELISPOT assay

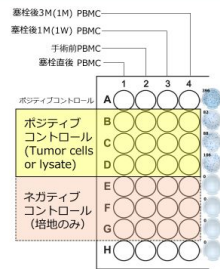
腫瘍抗原に特異的に反応した末梢血中の PBMC の数を定量化

SPOT数が多いほど腫瘍特異的免疫が強い

SPOT数 → 88



Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University



4. 研究成果

IFN- $\gamma$ -ELISPOT assay を行った結果、塞栓術後 1 週間から 1 か月をピークに Spot 数の増加がみられ、癌免疫上昇効果が確認できた。一方で効果は 3 か月にはピークアウトしている結果となった。今回の症例全体では、塞栓術前に比較し Spot 数が増加した症例は実に 77% にのぼった。これにより術前塞栓術による Abscopal 効果が示唆されたと考えられた。これまでの報告から局所療法によるがん免疫応答のピークは術後 2-4 週と較的早期に訪れるとする報告があった。

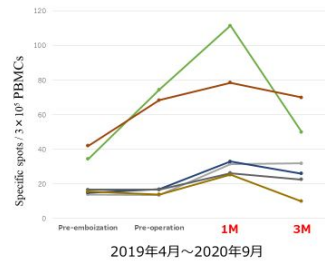
実際に、タイムポイント変更後の 3 例のうち 2 例が術後 1 週でピークアウトしていたことから、Abscopal 効果のピークは当初の想定より早期に訪れる可能性が示唆された。

近年の報告では、局所療法単独では十分な抗腫瘍効果を得ることが難しいという考え方が主流となっている。そのため、抗 PD1 抗体等のアジュバントを併用し治療効果を高める方法が提唱されている。抗 PD-1 抗体等のアジュバントを併用することで Abscopal 効果の発現率が 2,3 割上昇するという報告もある。しかし、アジュバント投与のプロトコルはまだ確立されていない。今後、塞栓術による免疫上昇効果の経時的傾向の検証を深めることで、アジュバント投与のプロトコルが確立される可能性がある。

この研究の臨床的意義をまとめると次の通りである。SRE 予防としての手術介入において術中出血予防として術前塞栓術を施行しているが、これにより副次的に Abscopal 効果が付加されるとするならば、免疫チェックポイント阻害薬等のアジュバント物質を適切な方法で追加投与することでがん免疫賦活化の相乗効果が得られ、局所治療に加え全身の遠隔転移巣の治療へと繋がる戦略が重要あることが明らかとなった。

以下が結論ある。転移性脊椎腫瘍術前塞栓術によるがん特異的免疫上昇効果が示唆された。術前塞栓術による免疫上昇効果の経時的傾向をさらに検証することで、効果的なアジュバント投与の方法が確立される可能性がある。

結果



Spot数が増加した症例 7 / 10 例 (70%)

そのうち、術後1か月でピークアウト 6 / 7 例 (86%)

Orthopaedic Surgery, Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Noritaka Yonezawa, Hideki Murakami, Satoru Demura, Satoshi Kato, Shinji Miwa, Katsuhito Yoshioka, Kazuya Shinmura, Noriaki Yokogawa, Takaki Shimizu, Norihiro Oku, Ryo Kitagawa, Makoto Handa, Ryohei Annen, Yuki Kurokawa, Kazumi Fushimi, Eishiro Mizukoshi, Hiroyuki Tsuchiya	4. 巻 22
2. 論文標題 Abscopal Effect of Frozen Autograft Reconstruction Combined with an Immune Checkpoint Inhibitor Analyzed Using a Metastatic Bone Tumor Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 international journal of molecular sciences	6. 最初と最後の頁 1-15
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22041973	査読の有無 無
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6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 安念遼平、加藤仁志、出村諭、新村和也、横川文彬、米澤則隆、半田真人、小林源哉、山田遥平、長谷賢、土屋弘行
2. 発表標題 転移性骨腫瘍に対する局所凍結療法のがん特異的免疫増強効果
3. 学会等名 第94回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 安念遼平、加藤仁志、出村諭、新村和也、横川文彬、米澤則隆、半田真人、小林源哉、山田遥平、土屋弘行
2. 発表標題 転移性骨腫瘍に対する局所凍結療法のがん特異的免疫増強効果
3. 学会等名 第36回日本整形外科学会基礎学術集会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 米澤 則隆, 出村 諭, 加藤 仁志, 新村 和也, 横川 文彬, 清水 貴樹, 奥 規博, 北川 亮, 半田 真人, 安念 遼平, 村 上 英樹, 土屋 弘行
2. 発表標題 転移性脊椎腫瘍に対する術前腫瘍塞栓が癌免疫におよぼす影響
3. 学会等名 第93回日本整形外科学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米澤 則隆, 出村 諭, 加藤 仁志, 新村 和也, 横川 文彬, 清水 貴樹, 奥 規博, 北川 亮, 半田 真人, 安念 遼平, 村 上 英樹, 土屋 弘行
2. 発表標題 脊椎転移に対する術前腫瘍塞栓が癌免疫におよぼす影響
3. 学会等名 第49回日本脊椎脊髄病学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米澤 則隆, 出村 諭, 加藤 仁志, 新村 和也, 横川 文彬, 清水 貴樹, 奥 規博, 北川 亮, 半田 真人, 安念 遼平, 村 上 英樹, 土屋 弘行
2. 発表標題 転移性脊椎腫瘍に対する術前腫瘍塞栓術の腫瘍壊死効果と癌免疫増強効果の検討
3. 学会等名 第53回日本整形外科学会 骨・軟部腫瘍学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 安念遼平、加藤仁志、出村諭、横川文彬、米澤則隆、小林源哉、山田遥平、長谷賢、河合雅文、有藤賢明、土屋弘行
2. 発表標題 転移性脊椎腫瘍に対する 術前腫瘍塞栓術のがん特異的免疫増強効果
3. 学会等名 第52回日本脊椎脊髄病学会学術集会
4. 発表年 2023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
---------	---------