

令和 5 年 4 月 9 日現在

機関番号：12301

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16440

研究課題名（和文）胃癌における新規革新的免疫治療の開発

研究課題名（英文）Development of new and innovative cancer immunotherapy for gastric cancer

研究代表者

中澤 信博（Nakazawa, Nobuhiro）

群馬大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：60881290

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：TGFBIの分泌起源について多重免疫染色を施行し、癌関連マクロファージ（CD163陽性細胞）より分泌されていることを証明した。胃癌手術を受けた197例の切除検体における検討において、TGFBI高発現で有意に予後不良であった。TGFBI高発現で深達度SE以深が占める割合が高く、術後再発と相関を認めた。次に2017年10月から2018年11月の間に参加5施設で、切除不能進行再発胃癌に対してNivolumab治療を行った49例の検討では、癌間質TGFBI低発現でNivolumab治療感受性が高いことを多施設共同研究で示した。モンペリエ大学と共同開発した抗TGFBI抗体を使用し、現在基礎実験中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

切除不能進行再発胃癌に対する治療戦略として、現在NivolumabはHER2陰性胃癌では一次治療で、HER2陽性胃癌では三次治療以降で使用される薬剤であり、胃癌治療成績向上のためには欠かせないkey drugである。今回開発した抗TGFBI抗体を使用し、現在はex vivo研究で胃癌切除検体を使用して、抗TGFBI抗体とNivolumabの併用療法の意義について、基礎実験を施行している。抗TGFBI抗体がNivolumab感受性を亢進することができれば、切除不能進行再発胃癌症例の治療成績向上に寄与すると考えている。

研究成果の概要（英文）：The origin of TGFBI secretion was demonstrated to be secreted by cancer-associated macrophages (CD163-positive cells) using multiple immunostaining. In a study of 197 resected specimens from gastric cancer surgery, high TGFBI expression was associated with significantly poorer prognosis, with high TGFBI expression accounting for a higher proportion of SE or greater depth and correlating with postoperative recurrence. Next, a multicenter study of 49 patients treated with Nivolumab for unresectable advanced recurrent gastric cancer between October 2017 and November 2018 at five participating centers showed that low expression of cancer stromal TGFBI was associated with higher sensitivity to Nivolumab treatment. The anti-TGFBI antibody, developed in collaboration with the University of Montpellier, is currently being used in basic experiments.

研究分野：消化管外科

キーワード：胃癌 TGFBI 癌関連マクロファージ 癌関連線維芽細胞 抗TGFBI抗体 免疫治療

1. 研究開始当初の背景

胃癌は世界中において最も頻度の高い消化器癌の一つであり、部位別がん死亡数第3位の疾患であるが (Torre LA, Bray F, et al. CA Cancer J Clin 2015)、近年新たな分子標的薬や免疫チェックポイント阻害剤の登場で、治療が大きく進歩している。特に胃癌においては、Nivolumab (抗 PD-1 抗体) が切除不能進行・再発胃癌または胃食道接合部癌に対して全生存期間を延長したという ATTRACTION-2 試験の結果を踏まえ、胃癌ガイドラインにおける三次治療として承認されている (Kang YK, Boku N, et al. Lancet 2017)。しかし奏効率は 10-20%程度と決して高くはなく、奏効率を向上させるため、治療効果予測マーカーや治療効果を高める何らかの方法が求められている。

尿路上皮癌における検討において、担癌モデルマウスに TGF- β 阻害剤単剤投与では抗腫瘍効果は発揮しなかったが、TGF- β 阻害剤と抗 PD-L1 抗体を同時に投与すると、抗 PD-L1 抗体単剤投与と比べて腫瘍内への CD8 陽性 T 細胞浸潤を促進させ腫瘍径の縮小を惹起し、抗 PD-L1 抗体の感受性を有意に増加させた (Sanjeev M, Shannon J. T, et al. Nature, 2018)。しかし生体内での TGF- β シグナル活性化を証明することは非常に難しい。TGF- β を添加しても、TGF 受容体などに変異を認めると、TGF- β シグナルそのものが活性化しない。このことから単純に TGF- β の量を評価し、その活性を阻害するよりも、SMAD の下流で TGF- β シグナルの活性化によって鋭敏に発現誘導することが報告されている Transforming Growth Factor-Beta-Induced (TGFBI) に着目した。申請者らは、TGFBI 蛋白の癌間質部発現が、肺癌 Nivolumab に対する治療抵抗性に関連することを報告した (Nakazawa N, Yokobori T, et al. Ann Surg Oncol 2020)。癌間質 TGFBI 高発現はビメンチン高発現と相関し、癌間質 TGFBI 発現が上皮間葉転換 (EMT: epithelial mesenchymal transition) を惹起することで、Nivolumab 治療抵抗性に関連する可能性が示唆された。そこで今回、胃癌においても Nivolumab 使用症例において、TGFBI 蛋白の発現と治療抵抗性の関係について検討を行ったところ、胃癌においても癌間質 TGFBI 発現が治療抵抗性を予測するバイオマーカーとなるか検討を行った。

そこで免疫チェックポイント阻害剤の薬効を抗 TGFBI 抗体により増強できるのか、また増強できるとしたらそのメカニズムはどのようなものかを明らかにし、革新的胃癌治療への臨床応用の橋渡しを目指し、検討を開始した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、免疫チェックポイント阻害剤の薬効を抗 TGFBI 抗体により増強できるのか、その増強メカニズムは何かを明らかにすることである。

3. 研究の方法

- (1) TGFBI 産生細胞の同定に、腫瘍細胞を蛍光二重染色法にて評価を行った。
- (2) 胃癌に対して手術を施行した 197 例を対象とし、免疫染色にて胃癌組織における TGFBI 発現を Intensity score を用いて評価し、臨床病理学的因子、予後、また CD163 (癌関連マクロファージ) や CD8 (腫瘍内浸潤 T 細胞) との関連について後ろ向きに検討を行った。
- (3) 2017 年 10 月から 2018 年 11 月の間に参加 5 施設で、切除不能進行再発胃癌に対してニボルマブ治療を行った 49 例の TGFBI 発現と治療抵抗性について検討を行った。
- (4) Nivolumab 治療症例の血清 TGFBI 濃度と治療感受性について検討を行った。
- (5) フランスモンペリエ大学と共同開発した抗 TGFBI 抗体を使用し、胃癌切除検体を用いた ex vivo 研究で抗 TGFBI 抗体と Nivolumab の併用療法の意義について検討を行う。
- (6) ルシフェラーゼ発現 E.G7 細胞を樹立し、その細胞株を皮下移植して担癌モデルマウスを作成し、抗 TGFBI 抗体により治療された E.G7 皮下腫瘍における局所免疫細胞の変化と網羅的遺伝子発現解析を行う。

4. 研究成果

- (1) TGFBI は CD163 陽性細胞から産生されていた。
- (2) TGFBI は癌間質に強く発現を認めた。低発現 124 例、高発現 76 例であり、TGFBI 高発現で有意に予後不良であった ($p=0.011$)。TGFBI 高発現で深達度 SE 以深が占める割合が高く ($p=0.0002$)、術後再発と相関を認めた ($p=0.011$)。また TGFBI 高発現で有意に CD163 高発現であり ($p=0.013$)、腫瘍内浸潤 CD8 陽性 T 細胞は有意に少なかった ($p=0.0045$)。
- (3) 癌間質 TGFBI 低発現では 3 例 (20%)、高発現では 30 例 (88.2%) が PD であった ($p < .0001$)。
- (4) TGFBI は分泌蛋白であることから、血清 TGFBI 濃度が治療予測バイオマーカーとなりうるか、治療症例 11 例で検討を行った。しかしながら血清 TGFBI 濃度と Nivolumab 治療抵抗性に関しては、有意相関は認めなかった。
- (5) ex vivo 研究の体制は整備したが、現在条件検討を含め、各種検討中である。抗 TGFBI 抗体と Nivolumab 併用療法の意義について、検討を深めて参りたい。
- (6) モデルマウスの作成にはまだ至れていない。今後はモデルマウスを作成し、抗 TGFBI 抗体を

免疫チェックポイント阻害剤 anti-mouse Pd-1 抗体に併用することで治療効果を増強できるかを検証したい。また腫瘍細胞増殖の評価には腫瘍径の計測と並行して、免疫細胞浸潤の影響を除外するために in vivo ルシフェラーゼアッセイによる腫瘍細胞の発光活性を測定する予定である。腫瘍浸潤免疫細胞、間質細胞については FACS 解析、次世代シーケンス解析で検討を予定している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 中澤信博
2. 発表標題 A multi-center study to examine the expression of the TGFBI in cases with gastric cancer who received nivolumab therapy.
3. 学会等名 第93回日本胃癌学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 中澤信博
2. 発表標題 A multi-center observational study to investigate the expression of the transforming growth factor-beta-induced (TGFBI) in cases with gastric cancer who received nivolumab therapy.
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会
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
---------	---------