

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09560

研究課題名(和文)腎細胞癌・尿路上皮癌における腫瘍内および全身性免疫環境の統合的解析

研究課題名(英文)Integrated Analysis of Intratumoral and Systemic Immune Environment in Renal Cell Carcinoma and Urothelial Carcinoma

研究代表者

元島 崇信 (Motoshima, Takanobu)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教

研究者番号：60726355

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：PBMC(末梢血単核細胞)試料は、ICI治療開始前(ベースライン)およびICI治療1サイクル後(投与後1)2または3週間後に、進行性および転移性腎細胞がん(RCC)患者から前向きに収集した。まず、治療に反応しなかったグループ(SD: Stable Disease, PD: Progressive Disease)と治療に反応したグループ(PR: Partial Response, CR: Complete Response)の薬剤投与前後を比較した。その結果、CD4陽性細胞、単球：CD56-HLADR+やCD4 Effector細胞がバイオマーカーとして有望な可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

淡明型腎細胞癌は腎癌の中でも最も頻度の高い組織型である。免疫チェックポイント阻害薬の登場により、治療効果が大幅に改善したものの完全奏効にまで至る症例は少ない。治療選択の決め手となるバイオマーカーや検査項目の基準は存在しない。我々は今回の研究の様に腎癌患者の末梢血細胞を用いるより低侵襲な手段で検体を採取して、CytOFによるランドスケープ解析を行うことで免疫療法に対する治療効果や免疫関連有害事象(irAE)との相関する細胞集団を同定することで患者様それぞれの腫瘍によって異なる個別化医療開発の基盤を形成することが出来る。

研究成果の概要(英文)：PBMC (peripheral blood mononuclear cell) samples were prospectively collected from patients with advanced and metastatic renal cell carcinoma (RCC) before the start of ICI treatment (baseline) and 2 or 3 weeks after one cycle of ICI treatment (post-dose 1). First, they compared pre- and post-treatment responses of the non-responders (SD: Stable Disease, PD: Progressive Disease) and responders (PR: Partial Response, CR: Complete Response). The results suggest that CD4 positive cells, monocytes: CD56-HLADR+ and CD4 Effector cells may be promising biomarkers.

研究分野：腎癌免疫療法

キーワード：腎癌 免疫療法 免疫関連副作用 Cytof

1. 研究開始当初の背景

近年、腎細胞癌・尿路上皮癌の薬物療法においても抗 PD-1 抗体薬が使用可能となったが、当院の解析では腎細胞癌投与症例では、約 4 割の患者が半年で癌進展を認めていて、進行性尿路上皮癌投与症例では 1 年全生存率は約 2 割と多くの患者が恩恵を受けていないのが現状である。その原因の一つとして癌細胞側では HLA あるいは抗原提示に関わる分子群 (Antigen presenting machinery, APM) の発現低下や免疫抑制分子の発現増加、宿主側では強い免疫抑制作用を有する免疫細胞の存在により十分な治療効果が発揮されていない事が考えられる。免疫抑制に関わる非腫瘍性細胞としては制御性 T 細胞 (Treg) や腫瘍随伴マクロファージ (Tumor-associated macrophage, TAM) 免疫抑制性ミエロイド細胞 (Myeloid-derived suppressor cell, MDSC) が知られている。近年、リンパ球/好中球比が ICB の効果予測に有用であるとの報告 (Eur J Cancer. 2018;89:56) やヒトにおける MDSC の概念はまだ確立されていないがこれまであまり注目がされていなかった好中球を MDSC と捉え始めている研究者も多くなってきており、既知の概念を超えた新たな細胞集団が免疫抑制に関与している可能性もある。更に、PD-L1 が発現していない癌症例にも抗 PD-1 抗体の治療効果を認めている症例が存在するが、これは TAM に PD-L1/L2 が発現している事が関係しているとも言われており、TAM の免疫抑制に関わる重要性が更に指摘されている。全身の免疫状態を反映する末梢血中の免疫関連分子を表面抗原のみならず細胞内蛋白質やシグナル分子を組み合わせる超多次元的に解析可能なマスマイトメーター (CyTOF2) を用いて同一症例で系統的に解析して進行性癌患者における全身の免疫抑制に関わる新たな細胞群の同定に挑む事を計画した。

2. 研究の目的

近年、免疫細胞に関する概念がミエロイド系細胞を中心に著しく変化しつつある。マクロファージ・TAM に関して、CD163 や CD204 を高発現するフェノタイプが腫瘍促進性の性質を有していることが明らかとなりつつある。元々、単球からマクロファージに分化する過程の微小環境の違いで、炎症性の性質を有する M1 タイプと抗炎症作用を有する M2 タイプといった正反対の性質を有する細胞に分かれると言われていたが、実際は明瞭に 2 つに分かれるのではなく CD163 や CD204 を高発現するフェノタイプは M2-like で、免疫抑制性の性質も有しているといったバランス的な概念が提唱されている。リンパ球浸潤に関しても、これまでは CD8 や CD3 といった一般的な T 細胞マーカーを解析に使用することが通例であったが、近年、記憶 T 細胞の活性化マーカーである CD103 を組み合わせた解析が最も予後と相関することも泌尿器癌以外の癌腫で報告されている。(Nat Med. 2018; 24: 986-993.) これら TAM やリンパ球を含めた免疫細胞に関しては、近年、腫瘍内免疫微小環境 (Tumor immune microenvironment, TIME) と呼称されており、治療標的としてのみならず、予後や免疫療法の効果予測因子としても注目されつつある。進行性腎細胞癌、膀胱癌患者における腫瘍組織内および末梢血中の多様な細胞集団を広く解析して、ICB の治療抵抗性や予後改善に繋がる既知の概念を超えた未知の細胞集団の同定を行い、進行性腎細胞癌、膀胱癌患者における腫瘍組織内および末梢血中の多様な細胞集団を広く解析して、ICB の治療抵抗性や予後改善に繋がる既知の概念を超えた未知の細胞集団の同定を行い、個別化医療の実現へと展開する事を目的とした。

3. 研究の方法

進行性および転移性腎細胞がん(RCC)患者を対象として、PBMC(末梢血単核細胞)を採取した。血液サンプルは、ICI治療開始前(Baseline: BL)およびICI治療1サイクル後または3週間後(Post-dose-1:PD1)に、前向きに収集した。(図1)24名の患者から採取した5万個以上のPBMCを、以下の抗体(図2)を用いて解析した。

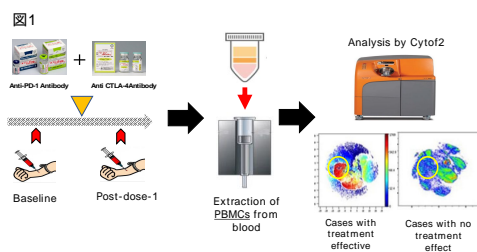


図2

T cell line	B cell line	Immune checkpoint molecule	Monocytes, Macrophages	DC
CD3	CD19	CD223 (LAG3)	CD68	CD11c
CD4	CD27	CD279(PD1)	CD16	CD123
CXCR3 CD183		TIM3	CD56	
T-Bet		CD152(CTLA4)	CD11b	
GATA3		CD278 (ICOS)	CD33	
CCR4 CD194		FOXP3	HLA-DR	
ROR			CD14	
CCR6 CD196			CD74	
CXCR5 CD185				
CCR7 CD197				
CD8				
CD45RA				
CD45RO				
CD62L				
CD28				

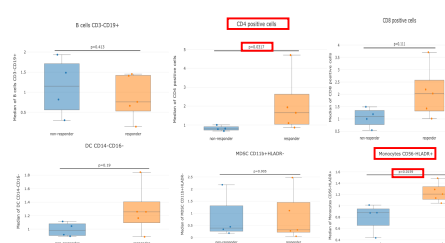
4. 研究成果

細胞数が50,000個以上のLive cellを解析し、Responder(CR:完全奏効/PR:部分奏効)と区別した:部分奏効(CR:Complete Response/PR:Partial Response)とNon-responder(PD:Progression disease/SD:Stable disease)に区別して解析した。

治療に反応しなかったグループ(SDまたはPD)と治療に反応したグループ(PRまたはCR)における薬剤投与前後のFold Change(FC)による比較

CD4陽性細胞(Non-responder中央値0.79 vs Responder中央値1.64, $p=0.0317$)、単球(Non-responder中央値0.87 vs Responder中央値1.20, $p=0.0159$)においてFCが優位に上昇を認めたが、他の細胞集団では認められなかった。

図3



治療効果を認めなかった群(SDまたはPD)と治療効果を認めた群(PRまたはCR)における薬剤投与前後(BL vs PD1)での細胞集団の比較

治療前のバイオマーカー細胞集団は特定できなかったが、CD4 Effector細胞(CD4+CD45RO-CD197-)の細胞数は、治療後(PD1)群(PRまたはCR)で、非治療群(SDまたはPD)より有意に高かった。 $(p=0.0303)$

図4



これまでの報告でKagamuらは、末梢血中のCD4+T細胞免疫状態が、NSCLC患者におけるPD-1遮断療法の治療成績を決定する重要な因子である⁽¹⁾という報告がある他にDanielらは、CD4T細胞は、CTLのプライミング、遊走能、殺傷活性、および生存を促進するため、有効な抗腫瘍免疫を発揮するために必要であると述べている⁽²⁾。

今回、我々の解析においても治療前後のCD4陽性細胞および単球(CD56-HLADR+)の上昇、治療後のCD4 Effector細胞(CD4+CD45RO-CD197-)の数は、治療効果のバイオマーカーとなり得る事が示されており、CD4細胞集団が免疫チェックポイント阻害薬治療におけるバイオマーカーになる可能性が示された。

<引用索引>

- 1) Cancer Immunol Res 2020 Vol. 8 Issue 3 Pages
- 2) Nat Rev Immunol 2018;18:635-47. 334-344

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Anami, Toshiaki Komohara, Yoshihiro Miura, Yuji Yamanaka, Kotaro Kurahashi, Ryoma Segawa, Takuya Motoshima, Takanobu Murakami, Yoji Yatsuda, Junji Yamaguchi, Takahiro Sugiyama, Yutaka Jinnouchi, Yoshiteru Kamba, Tomomi	4. 巻 54
2. 論文標題 High T-cell infiltration in tumor tissue and younger age predict the response to pembrolizumab in recurrent urothelial cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Med Mol Morphol	6. 最初と最後の頁 316-323
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00292-8	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 Miura, Y. Anami, T. Yatsuda, J. Motoshima, T. Oka, S. Suyama, K. Inoshita, N. Kinowaki, K. Urakami, S. Kamba, T. Komohara, Y.	4. 巻 41
2. 論文標題 HLA-DR and CD74 Expression and the Immune Microenvironment in Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 2841-2848
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15065	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 Unasaki, S. Mehanna, S. Ma, W. Nishizawa, H. Kamikubo, Y. Sugiyama, H. Ikeda, S. Motoshima, T. Hasumi, H. Linehan, W. M. Schmidt, L. S. Ricketts, C. Suda, T. Oike, Y. Kamba, T. Baba, M.	4. 巻 -
2. 論文標題 Targeting chemoresistance in Xp11.2 translocation renal cell carcinoma using a novel polyamide-chlorambucil conjugate	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Sci	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) 10.1111/cas.15364	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 Yamamoto, K. Ioroi, T. Shinomiya, K. Yoshida, A. Harada, K. Fujisawa, M. Omura, T. Ikemi, Y. Nakagawa, S. Yonezawa, A. Ogawa, O. Matsubara, K. Iwamoto, T. Nishikawa, K. Hayashi, S. Tohara, D. Murakami, Y. Motoshima, T. Jono, H. Yano, I.	4. 巻 29
2. 論文標題 STAT3 Polymorphism Associates With mTOR Inhibitor-Induced Interstitial Lung Disease in Patients With Renal Cell Carcinoma	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Oncol Res	6. 最初と最後の頁 11-23
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3727/096504022X16418911579334	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 Kurahashi Ryoma, Motoshima Takanobu, Fukushima Yumi, Murakami Yoji, Yatsuda Junji, Yamaguchi Takahiro, Sugiyama Yutaka, Fukushima Satoshi, Komohara Yoshihiro, Suekane Shigetaka, Kamba Tomomi	4. 巻 3
2. 論文標題 Remarkable antitumor effect of nivolumab in a patient with metastatic renal cell carcinoma previously treated with a peptide based vaccine	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 IJU Case Reports	6. 最初と最後の頁 44 ~ 48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iju5.12139	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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Takanobu Motoshima
2. 発表標題 Panel discussion on clinical cases: How do you treat this patient? Differences in approaches?
3. 学会等名 America Urology Association Annual Meeting 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島 崇信
2. 発表標題 転移性腎細胞癌に対しては、薬物療法に先行して腎摘除術を行う事がまっとうか? Upfront nephrectomy に対する疑問点
3. 学会等名 第73回西日本泌尿器科学会総会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島崇信、原田成美、石崎宏志、野尻拓矢、倉橋竜磨、福島結美、脊川卓也、村上洋嗣、矢津田旬二、山口隆大、杉山豊、神波大己
2. 発表標題 RAPNを施行して好酸性乳頭状腎細胞癌と診断された2例
3. 学会等名 第10回日本泌尿器病理研究会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 元島 崇信
2. 発表標題 熊本大学病院における進行性腎細胞癌に対するカボザンチニブ投与の初期経験
3. 学会等名 第109回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島 崇信、背川 卓也、倉橋 竜磨、村上 洋嗣、矢津田 旬二、杉山 豊、山口 隆大、西 一彦、神波 大己
2. 発表標題 熊本大学病院におけるがん複合免疫療法の治療効果と副作用の発現
3. 学会等名 第59回日本がん治療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島 崇信、野尻 拓矢、倉橋 竜磨、村上 洋 嗣、矢津田 旬二、山口 隆大、杉山 豊、川上 史、三上 芳喜、神波 大己
2. 発表標題 生検で尿路上皮癌由来の癌肉腫と診断さ れ、ペンブロリズマブが著効した嫌色素 性腎細胞癌由来の癌肉腫の1例
3. 学会等名 第19回日本臨床腫瘍学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島 崇信、背川 卓也、倉橋 竜磨、村上 洋嗣、矢津田 旬二、杉山 豊、山口 隆大、神波 大己
2. 発表標題 10次治療にカボザンチニブを導入して腫瘍縮小効果を示した進行性腎細胞癌の一例
3. 学会等名 第7回日本泌尿器腫瘍学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島 崇信
2. 発表標題 これまでのエビデンスから進行腎癌の腫瘍減量手術を考える
3. 学会等名 第7回日本泌尿器腫瘍学会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 元島 崇信、山中 広太郎、倉橋 竜磨、村上 洋嗣、矢津田 旬二、杉山 豊、山口 隆大、西 一彦、神波 大己
2. 発表標題 熊本大学病院におけるニボルマブとイピリムマブ併用療法の経験
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 元島 崇信、倉橋 竜磨、村上 洋嗣、矢津田 旬二、山口 隆大、杉山 豊、神波 大己
2. 発表標題 高齢女性に発症した転移性腎原発性神経内分泌腫瘍の一例
3. 学会等名 第9回日本泌尿器病理研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 元島 崇信、穴見 俊樹、山中 広太郎、倉橋 竜磨、村上 洋嗣、矢津田 旬二、山口 隆大、杉山 豊、西 一彦、神波 大己
2. 発表標題 熊本大学における分子標的薬の進行性腎癌に対する治療成績の検討
3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2020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
研究分担者	馬場 理也 (Baba Masaya) (10347304)	熊本大学・国際先端医学研究機構・准教授 (17401)	
研究分担者	三浦 裕司 (Miura Yuji) (10453698)	(財) 冲中記念成人病研究所・その他部局等・研究員 (72696)	
研究分担者	神波 大己 (Kamba Tomomi) (20402836)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授 (17401)	
研究分担者	矢津田 旬二 (Yatsuda Jyunji) (20749626)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・講師 (17401)	
研究分担者	菰原 義弘 (Komohara Yoshihiro) (40449921)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・教授 (17401)	
研究分担者	杉山 豊 (Sugiyama Yutaka) (40709292)	熊本大学・病院・助教 (17401)	
研究分担者	倉橋 竜磨 (Kurahashi Ryoma) (80867945)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教 (17401)	

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1件

国際研究集会 2023 AACR(American Association for Cancer Research) Annual meeting	開催年 2023年 ~ 2023年
--	----------------------

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
---------	---------