

令和 6 年 5 月 31 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2023

課題番号：21K15787

研究課題名（和文）頭頸部癌における腫瘍免疫の微小環境の解析と個別化放射線治療への応用

研究課題名（英文）Analysis of the tumor immune microenvironment in head and neck cancer and its application to personalized radiation therapy

研究代表者

福島 悠希（Fukushima, Yuki）

札幌医科大学・医学部・訪問研究員

研究者番号：60749787

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：中咽頭扁平上皮癌の放射線治療の結果に影響を及ぼす腫瘍免疫に関与するタンパク質の発現の影響について研究を行った。腫瘍の免疫微小環境と放射線治療成績の関係について、CD4陽性細胞傷害性T細胞が認識する癌細胞のHLA class II、制御性T細胞マーカーであるFoxP3の発現を中咽頭癌の生検検体を用いて検討した。腫瘍細胞のHLA class IIが高発現で、腫瘍近傍にFoxP3の浸潤を多く認める症例で予後良好であった。従来の予後因子に加えることで治療成績の予測精度の向上につながると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

中咽頭癌において、腫瘍免疫関連蛋白の一つであるHLA class IIが高発現で、腫瘍近傍にFoxP3の浸潤を多く認める症例で放射線治療成績が良好であることが研究成果として示された。今後癌細胞の腫瘍免疫関連蛋白を用いた放射線感受性予測の臨床応用や、個別化放射線治療の実用化の一步となる成果と考えられる。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effect of expression of proteins involved in tumor immunity on the outcome of radiation therapy for oropharyngeal squamous cell carcinoma. Regarding the relationship between the tumor immune microenvironment and radiation therapy outcomes, we examined the expression of HLA class II on tumor cells recognized by CD4 positive cytotoxic T cells and FoxP3, a regulatory T cell marker, using biopsy specimens from oropharyngeal cancer. Cases with high expression of HLA class II on tumor cells and high levels of FoxP3 infiltration near the tumor had a good prognosis. It is believed that adding these to conventional prognostic factors will lead to improved accuracy in predicting treatment outcomes.

研究分野：放射線治療

キーワード：頭頸部癌 放射線治療 腫瘍免疫

1. 研究開始当初の背景

放射線治療による抗腫瘍(殺細胞)メカニズムは、直接のおよびフリーラジカル生成を介した間接的な DNA 傷害作用による細胞死が中心的な役割を担っていると考えられてきた。ところが臨床において、放射線治療時に放射線照射範囲外の腫瘍が縮小する「アブスコパル効果」と呼ばれる現象が古くから知られていた。アブスコパル効果のメカニズムは長らく不明であったが、近年、局所的な放射線治療が全身の免疫系を活性化することによって起こることが明らかになってきた。よって従来考えられていた DNA 損傷だけではなく、抗腫瘍効果には腫瘍免疫機構などが関連している可能性がある。

腫瘍免疫に関わる蛋白として、腫瘍細胞表面に発現している PD-L1 (Programmed death ligand-1) 蛋白や、腫瘍を攻撃する T 細胞の細胞表面に発現している PD-1 蛋白が知られており、PD-L1 と PD-1 が結合すると、腫瘍を攻撃する T 細胞にブレーキがかかるため治療抵抗性となると考えられている。また、免疫細胞である CD8 陽性の T リンパ細胞が腫瘍内に多く浸潤している場合には治療効果が良好であることも報告されている。この両面から放射線治療の効果予測に関連する研究が行われている。

以上より、放射線治療の抗腫瘍効果としてはこれまでいわれてきた DNA 傷害作用に加えて、近年は腫瘍免疫機構による免疫応答が関与していることが明らかとなってきておりこれについて研究が進んでいる。

2. 研究の目的

近年、ヒトパピローマウイルス (HPV) 関連の頭頸部癌が増加しており、特に中咽頭癌で顕著である。HPV 陽性の中咽頭癌は放射線治療の感受性が良好で予後良好と考えられている。しかし、このメカニズムについては未解明の部分が多い。我々のグループではこれまで各種の癌において、DNA 損傷修復蛋白発現と放射線治療成績が相関することを報告してきた。そこで本研究ではこれらの成果を発展させ、中咽頭癌を主とした頭頸部癌の腫瘍免疫関連蛋白の発現と放射線治療成績の相関を解明し、臨床応用に結びつけることを目的とする。具体的には、治療開始前の生検検体を用いた腫瘍免疫関連蛋白の免疫組織染色を行い、癌細胞の腫瘍免疫関連蛋白を用いた放射線感受性予測法の臨床応用と個別化放射線治療の実用化を目指す。

3. 研究の方法

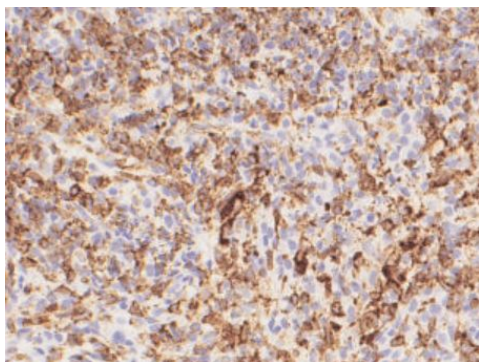
当院で 2005 年から 2019 年の期間に行われた中咽頭癌に対する根治的放射線治療 70 例の治療前生検標本において、CD4 陽性 T 細胞が認識する癌細胞の HLA class II 抗体、制御性 T 細胞のマーカーである FoxP3 抗体を用いて免疫染色を行った。顕微鏡下で陽性細胞数の測定を行い、カットオフ値を設定し陽性群、陰性群に分け、p16 や予後(全生存率 OS や無再発生存率 PFS)との関連を検討した。

70 症例の内訳としては、年齢の中央値は 68 歳、p16 陽性は 37 例で全体の 52.9%であった。中咽頭癌の発生部位は扁桃が最も多く 47 例であり、化学療法併用は 53 例、分子標的薬併用は 5 例であった。UICC 第 8 版において、I 期は 19 例、II 期は 16 例、III 期は 15

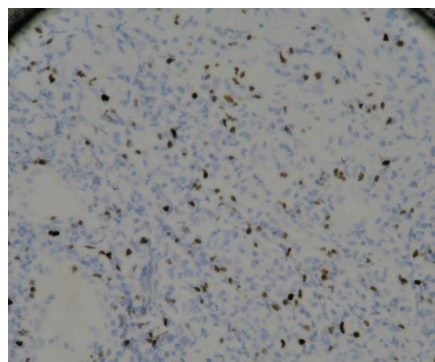
例、 期は 20 例であった。観察期間の中央値は 36 か月、全症例に 60Gy 以上の根治線量が投与されていた。

免疫染色の評価方法としては、腫瘍の HLA class の陽性率は病理診断専門医との合議によって評価し、陽性率が 30%以上であるものを陽性と定義した。FoxP3 は 400 倍の顕微鏡倍率で腫瘍組織内の陽性細胞数を手動でカウントし、陽性細胞数が 60 個以上であるものを陽性と定義した。HLA class 、FoxP3 の免疫染色写真を以下に示す。

【中咽頭癌細胞の免疫組織染色】



HLA class



FoxP3

4 . 研究成果

【結果】

はじめに免疫染色と p16 との関連について示す。

HLA class において、p16 と有意な正の相関関係を認めた。FoxP3 においては p16 と有意な差は認めないが正の相関傾向を認めた。

結果① (免疫染色の結果と p16 との関連)

		p16 positive	p16 negative	P value
HLA class II	positive	18	6	0.011
	negative	19	27	
FoxP3	positive	24	14	0.092
	negative	13	19	

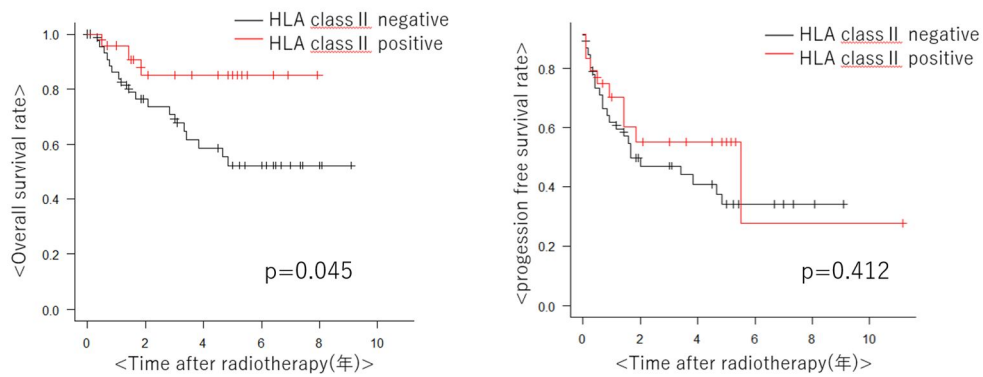
HLA class II において、p16 と有意な正の相関関係が認められた。

続いて免疫染色と生存率との関係を示す。

HLA class II において、高発現群は低発現群と比較して OS では p 値 0.045 と有意に予後良好であった。一方で、PFS は差は認めなかった。

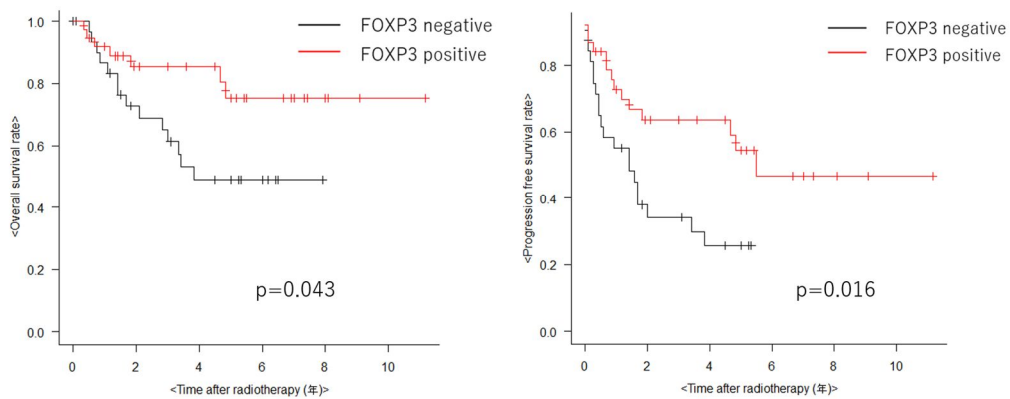
続いて FoxP3 において、高発現群は低発現群と比較して OS では p 値 0.043、PFS では p 値 0.016 と有意に予後良好であった。

結果② (HLA class II と生存率の関係)



HLA class II 高発現群は低発現群と比較してOSで有意に予後良好であった。

結果③ (FoxP3 と生存率との関係)



FoxP3高発現群は低発現群と比較して、OS,PFSともに有意に予後良好であった。

OS の単変量、多変量解析の結果を示す。

単変量・多変量解析 (OS)

	Parameter	Hazard ratio	95% CI	P value
Univariate				
	年齢	1.659	0.699-3.940	0.251
	性別	0.500	0.183-1.367	0.177
	併用療法	0.463	0.168-1.277	0.137
	TNM stage	10.29	3.008-35.19	<0.001
	p16 status	0.297	0.115-0.765	0.012
	HLA class II	0.307	0.090-1.041	0.058
	FoxP3	0.404	0.163-1.001	0.050
Multivariate				
	併用療法	0.386	0.133-1.117	0.079
	TNM stage	9.046	2.516-32.52	<0.001
	HLA class II	0.444	0.126-1.561	0.206
	FoxP3	0.677	0.262-1.752	0.422

HLA class II やFoxP3は独立した予後予測因子にはならなかった。

TNM stage が独立した予後予測因子となり、免疫染色の結果は独立した予後予測因子とならなかった。

以上より中咽頭癌の放射線治療前生検標本において、以下のことが示された。

HLA class は OS にて高発現群が低発現群と比較して有意に予後良好であった。

また、FoxP3 は OS、PFS とともに高発現群が低発現群と比較して有意に予後良好であった。多変量解析では両者ともに独立した予後予測因子とはならなかった。

【考察】

HLA class はウイルスなどの抗原ペプチドを CD4 陽性 T 細胞に提示する働きを行う。先行研究では HPV 陽性中咽頭癌は陰性腫瘍と比較して HLA class の発現割合が高く、また、HLA class 高発現群は有意に予後良好であった。本研究も同様の結果が得られた。HLA class は多変量解析では独立した予後予測因子とならなかったが、症例数が少ない影響があると考えられた。

FoxP3 は制御性 T 細胞の特異的分子マーカーであり、一般的に FoxP3 が高発現である腫瘍は治療抵抗性で予後不良と考えられている。しかし HPV 関連腫瘍では FoxP3 が高発現である腫瘍の方が治療成績良好であることが報告されており、本研究も同様の結果が得られた。

【結語】

中咽頭癌の放射線治療前生検標本において、HLA class 、FoxP3 が多く浸潤している症例で有意に予後良好であることが示された。p16 など従来の子後予測因子に加えることで治療成績の予測精度の向上につながる可能性があると思われた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 2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 Someya Masanori, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Kozuka Yoh, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Sakata Koh-ichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Radiotherapy for HPV-related cancers: prediction of therapeutic effects based on the mechanism of tumor immunity and the application of immunoradiotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 458 ~ 465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11604-021-01231-4	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 -

1. 著者名 Someya Masanori, Tokita Serina, Kanaseki Takayuki, Kitagawa Mio, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Fukushima Yuki, Gocho Toshio, Kozuka Yoh, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Takahashi Mamoru, Moniwa Keigo, Matsuo Kazuhiko, Hasegawa Tadashi, Torigoe Toshihiko, Sakata Koh ichi	4. 巻 113
2. 論文標題 Combined chemoradiotherapy and programmed cell death ligand 1 blockade leads to changes in the circulating T cell receptor repertoire of patients with non small cell lung cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4394 ~ 4400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15566	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 -

1. 著者名 Someya Masanori, Tsuchiya Takaaki, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Hori Masakazu, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Matsumoto Yoshihisa, Sakata Koh-ichi	4. 巻 54
2. 論文標題 Prediction of treatment response from the microenvironment of tumor immunity in cervical cancer patients treated with chemoradiotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 245 ~ 252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00290-w	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 Someya Masanori, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Kozuka Yoh, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Sakata Koh-ichi	4. 巻 -
2. 論文標題 Radiotherapy for HPV-related cancers: prediction of therapeutic effects based on the mechanism of tumor immunity and the application of immunoradiotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11604-021-01231-4	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 染谷正則、長谷川智一、北川未央、土屋高旭、福島悠希、後町俊夫、眞船翔、池内佑太郎、小塚陽、坂田耕一
2. 発表標題 末梢血リンパ球TCRレパトア解析を用いた3期NSCLCのCRT + ICI治療効果予測
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第35回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 眞船翔、染谷正則、土屋高旭、長谷川智一、福島悠希、小塚陽、奥田竜、坂田耕一、松浦基樹、岩崎雅宏、齋藤豪、
2. 発表標題 子宮頸癌術後照射症例での腫瘍免疫関連タンパク解析による治療効果予測
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第35回学術大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 福島悠希、染谷正則、坂田耕一
2. 発表標題 根治的放射線治療を行った中咽頭癌症例における腫瘍免疫と予後との関係
3. 学会等名 第45回日本頭頸部癌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染谷正則、土屋高旭、長谷川智一、福島悠希、池内佑太郎、眞船翔、北川未央、後町俊夫、坂田耕一
2. 発表標題 血中エクソソームmiRNAを用いた子宮頸癌の治療効果予測
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第34回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染谷正則、福島悠希、土屋高旭、長谷川智一、堀正和、後町俊夫、小塚陽、池内佑太郎、眞船翔、坂田耕一
2. 発表標題 Relationship between the type of CD8 invasion and prognosis in cervical cancer patients treated with definitive radiotherapy.
3. 学会等名 第80回日本医学放射線学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染谷正則、土屋高旭、福島悠希、長谷川智一、北川未央、後町俊夫、岩崎雅宏、松浦基樹、齋藤豪、坂田耕一
2. 発表標題 子宮頸癌根治照射症例におけるCD8の浸潤形式と予後との関連
3. 学会等名 第59回 日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021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
---------	---------