

令和 6 年 6 月 14 日現在

機関番号：18001

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16266

研究課題名（和文）沖縄県に好発する血管肉腫の免疫微小環境の理解と治療標的となる腫瘍ゲノム変異の探索

研究課題名（英文）Understanding the Tumor Microenvironment of Angiosarcoma Prevalent in Okinawa Prefecture and Identifying Tumor Genome Mutations as Therapeutic Targets

研究代表者

栗澤 遼子（AWAZAWA, RYOKO）

琉球大学・医学（系）研究科（研究院）・客員研究員

研究者番号：20457675

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）：沖縄県に好発する頭部血管肉腫およびカポジ肉腫のトランスクリプトームおよびエクソームデータの群間比較解析を通して、特に血管肉腫での免疫微小環境やドライバー変異を網羅的に解析し、多数の新規免疫チェックポイント因子阻害薬の中から最適な治療標的を選択した。マクロファージの貪食作用を抑制する自然免疫系のチェックポイント因子であるCD47-SIRP系の遺伝子発現が予後不良群で有意に高い結果を得た。多数の免疫チェックポイント阻害経路の蛋白の、腫瘍組織での発現を免疫組織染色にて確認を続けている。腫瘍ドライバー変異についても血管肉腫とカポジ肉腫の臨床情報との相関を解析中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題は、世界でも稀にみる大規模の単施設コホートをを用いた頭部血管肉腫の統合的遺伝子解析で、遺伝子変異のみならず腫瘍微小環境を標的にした遺伝子発現解析も行った。微小環境の正確なプロファイルを得るために、ストップコドン、フレームシフト、エクソンスキップ等の機能的な蛋白発現のないと考えられる変異RNA発現配列を削除した機能的発現遺伝子に限定した独特のアルゴリズムを用いた。これにより、続々と開発される新規の免疫チェックポイント阻害薬から、各希少腫瘍にも既存の検体で最適標的を選択しうる、将来の治療へ直結する解析手法である。

研究成果の概要（英文）：Through comparative group analyses of transcriptome and full-exome data from angiosarcoma and Kaposi's sarcoma, which predominantly occur in Okinawa Prefecture, the immune microenvironment and driver mutations were comprehensively analyzed, particularly in angiosarcomas, and the best therapeutic targets were selected from a number of novel immune checkpoint inhibitors. Gene expression of the CD47-SIRP system, a checkpoint factor of the innate immune system that inhibits macrophage phagocytosis, was significantly higher in the poor prognosis group. The expressions of immune checkpoint inhibitory proteins in tumor tissue continues to be confirmed by immunohistochemistry. Tumor driver mutations are also being analyzed for correlation with clinical information in angiosarcoma and Kaposi's sarcoma.

研究分野：皮膚科学

キーワード：血管肉腫 カポジ肉腫 琉球諸島 宮古諸島 血管内皮細胞

## 1. 研究開始当初の背景

頭部血管肉腫とカポジ肉腫は脈管内皮細胞に由来する悪性腫瘍であるが、その病態や予後は著しく異なる。私共はこれまでの疫学調査で、頭部血管肉腫は琉球諸島において世界頻度の3-5倍、古典型カポジ肉腫は原因ウイルスHHV8の浸淫地区である宮古諸島において日本本土の約1000倍の頻度で好発する事を明らかにした。琉球諸島に流布するHHV8が、独自の進化を遂げ、宮古島では日本全体の11倍の高感染率であることも一因である。一方、両腫瘍の分子メカニズムは未だ不明な点が多く、発生頻度が世界的にも高い沖縄で研究を進めていく必要がある。

本研究課題では、沖縄県に好発する頭部血管肉腫およびカポジ肉腫のトランスクリプトームおよびエクソームデータの群間比較解析を通して、特に血管肉腫での免疫微小環境やドライバー変異を網羅的に解析し、多数の新規免疫チェックポイント因子阻害薬の中から最適な治療標的を選択するアルゴリズムを開発する。

## 2. 研究の目的

沖縄県では、その歴史的、民俗的、進化的な独自性や固有の感染症の存在を背景として地域特有の皮膚疾患が発症する。沖縄県の粟国島では、フィンランドの寒村に多い背部弾性線維腫が好発し、宮古諸島の高齢男性には古典型カポジ肉腫が本州男性の1000倍の頻度で発症する。また、若年者の肥満を背景として、乾癬、特に乾癬性関節炎と化膿性汗腺炎が国内では群を抜いて高頻度にみられる。本研究課題の対象である頭部血管肉腫は、琉球諸島全域に世界頻度の3-5倍で発症する。頭部血管肉腫はヒトの固形がんの中でも極めて予後の悪い悪性腫瘍であるが、その希少性から大規模な臨床試験が行われず、エビデンスレベルの高い治療方法に乏しいのが現状である。私共はこれまでに、沖縄県に好発する頭部血管肉腫について臨床経過や患者特性等の疫学情報と、過去の病理検体を用いたトランスクリプトーム解析による網羅的な遺伝子発現変動を組み合わせる腫瘍免疫の方向性を探ってきた。具体的には、過去30年間における琉球大学の頭部血管肉腫91例の疫学調査を行い、当地での頭部血管肉腫の発症率は100万人あたり2.2人/年であり、米国の5倍程度の発症があることを明らかにした。生存期間中央値は初診からわずか447日で、5年生存率は11%と予後は極めて悪く、広範切除、放射線、化学療法や分子標的薬を組み合わせた集学的治療の効果も限定的であった。

一方、ここ数年で免疫チェックポイント阻害薬や分子標的阻害薬の導入により、進行性がん治療の選択肢が大きく広がった。現在、国内で承認されている免疫チェックポイント阻害剤は、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体、抗CTLA-4抗体の3種のみであるが、抗LAG-3抗体、抗TIM-3抗体、抗TIGIT抗体など多数の新規薬剤による癌腫、薬剤種、現行の放射線や化学療法との組み合わせにより、世界中で100以上の治験プロトコールが進行しており、血管肉腫に対しても有望な治療薬の選択が迅速に望まれる。

本研究課題で追及する「問い」は、「血管肉腫の治療標的となる腫瘍ドライバー変異と腫瘍免疫環境を決定し、血管肉腫に有効な新規免疫チェックポイント阻害薬を選別する為の疾患マーカーを見いだす」ことである。

### 3. 研究の方法

130症例に及ぶ沖縄県の頭部血管肉腫の既存の臨床情報を取得、整理した。

30検体前後の血管肉腫の腫瘍組織由来のDNAとRNAを抽出し、次世代シーケンズデータを取得し、下記についての検証を続けている。

(1) 治療標的となる免疫チェックポイント因子の選別

(2) 分子標的薬のターゲットとなり、腫瘍病態を説明しうる腫瘍ドライバー変異の探索

(1)の免疫チェックポイント因子の選択のために、過去30年間における琉球大学の頭部血管肉腫135例の生存時間解析を行い、平均生存期間のおよそ3倍である5年以上生存している7症例を群間比較の鍵とした。

### 4. 研究成果

これら長期生存患者と、多くの短期のみで死亡した患者組織のトランスクリプトーム解析を行い、腫瘍組織の網羅的な遺伝子発現を長期生存群(n=6)と生存期間が1年未満であった平均的な予後不良群(n=12)に数を増やして比較した。免疫チェックポイント因子のうち、過去に報告されたPD-1/PD-L1系の発現は2群で差がみられなかった。

一方、マクロファージの貪食作用を抑制する自然免疫系のチェックポイント因子であるCD47-SIRP $\alpha$ 系の遺伝子発現が予後不良群で有意に高い結果を得た。これは、現在、他癌腫での治験が行われている抗CD47抗体、抗SIRP $\alpha$ 抗体が、頭部血管肉腫への有効な治療法となる可能性を示している。

しかしこの過程で、従来のトランスクリプトームデータ処理法の欠点をアルゴリズム内に発見した。現在汎用されるデータ処理法では、ストップコドン、フレームシフト、エクソンスキップ等の変異をうけ機能的な蛋白発現のないと考えられる変異RNA発現配列もその発現単位として計上される。そのため、必ずしも機能的蛋白として発現していないRNA分子も、予後不良群vs長期生存群に差のある因子として検出されてしまう。そこで本課題では、新規に開発した新たなトランスクリプトームの処理プログラムを用いて広く最適化した遺伝子発現データよりチェックポイント因子を探索した。

また、これら免疫チェックポイント阻害経路の蛋白の、腫瘍組織での蛋白発現を免疫組織染色にて確認を続けている。

次に、(2)の腫瘍ドライバー変異の探索について、25検体のデータより変異発現遺伝子を抽出すると、数万遺伝子の中に数万か所の変異が存在し、723の既知の癌関連遺伝子について遺伝子変異を検索しても、数万の変異が検出された。これらの変異によるグルーピング、臨床情報との相関を解析中である。さらに17症例のカポジ肉腫検体における同様の発現遺伝子変異の解析を行いデータの解析中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2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 2件）

1. 著者名 Tamaki T, Karube K, Sakihama S, Tsuruta Y, Awazawa R, Hayashi M, Nakada N, Matsumoto H, Yagi N, Ohshiro K, Nakazato I, Kitamura S, Nishi Y, Miyagi T, Yamaguchi S, Nakachi S, Morishima S, Masuzaki H, Takahashi K, Fukushima T, Wada N.	4. 巻 36
2. 論文標題 A Comprehensive Study of the Immunophenotype and its Clinicopathologic Significance in Adult T-Cell Leukemia/Lymphoma.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Modern Pathology	6. 最初と最後の頁 1-9
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.modpat.2023.100169	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 山口 さやか, 粟澤 遼子, 高橋 健造	4. 巻 21
2. 論文標題 【ウイルスと皮膚疾患-新しい考え方】(Part4)知っておきたいウイルスの話題 Kaposi肉腫ウイルス. 21: , 2022.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Visual Dermatology	6. 最初と最後の頁 1020-1022
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 高橋 健造, 宮城 拓也, 深井 恭子, 粟澤 遼子, 大平 葵, 山口 さやか, 大嶺 卓也, 安村 涼
2. 発表標題 琉球諸島の皮膚病と、南の島での皮膚科医仕事.
3. 学会等名 第75回日本皮膚科学会西部支部学術大会
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
---------	---------