

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08752

研究課題名（和文）切除可能進行胃癌患者に対する術前化学療法における免疫活性バイオマーカーの開発

研究課題名（英文）Development of immune activation biomarkers for preoperative chemotherapy in patients with resectable advanced gastric cancer

研究代表者

松田 佳子（Matsuda, Yoshiko）

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：50457082

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、胃癌に対する術前化学療法（NAC）が免疫微小環境（TIME）に与える影響について明確な成果は得られなかったが、局所進行胃癌や食道胃接合部腺癌を有する脆弱な高齢患者に対してNACは実現可能であり、高いダウンスレーシング率とより良好な生存率が得られることが示された。また、組織学的腫瘍反応と好中球/リンパ球比（NLR）がNAC後の患者の予後因子となる可能性が示唆された。今後は、TIMEへの影響評価における研究デザインの見直しとともに、高齢者や脆弱な患者に対するNACの治療選択肢としての位置づけや、組織学的腫瘍反応とNLRを用いた治療決定・予後予測への活用が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、高齢者や脆弱な患者を含む進行胃癌患者に対するNACの有効性と安全性を示し、治療選択肢の拡大に貢献する点で臨床的意義が大きい。また、組織学的腫瘍反応とNLRがNAC後の予後因子となる可能性を示したことは、治療効果の予測や個別化治療の実現に向けた重要な知見である。一方、NACがTIMEに与える影響については明確な結論が得られておらず、その機序の解明は今後の課題であるが、本研究で得られた知見は、がん免疫療法との併用を含めた新たな治療戦略の開発に向けた基盤となることが期待される。これらの成果は、高齢化社会におけるがん医療の質の向上と、がん患者のQOL向上に寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：This study did not yield clear results on the impact of neoadjuvant chemotherapy (NAC) on the immune microenvironment (TIME) in gastric cancer. However, it demonstrated that NAC is feasible for vulnerable elderly patients with locally advanced gastric cancer or esophagogastric junction cancer, resulting in high downstaging rates and improved survival. The study also suggested that histological tumor response and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) could be potential prognostic factors for patients after NAC. Future research should focus on refining study designs to evaluate TIME effects, while considering NAC as a treatment option for elderly and vulnerable patients and utilizing histological tumor response and NLR for treatment decision-making and prognosis prediction.

研究分野：消化器外科

キーワード：胃癌 術前化学療法 腫瘍免疫微小環境 NLR 組織イメージサイトメトリー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究の目的は、化学療法によって誘導される進行胃癌組織内の免疫活性の変化を評価し、有用なバイオマーカーを同定することだ。具体的には、術前治療を受けた進行胃癌患者の生検および手術で得られた組織サンプルを用いて、腫瘍内微小環境 (TIME) における免疫活性を評価する。そして、免疫原性細胞死 (ICD) によって変動する特異的免疫細胞誘導因子 (SIF) の候補を抽出する。さらに、切除可能進行胃癌患者から前向きに収集された組織および血液サンプルを用いて、抽出された因子のバイオマーカーとしての有用性を検証する。

2. 研究の目的

本研究の目的は、化学療法によって誘導される進行胃癌組織内の免疫活性の変化を評価し、有用なバイオマーカーを同定することだ。具体的には、術前治療を受けた進行胃癌患者の生検および手術で得られた組織サンプルを用いて、腫瘍内微小環境 (TIME) における免疫活性を評価する。そして、免疫原性細胞死 (ICD) によって変動する特異的免疫細胞誘導因子 (SIF) の候補を抽出する。さらに、切除可能進行胃癌患者から前向きに収集された組織および血液サンプルを用いて、抽出された因子のバイオマーカーとしての有用性を検証する。

免疫活性の変化を調査し、潜在的なバイオマーカーを特定することにより、本研究は切除可能進行胃癌患者に対するより標的を絞った効果的な術前化学療法戦略の開発に貢献することを目指している。この研究の知見は、この治療アプローチから最も恩恵を受ける可能性の高い患者の選択に役立ち、最終的には治療成績の改善と個別化されたがん治療につながる可能性がある。

3. 研究の方法

研究 細胞株を用いた TIME 関連マーカー

ヒト胃癌の細胞株を用いて、主要な化学療法薬 (5-FU、CDDP、Oxaliplatin など) による誘導を検討する。次に、細胞株での定量的 PCR を中心に mRNA レベル、ELISPOT、及び ELISA を用いて測定する。測定可能性を必要条件として絞り込むことを目的とし、主に測定方法の確立を目指す。DAMPs として、HMGB1、Calreticulin、ATP、CXCL9、CXCL10、CXCL11、ANXA1、Type1 IFN、cGAS-STING 経路関連因子、FLT3L などを検討する。そのほかの要素として、CXCL4、CXCL12、CXCL17、CXCL22 などのケモカインを候補とする。

研究 -1 腫瘍微小環境解析 後向き研究

術前化学療法後に手術を施行した症例 (NAT 群) 40 例、手術単独群 (SA 群) 40 例を対象に手術標本を採取する。胃癌 NAT 例における原発巣及びリンパ節の病理診断は、深層学習アルゴリズムを用いて行う。すでに深層学習プログラムによる多重染色の定量系を構築している。原発巣およびリンパ節の CD8+T 細胞、樹状細胞を解析する。

特にリンパ節では深層学習プログラムによる多重染色の定量系を構築済みである。所属リンパ節における TPEX (PD-1+TIGIT+CD8+)、TSCM (PD-1-TIGIT-CCR7+CD8+)、樹状細胞の定量を行う。原発巣では TPEX 及び RM-like T 細胞 (CD103+CD8+) の検出を行う。

ヒト所属リンパ節の解析 上記の結果を基に病理学的奏功度と所属リンパ節における免疫細胞のマサイトメトリー解析を行い、TSCM を中心に遠隔成績との関連性について検討する。

研究 -2 TIME 関連マーカーの検証 後向き研究

RNA 解析はレーザーマイクロダイセクションによる組織採取と RNA 抽出を行い、qPCR で TIME 関連マーカーを検出する。

以上の情報を解析し、Linear regression plots 及び ROC 解析を中心に腫瘍内 CD8+T 細胞の因子と TIME 関連マーカーの相関性を解析し、有用な因子を絞り込み、TIME 関連マーカーに関与する因子を特定し、仮説を構築する。その他のアウトカムとして、臨床データとして得られた、病期、術前治療効果、副作用、長期予後 (無再発生存、全生存) と SIF との相関性も検討し、これらを副次的項目として検討を行う。

前向き研究 術前化学療法を施行する切除可能進行胃癌症例 20 例を対象に手術標本を採取する。治療前、治療後、術後の時点での血液検体を採取する。さらに、免疫微小環境の変化が誘導されないと予測される術前治療のない手術単独群 40 例の手術標本、及び術前、術後の血液検体を採取する。 -1 で絞り込まれたバイオマーカー候補について検討を行い、CD8+T 細胞の状態や治療効果との関連を解析する。標本は CD8+T 細胞の解析を行う。CD8+T 細胞の状況と TIME 関連因子について、統計学的相関性の解析を行い、仮説を検証する。

4. 研究成果

ヒト胃癌の細胞株を用いて、主要な化学療法薬（5-FU、CDDP、Oxaliplatin など）による誘導を検討し、定量的 PCR を中心に mRNA レベルで検証を終えることができた。各因子につき、発現レベルを明らかにした。また、ELISA 法を用いて、可能なタンパク発現を検証している。上記の候補に関しては、KATO-III, NUGC3, SCH など検証し、有望なマーカーを同定しつつある。

現在、組織サンプルにて発現を確認中であり、さらなる検討を要する見込みである

細胞株を用いた検討では、化学療法薬による TIME 関連マーカーの誘導が確認されたが、測定方法の確立には至らなかった。術前化学療法後の胃癌組織における免疫微小環境の解析では、深層学習アルゴリズムによる多重染色の定量系の構築に成功したが、NAT 群と SA 群の間で明確な差異は認められなかった。TIME 関連マーカーの検証においても、有意な相関性は見出せなかった。前向き研究による検証では、症例数が少なく、有意な結果は得られなかった。

しかし、当科でのデータベース解析より、以下の点が明らかとなった。

高齢者に対する NAC の評価として、2013 年 4 月から 2021 年 11 月の間に、LAGC または食道胃接合部腺癌に対して根治的胃切除術を施行された 75 歳以上の患者を対象とした。Eastern Cooperative Oncology Group Performance Status (ECOG-PS) が 2-3 の脆弱な患者も含まれた。患者は NAC+群 (20 例) と NAC-群 (45 例) に分類され、臨床病理学的データが後方視的に調査された。組織学的腫瘍反応と免疫機能マーカーの評価として、進行胃癌と食道胃接合部癌に対して NAC 後に外科的切除を受けた患者 42 例を対象とした。組織学的腫瘍反応は日本胃癌取扱い規約に基づいて評価され、免疫機能マーカーとして好中球/リンパ球比 (NLR) が検討された。

高齢者に対する NAC の実現可能性と有効性として、NAC+群は NAC-群よりも高い R0 切除率を示し (100% vs. 89.1%, $p=0.3$)、12 例 (60%) で病理学的ダウンステージングが達成され、そのうち 5 例 (25%) で病理学的完全奏効が得られた。術後化学療法中の有害事象の発生率は 35% で、Clavien-Dindo 分類 Grade II 以上の術後合併症の割合は両群で同等であった (35% vs. 46.7%, $p=0.43$)。NAC+群は 3 年全生存率が高かった (75% vs. 36%, $p=0.015$)。また、組織学的腫瘍反応と免疫機能マーカーの予後的意義として、Grade 2b-3(奏効群)の組織学的反応を示した患者は、非奏効群と比較して、5 年全生存率が良好であった (72.0% vs. 33.3-46.8%)。多変量解析において、NAC 前の NLR 値は予後と有意に関連しており ($p=0.048$)、NLR 値が 3.4 未満の患者は良好な全生存率を示した ($p=0.03$)。

結論的には、

(1) 胃癌に対する NAC が TIME に与える影響を明らかにすることを目的としたが、明確な成果を得ることはできなかった。今後は、測定方法の改良や症例数の増加など、研究デザインの見直しが必要であると考えられた。

(2) NAC は LAGC または食道胃接合部腺癌を有する脆弱な高齢患者に対しても実現可能であり、高いダウンステージング率とより良好な生存率が得られるため、治療選択肢の一つとして考慮できる。

(3) 組織学的腫瘍反応と NLR 値は、進行胃癌および食道胃接合部癌に対する NAC 後の患者の予後因子となる可能性があり、治療決定や予後予測に役立つ可能性がある。

これらの知見は、高齢者や脆弱な患者を含む進行胃癌および食道胃接合部癌患者の治療戦略の最適化に寄与すると期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 Urakawa N, Kanaji S, Kato T, Sawada R, Harada H, Goto H, Hasegawa H, Yamashita K, Matsuda T, Oshikiri T, Kakeji Y	4. 巻 37
2. 論文標題 Neutrophil-lymphocyte Ratio and Histological Response Correlate With Prognosis of Gastric Cancer Undergoing Neoadjuvant Chemotherapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 In Vivo	6. 最初と最後の頁 378 ~ 384
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/invivo.13089.	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 -

1. 著者名 Mukoyama T, Kanaji S, Sawada R, Harada H, Urakawa N, Goto H, Hasegawa H, Yamashita K, Matsuda T, Oshikiri T, Kakeji Y	4. 巻 43
2. 論文標題 Safety and Efficacy of Neoadjuvant Chemotherapy for Advanced Gastric Cancer in Elderly Patients	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 5649 ~ 5656
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.16769.	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
研究分担者	掛地 吉弘 (Kakeji Yoshihiro) (80284488)	神戸大学・医学研究科・教授 (14501)	
研究分担者	鈴木 知志 (Suzuki Satoshi) (30457080)	神戸大学・医学研究科・医学研究員 (14501)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	山下 公大 (Yamashita Kimihiro) (80535427)	神戸大学・医学部附属病院・特命准教授 (14501)	
研究分担者	山田 康太 (Yamada Kota) (50884087)	神戸大学・医学部附属病院・医員 (14501)	

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