

令和 6 年 5 月 12 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：21K08798

研究課題名(和文) Wntシグナルに基づく新たな直腸癌化学放射線免疫複合療法の試み

研究課題名(英文) New chemoradiation-immunotherapy combination therapy for rectal cancer using Wnt signaling

研究代表者

古出 隆大(Koide, Takahiro)

神戸大学・医学研究科・医学研究員

研究者番号：40795415

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)：NACRT直腸癌において、 β -カテニン発現強度は、奏効度や全生存率と有意に相関していた。さらに、CD8+浸潤と奏効度も高い相関性を示し、CD8+高浸潤群は有意に無再発生存率が良好であった。また、大腸癌培養細胞株移植マウスモデルにおいて、放射線照射量依存的な抗腫瘍効果を示し、放射線照射量依存的にCD8+T細胞が誘導された。本モデルにおける抗腫瘍効果の主体は、照射前より腫瘍内存在するCD8+T細胞であった。これらの結果は、リンパ球浸潤を促進するWntシグナル阻害剤が放射線照射前に必要であることを示す。今後は、マウスモデルにおけるWntシグナル阻害剤と免疫療法のプロトコル最適化を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

直腸癌は難治性であり、生命予後不良だけでなく、人工肛門など生活の質が大幅に低下する可能性があり、その治療成績の向上は重要な課題である。治療成績向上を目指して術前化学放射線療法が行われるが、その成績は十分とはいえず、更なる改善が望まれる。本研究成果により、化学放射線の治療効果には腫瘍内に存在する免疫細胞の浸潤が大きな役割を果たしており、免疫細胞浸潤を抑制するWntシグナルを阻害することで、Wnt阻害剤と免疫複合療法など、新たな治療方法につながる可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：In NACRT rectal cancer, β -catenin expression intensity was significantly correlated with response rate and overall survival rate. Furthermore, CD8+ infiltration and response rate also showed a high correlation, with the high CD8+ infiltration group having a significantly better recurrence-free survival rate. Furthermore, in a mouse model transplanted with a cultured colon cancer cell line, it exhibited radiation dose-dependent antitumor effects, and CD8+ T cells were induced in a radiation dose-dependent manner. In this model, the main component of the antitumor effect was CD8+ T cells that existed within the tumor before irradiation. These results indicate that Wnt signal inhibition to promote lymphocyte infiltration is required before radiation. In the future, we plan to optimize protocols for Wnt signal inhibitors and radiotherapy in mouse models.

研究分野：消化器外科

キーワード：直腸癌 化学放射線 Wnt 免疫

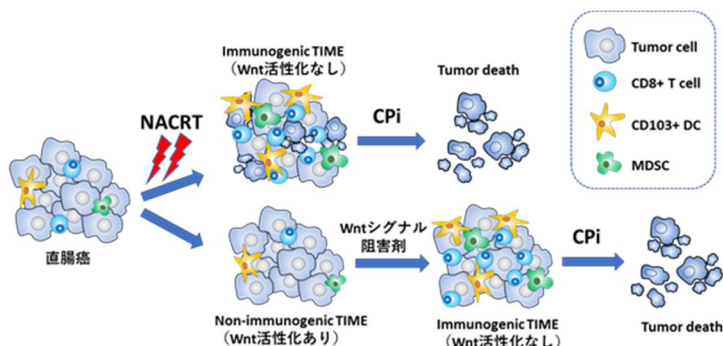
様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

局所進行直腸癌の術前化学放射線療法 (NACRT)は、その良好な局所制御能により重要な役割を果たしてきたが、一方で全生存や遠隔成績への有効性は示されていない。その原因は pCR (病理学的完全奏効) 率が 20%未満と低いことにある。従って、pCR 率の向上こそが今後の直腸癌 NACRT 治療の目指すべき方向と考えられる。NACRT は細胞死 (Immunogenic cell death: ICD) を引き起こし、免疫原性の高い immunogenic TIME (腫瘍免疫微小環境、Tumor immune microenvironment) に変換させることが明らかとなり、免疫療法との併用が期待されている。

一方で、Wnt シグナルは、T 細胞を中心とする抗腫瘍免疫応答のあらゆる段階で、抗腫瘍免疫応答を抑制することが示されている。

我々は、直腸癌 NACRT がもたらす TIME の変化を Wnt シグナルに着目して捉え、non-immunogenic なものに対しては Wnt シグナル活性をブロック (阻害) して CPi (免疫チェックポイント阻害剤) の併用効果を高めることにより、pCR 率を大幅に向上できると考えた。



2. 研究の目的

直腸癌 NACRT がもたらす TIME 変化を Wnt シグナル活性に着目して明らかにし、CPi 併用療法のバイオマーカーを開発すること、そして Wnt シグナル活性に基づく新しい化学放射線免疫複合療法を開発すること。

3. 研究の方法

研究 ヒト直腸癌 NACRT における Wnt シグナル活性と奏効率および腫瘍学的成績との関連性の解析：直腸癌 NACRT60 症例分の治療開始前検体を用いて、核内 β -カテニン発現強度と治療成績との関連性を解析した。

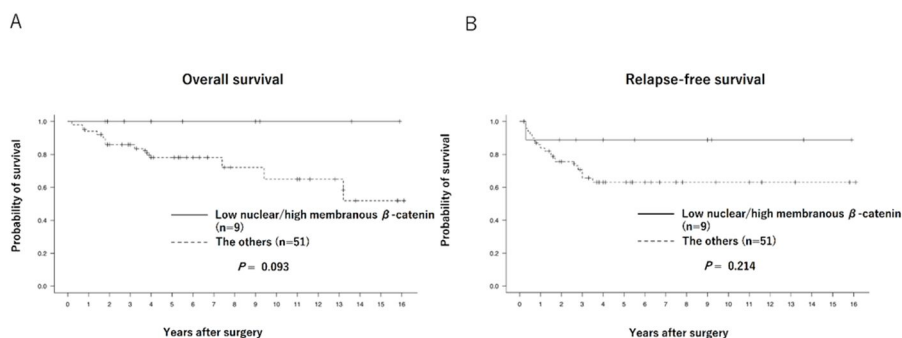
研究 ヒト直腸癌 NACRT における TIL と奏効率および腫瘍学的成績との関連性の解析：同様に CD8+浸潤程度と治療成績の関連性を解析した。

研究 マウス大腸癌放射線治療モデルにおける TIL と Exhaustion を含む分化状態の評価

研究 マウス大腸癌放射線治療モデルにおける FTY720 リン酸化体 (S1P 受容体に対してアゴニスト) の TIL 及び抗腫瘍効果への影響解析

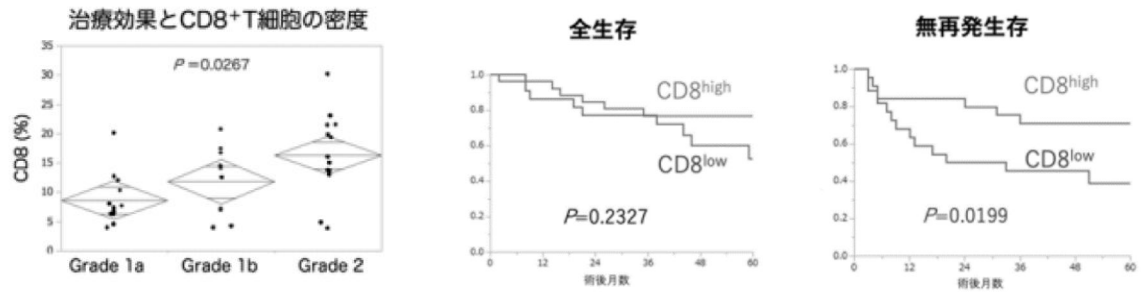
4. 研究成果

ヒト NACRT 直腸癌において、 β -カテニン発現強度と NACRT 奏効度は有意に相関しており、全生存率とも相関性は見られたが、無再発生存率との相関性は弱かった。



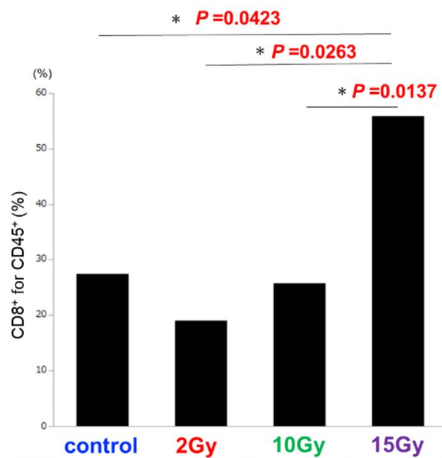
	β -catenin Low	β -catenin High	P value
	n = 25	n = 35	
Histological response(%)			< 0.01
Poor (Grade 1a, 1b)	7 (28.0)	22 (62.9)	
Good (Grade 2, 3)	18 (72.0)	13 (37.1)	

ヒト NACRT 直腸癌において、CD8+浸潤の程度と組織学的奏効度は高い相関性を示した。また、CD8+の高浸潤群は、低浸潤群と比較して、有意に無再発生存率が良好であった。

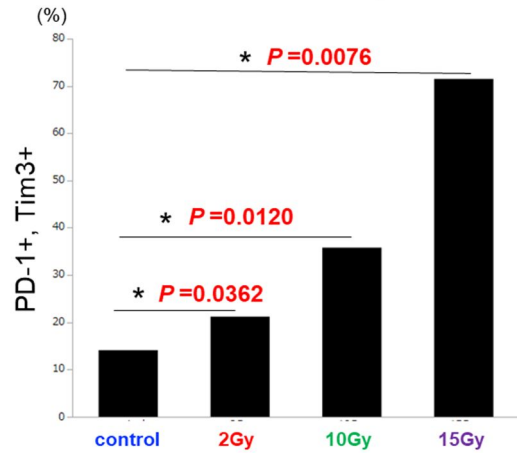


一方で、マウスモデルにおいて、レジデントメモリーCD8+T細胞の細胞密度は、無再発生存率に寄与しなかった。しかし、大腸癌細胞株移植マウスでは、放射線照射量依存的な抗腫瘍効果を示し、放射線照射量依存的にCD8+T細胞が誘導された。さらに、抗原刺激に対して反応し、疲弊・分化したと思われるPD-1+Tim-3+CD8+T細胞が増加を示した

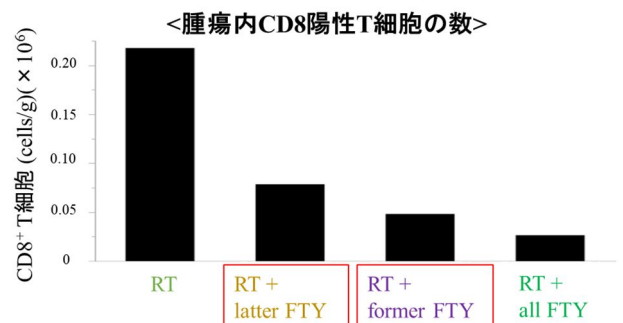
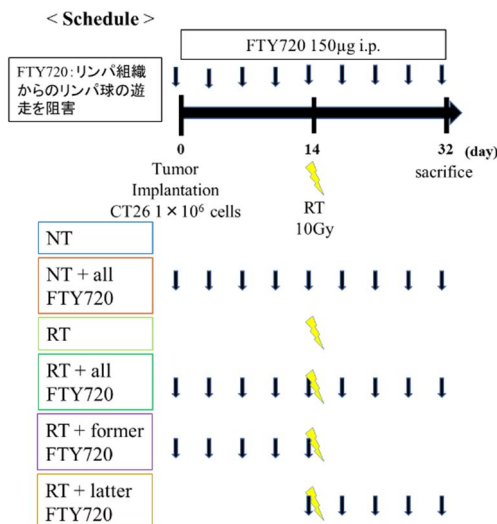
<Percentage of CD8 /CD45 T cells in tumor>

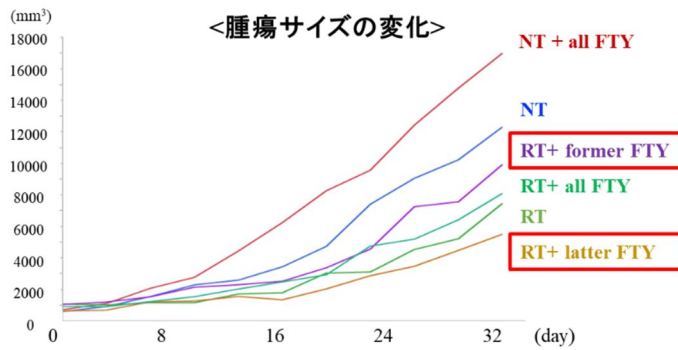


Fraction III PD-1+, Tim3+



放射線の抗腫瘍効果はFTY720リン酸化体の投与によって、減弱化した。また、照射前より腫瘍内存在するCD8+T細胞と照射後に腫瘍内へ流入するCD8+T細胞が存在しており、本モデルにおける抗腫瘍効果の主体は、照射前より腫瘍内存在するCD8+T細胞と考えられた。





今回の研究により、直腸癌 NACRT の治療効果には、照射前から存在する腫瘍微小環境内の CD8+T 細胞の浸潤・遊走が重要であり、腫瘍内へのリンパ球浸潤を促進するための Wnt シグナル阻害剤の投与は放射線照射前が良い可能性を示した。

当初は、Wnt 阻害剤と Cpi 併用療法の効果を見る研究まで進める予定であったが、ヒト生検組織の免疫染色や カテニン発現解析、マウス実験モデルの確立に時間を要し、到達できなかった。しかし、直腸癌 NACRT において Wnt 阻害剤と Cpi 複合療法に期待が持てる結果であった。

今後は、これまでの結果をもとに、1) マウスモデルにおける Wnt シグナル阻害剤、Cpi、放射線複合療法のプロトコルの最適化を行うこと、2) NACRT による免疫活性化において変動する Wnt シグナル関連分子を腫瘍組織内で測定し、使用可能なバイオマーカー候補を同定する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Miyako S, Matsuda T, Koma YI, Koide T, Sawada R, Hasegawa H, Yamashita K, Harada H, Urakawa N, Goto H, Kanaji S, Oshikiri T, Kakeji Y	4. 巻 11
2. 論文標題 Significance of Wnt/ -Catenin Signal Activation for Resistance to Neoadjuvant Chemoradiotherapy in Rectal Cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biomedicines	6. 最初と最後の頁 174-184
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/biomedicines11010174	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 -

〔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	西田 満 (Nishita Mitsuru) (30379359)	福島県立医科大学・医学部・教授 (21601)	
研究分担者	松田 武 (Matsuda Takeru) (30782734)	神戸大学・医学研究科・特命准教授 (14501)	
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	山下 公大 (Yamashita Kimihiro) (80535427)	神戸大学・医学部附属病院・特命准教授 (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
---------	---------