

平成30年5月9日現在

機関番号：14101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K19993

研究課題名(和文)骨軟部腫瘍の免疫チェックポイント機構の解析

研究課題名(英文)Analysis of immune check point of musculoskeletal tumor

研究代表者

柿本 拓也(TAKUYA, KAKIMOTO)

三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト

研究者番号：50741162

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：がん精巢抗原などの免疫チェックポイント機構は、ここ数十年で悪性腫瘍の診断マーカーや治療のターゲットとして、注目されてきた。最近PD-1, PD-L1, NY-ESO-1, MAGE-A4などの分子が、様々な新生物で発現していることが報告されている。しかし、高悪性度軟部肉腫においての報告は少ない。我々は、PD-L1が高悪性度軟部肉腫において発現していることや、NY-ESO-1とMAGE-A4が滑膜肉腫に高発現していること、NY-ESO-1が発現している軟部肉腫の予後が比較的良好であることなどを発見し、今後のがん免疫療法への進歩へとつながると考えている。

研究成果の概要(英文)：Immune check point such as Cancer testis antigens (CTA) have emerged over the last decade as both a diagnostic marker and a therapeutic target in malignant lesions. Recently, aberrant expression of PD-1, PD-L1, NY-ESO-1 and MAGE-A4 has been reported in a variety of neoplasms. However, there is only a limited report about those expression in high grade sarcoma. The purpose of this study is to examine those expression in high-grade soft tissue sarcomas and to evaluate the relationship between CTA expression and the various clinicopathological features. In this study, it was found that PD-L1 was expressed in soft tissue tumors and the NY-ESO-1 was expressed in more than half of samples of synovial sarcoma patients. The 5-years-overall survival rates were significantly higher in high grade sarcoma patients with NY-ESO-1 positive tumors than in those with NY-ESO-1 negative. Furthermore, we showed the MAGE-A4 was expressed only in more than half of synovial sarcoma patients.

研究分野：整形外科

キーワード：soft tissue sarcoma cancer testis antigen NY-ESO-1 MAGE-A4

1. 研究開始当初の背景

近年骨軟部腫瘍の治療成績は、抗腫瘍薬治療の進歩、画像診断技術の進歩、手術手技の改良など集学的治療法の進歩により大きく改善してきた。しかし、限局型の高悪性度軟部肉腫の累積5年生存率は依然60%程度であり(Lancet 350(9092):1647-54, 1997)、約半数の症例は肺転移をはじめとする遠隔転移をきたし予後不良の経過をとる。従ってこれら高悪性度骨軟部肉腫に対する、低侵襲で有効かつ安全な治療法の開発が強く望まれている。近年、腫瘍免疫に関わる大きな発見がなされている。がん細胞は免疫を制御するチェックポイントを利用してT細胞を抑制することにより攻撃から逃れているが、CTLA-4とPD-1は、いずれもT細胞表面上にある重要な抑制性の免疫チェックポイント分子であり、これらに対する抗体により機能を阻害し、T細胞の抑制を解除して活性化し抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなってきた(Wolchok, JD, et al: N Engl J Med 2013 369:122-133)。また、軟部肉腫の代表的組織型である滑膜肉腫では、Cancer testis antigenであるNY-ESO-1が発現しており、腫瘍特異的T細胞輸注療法の良いターゲットとなり得ることが明らかとなっている(Robbins et al, J Clin Oncol 2011 1;29(7):917-24)。がん免疫療法は、症例によっては持続的な治療効果も示されており、今後機序が異なる両者の適切な併用が重要と考えられている。一方、肉腫における免疫チェックポイント機構の存在の有無に関する報告はなく、その臨床的な意義についても明らかとなっていない。そこで我々は、骨軟部腫瘍患者の腫瘍組織を用いて、これら腫瘍免疫関連タンパクの発現に関する、臨床病理学的検討を計画した。また、滑膜肉腫に高発現しているNY-ESO-1は腫瘍特異的T細胞輸注療法の良い分子標的と考えられるが、その細胞生物学的な意義を明らかにしたいと考えている。これらを詳細に解析することにより、肉腫細胞周囲で展開されている腫瘍免疫の状態を客観的に評価したい。また患者血液や腫瘍組織内に存在する腫瘍免疫抑制性T細胞を分離解析することにより、腫瘍免疫学的見地から見たバイオマーカーとしての有用性を検証すると共に、肉腫における免疫抑制性T細胞をターゲットにした新しい治療法の開発につなげたいと考えている。

2. 研究の目的

(1) 高悪性度骨軟部肉腫における腫瘍免疫関連タンパク(PD-1, PD-L1)の発現パターンの解析と、臨床データ像(転移の有無や予後)との比較検討として、高悪性度骨軟部肉腫患者から採取した臨床サンプルにおけるPD-1, PD-L1の発現を免疫組織化学的染色法を用いて検討し、免疫チェックポイント分子発現パターンと患者の臨床データ(腫瘍のサイズ、腫瘍血管のパターン、血液生化学所見、患者の予後など)との関連性を統計的に検討す

る。

(2) 滑膜肉腫におけるNY-ESO-1、MAGE-A4の遺伝子発現パターンと臨床データ(転移の有無や予後)との比較検討として、高悪性度軟部肉腫症例でのNY-ESO-1、MAGE-A4の発現を免疫組織化学的染色法を用いて検討し、NY-ESO-1遺伝子発現パターンと、患者の臨床データ(腫瘍のサイズ、腫瘍血管のパターン、血液生化学所見、患者の予後など)との関連性を統計的に検討する。

3. 研究の方法

(1) 患者から生検時に採取した臨床サンプルにおけるPD-1, PD-L1の発現を免疫組織化学的染色法を用いて、詳細に検討した。当研究は、すでに三重大学の研究倫理委員会で承認されており、研究の意義を説明し理解を得た上で同意書に署名を受けた患者の臨床サンプルは既に存在しているので、研究にはこれを使用した。また、この研究によって得られた免疫チェックポイント分子発現パターンと、患者の臨床データ(腫瘍のサイズ、腫瘍血管のパターン、血液生化学所見、患者の予後など)との関連性を統計的に検討した。

(2) 高悪性度骨軟部肉腫でのNY-ESO-1、MAGE-A4の発現を、免疫組織化学的染色法を用いて、詳細に検討した。当研究は、すでに三重大学の研究倫理委員会で承認されており、研究の意義を説明し理解を得た上で同意書に署名を受けた患者の臨床サンプルは既に存在しているので、研究にはこれを使用した。また、この研究によって得られたNY-ESO-1、MAGE-A4の遺伝子発現パターンと、患者の臨床データ(腫瘍のサイズ、腫瘍血管のパターン、血液生化学所見、患者の予後など)との関連性を統計的に検討した。

4. 研究成果

PD-L1が高悪性度軟部肉腫において発現していた。NY-ESO-1とMAGE-A4が滑膜肉腫に高発現していた。また、NY-ESO-1は、粘液型脂肪肉腫にも高発現していた。NY-ESO-1が発現している軟部肉腫の予後が比較的良好であるが、組織型によるバイアスがかかっている可能性がある。また、滑膜肉腫において、NY-ESO-1とMAGE-A4の発現は重なっていない症例が存在し、各々のがん免疫療法を使用可能と判明したため、今後のがん免疫療法への進歩へとつながると考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計5件)

奥山 典孝, 北尾 淳, 森本 剛司, 岡村 直樹, 柿本拓也, リウマチ性関節症にtrabecular metal coneを用いてTKAを行った1例 中部日本整形外科災害外科学会雑誌 60(5)873-874, 2017, DOI: 10.11359/chubu.2017.873, 査読有 柿本拓也, 北尾 淳, 森本 剛司, 奥山 典

孝, 岡村 直樹 直達外力による大腿骨内顆軟骨損傷の3例 中部日本整形外科学会雑誌 60(2):325-326,2017、DOI : 10.11359/chubu.2017.325、査読有

Oi T, Asanuma K, Matsumine A, Matsubara T, Nakamura T, Iino T, Asanuma Y, Goto M, Okuno K, Kakimoto T, Yada Y, Sudo A. STAT3 inhibitor, cucurbitacin I, is a novel therapeutic agent for osteosarcoma. *Int J Oncol.* 49(6):2275-2284,2016、doi: 10.3892/ijo.2016.3757、査読有

Matsumine A, Tsujii M, Nakamura T, Asanuma K, Matsubara T, Kakimoto T, Yada Y, Takada A, Ii N, Nomoto Y, Sudo A. Minimally invasive surgery using intraoperative electron-beam radiotherapy for the treatment of soft tissue sarcoma of the extremities with tendon involvement. *World J Surg Oncol.* 14(1):214,2016、doi: 10.1186/s12957-016-0968-4、査読有

Asanuma K, Matsumine A, Nakamura T, Matsubara T, Asanuma Y, Oi T, Goto M, Okuno K, Kakimoto T, Yada Y, Sudo A. Impact of plasma fibrinogen levels in benign and malignant soft tissue tumors. *Cancer Biomark.* 16(3):453-8,2016、doi:10.3233/CBM-160584、査読有

〔学会発表〕(計 32 件)

北尾 淳、森本剛司、岡村直樹、柿本拓也、須藤啓広、脛骨プラトーの軟骨欠損に対する逆行性自家骨軟骨柱移植術、第9回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会、平成29年6月22-24日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)
柿本拓也、北尾 淳、森本剛司、岡村直樹、須藤啓広、特発性大腿骨内顆骨壊死に対して自家骨軟骨柱移植術と高位脛骨骨切り術を併施した治療経験、第9回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会、平成29年6月22-24日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)

Asanuma K, Matsumine A, Matsubara T, Nakamura T, Asanuma Y, Kakimoto T, Yada Y, Sudo A. Impact of Thrombomodulin on Metastasis and Prognosis in High Grade Soft Tissue Sarcoma Patients. *Orthopaedic Research Society 2016 Annual Meeting* March 5-8 2016, (Orlando FL USA)

Kakimoto T, Matsumine A, Asanuma K, Matsubara T, Nakamura T, Yada Y, Iino T, Sudo A. Immunohistochemical Expression and Clinicopathological Assessment of Cancer Testis Antigens (NY-ESO-1, MAGE-A4) in High Grade Soft

Tissue Sarcoma. *Orthopaedic Research Society 2016 Annual Meeting* March 5-8 2016, (Orlando FL USA)

Iino T, Matsumine A, Matsubara T, Okuno K, Chiba K, Yada Y, Kakimoto T, Nakamura T, Asanuma K, Sudo A. Effect of Chronic Hypoxic Environment on Fibrosarcoma Cell Line (HT1080). *Orthopaedic Research Society 2016 Annual Meeting* March 5-8 2016, (Orlando FL USA)

Matsumine A, Nakamura T, Asanuma K, Matsubara T, Kakimoto T, Ii N, Nomoto Y, Sudo A. The Intraoperative Radiation Therapy for the Soft Tissue Sarcomas Involving the Tendon. *The 11th Meeting of the Asia Pacific Musculoskeletal Tumour Society* April 21-23 2016, (Singapore)

Yada Y, Nakamura T, Kakimoto T, Matsubara T, Asanuma K, Sudo A. The Clinical Outcome of Malignant Peripheral Nerve Sheath Tumor. *The 11th Meeting of the Asia Pacific Musculoskeletal Tumour Society* April 21-23 2016, (Singapore)

Kakimoto T, Matsumine A, Nakamura T, Matsubara T, Asanuma K, Yada Y, Sudo A. The Clinical Outcomes of Total Femur Prosthesis in Patients with Musculoskeletal Tumors. *The 11th Meeting of the Asia Pacific Musculoskeletal Tumour Society* April 21-23 2016, (Singapore)

Matsumine A, Tsujii M, Nakamura T, Asanuma K, Matsubara T, Kakimoto T, Yada Y, Hagi T, Takada A, Ii N, Nomoto Y, Sudo A. Minimally-invasive Surgery using Intraoperative Electron-beam Radiotherapy for the Soft Tissue Sarcoma with Tendon Involvement. *Connective Tissue Oncology Society Annual Meeting 2016* November 9-12 2016, (Lisbon Portugal)

Kakimoto T, Matsumine A, Asanuma K, Matsubara T, Nakamura T, Yada Y, Hagi T, Iino T, Kitao A, Sudo A. Exosome Derived from Osteosarcoma Cell Line with Highly Pulmonary Metastatic Potential Promote Cell Proliferation and Movement of Osteosarcoma Cells. *Connective Tissue Oncology Society Annual Meeting 2016* November 9-12 2016, (Lisbon Portugal)

Hagi T, Nakamura T, Yada Y, Kakimoto T, Matsubara T, Asanuma K, Matsumine A, Sudo A. Neutrophil-lymphocyte Ratio as Prognostic Predictors in Patients with Soft Tissue Sarcoma. *Connective Tissue Oncology Society*

Annual Meeting 2016 November 9-12 2016, (Lisbon Portugal)

柿本拓也、松峯昭彦、浅沼邦洋、松原孝夫、中村知樹、飯野隆大、矢田祐基、萩智仁、須藤啓広、骨肉腫の肺転移に関わる exosome の解析、第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、平成 28 年 10 月 13-14 日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

矢田祐基、浅沼邦洋、柿本拓也、中村知樹、松原孝夫、松峯昭彦、須藤啓広 骨肉腫に対する pazopanib , crizotinib 併用の効果 第 31 回日本整形外科学会基礎学術集会、平成 28 年 10 月 13-14 日、福岡国際会議場（福岡県福岡市）

柿本拓也、北尾 淳、森本剛司、奥山典孝、岡村直樹、直達外力による大腿骨内顆軟骨損傷の 3 例、第 127 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会、平成 28 年 9 月 30 日-10 月 1 日、まつもと市民芸術館・ホテルブエナビスタ（長野県松本市）

浅沼邦洋、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、柿本拓也、矢田祐樹、須藤啓広、高悪性度軟部肉腫の原発巣 doubling time を基準とした病態の解明、第 49 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 28 年 7 月 14-15 日、東京ドームホテル（東京都文京区）

矢田祐基、浅沼邦洋、松峯昭彦、松原孝夫、中村知樹、柿本拓也、松山優実、須藤啓広、術前に denosumab を投与し切除した肋骨骨巨細胞腫の 1 例、第 49 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 28 年 7 月 14-15 日、東京ドームホテル（東京都文京区）

松峯昭彦、影山慎一、柿本拓也、浅沼邦洋、松原孝夫、中村知樹、池田裕明、内田淳正、珠玖 洋、須藤啓広、軟部肉腫に対する TCR 改変 T 細胞を用いた免疫細胞輸注療法、第 89 回日本整形外科学会学術総会、平成 28 年 5 月 12-15 日、パシフィコ横浜（神奈川県横浜市）

影山慎一、池田裕明、珠玖 洋、柿本拓也、松峯昭彦、滑膜肉腫に対する TCR 改変 T 細胞を用いた免疫細胞輸注療法、第 53 回日本癌治療学会学術集会、平成 27 年 10 月 29-31 日、国立京都国際会館（京都府京都市）

浅沼邦洋、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、浅沼由美子、奥野一真、柿本拓也、須藤啓広、血液凝固因子にマスクされた癌転移関連因子の解析、第 30 回日本整形外科学会基礎学術集会、平成 27 年 10 月 22-23 日、富山国際会議場（富山県富山市）

柿本拓也、松峯昭彦、奥野一真、飯野隆大、中村知樹、松原孝夫、浅沼邦洋、須藤啓広、高悪性度軟部肉腫における PD-L1 発現の臨床病理学的検討、第 30

回日本整形外科学会基礎学術集会、平成 27 年 10 月 22-23 日、富山国際会議場（富山県富山市）

②① 浅沼邦洋、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、柿本拓也、須藤啓広、原発性骨腫瘍における骨マーカーの比較、第 125 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会、平成 27 年 10 月 2-3 日、ウインクあいち（愛知県名古屋市）

②② 柿本拓也、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、浅沼邦洋、須藤啓広、初診時に遠隔転移を有する軟部肉腫症例の検討、第 125 回中部日本整形外科災害外科学会・学術集会、平成 27 年 10 月 2-3 日、ウインクあいち（愛知県名古屋市）

②③ 奥野一真 松原孝夫 中村知樹 浅沼邦洋 松峯昭彦 柿本拓也 須藤啓広、骨肉腫における CA IX の発現と予後の検討、第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会、平成 27 年 7 月 23-24 日、シティプラザ大阪（大阪府大阪市）

②④ 柿本拓也、松峯昭彦、奥野一真、中村知樹、松原孝夫、浅沼邦洋、須藤啓広、高悪性度軟部肉腫における NY-ESO-1 発現の臨床病理学的検討、第 24 回日本がん転移学会学術集会・総会、平成 27 年 7 月 23-24 日、シティプラザ大阪（大阪府大阪市）

②⑤ 松峯昭彦、浅沼邦洋、松原孝夫、中村知樹、奥野一真、柿本拓也、伊井憲子、野本由人、須藤啓広、骨皮質浸潤を強く疑う肉腫症例に対する片側骨皮質処理骨移植の治療成績、第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 27 年 7 月 9-10 日、かがわ国際会議場（香川県高松市）

②⑥ 松峯昭彦、浅沼邦洋、松原孝夫、中村知樹、奥野一真、柿本拓也、須藤啓広、がん診療における整形外科医の役割 -Tumor Board での検討症例から-、第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 27 年 7 月 9-10 日、かがわ国際会議場（香川県高松市）

②⑦ 浅沼邦洋、松峯昭彦、中村知樹、奥野一真、柿本拓也、松原孝夫、須藤啓広、悪性軟部腫瘍における血中マトリックスメタンと転移、第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 27 年 7 月 9-10 日、かがわ国際会議場（香川県高松市）

②⑧ 奥野一真、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、浅沼邦洋、柿本拓也、須藤啓広、骨・軟部肉腫の肺外転移症例の検討、第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 27 年 7 月 9-10 日、かがわ国際会議場（香川県高松市）

②⑨ 柿本拓也、松峯昭彦、奥野一真、中村知樹、松原孝夫、浅沼邦洋、須藤啓広、大腿部悪性骨・軟部腫瘍に対する大腿骨全置換術の治療成績、第 48 回日本整形外

科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 27 年 7 月 9-10 日、かがわ国際会議場（香川県高松市）

- ③① 松峯昭彦、浅沼邦洋、中村知樹、松原孝夫、柿本拓也、奥野一真、内田淳正、浜藤啓広、骨盤腫瘍手術における再建方法、第 48 回日本整形外科学会骨・軟部腫瘍学術集会、平成 27 年 7 月 9-10 日、かがわ国際会議場（香川県高松市）
- ③① 浅沼邦洋、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、浅沼由美子、奥野一真、柿本拓也、浜藤啓広、軟部腫瘍における血中 type collagen 7S 値の検討、第 88 回日本整形外科学会学術総会、平成 27 年 5 月 21-24 日、神戸ポートピアホテル（兵庫県神戸市）
- ③② 柿本拓也、松峯昭彦、中村知樹、松原孝夫、浅沼邦洋、浜藤啓広、当院の骨軟部腫瘍治療における陰圧創傷治療システムの使用経験、第 124 回中部日本整形外科・災害外科学術集会、平成 27 年 4 月 10-11 日、ホテル日航金沢（石川県金沢市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

柿本拓也 (KAKIMOTO, Takuya)

三重大学・医学系研究科・リサーチアソシエイト

研究者番号：50741162

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()