

令和 2 年 4 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10532

研究課題名(和文) 難治性固形癌の局所免疫環境に着目した手術期の個別化免疫化学療法の開発

研究課題名(英文) Development of immunotherapy following curative resection for refractory solid cancers

研究代表者

土川 貴裕 (Tsuchikawa, Takahiro)

北海道大学・大学病院・講師

研究者番号：50507572

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)：本研究期間内に、膵癌微小環境に発現する異所性リンパ組織：Tertiary Lymphoid Organs (TLOs)に着目し臨床病理学的意義と患者予後に与える影響について検討した。今回の研究結果から、術前化学放射線療法による腫瘍崩壊に伴い腫瘍関連抗原が腫瘍微小環境内に放出されることでマクロファージによる抗原提示、免疫担当細胞の増殖能の増加、CD8陽性細胞傷害性T細胞の活性化、リンパ球遊走のための高内皮細胞静脈の誘導が活性化される一方で、免疫逃避機構に関与するPD-1陽性リンパ球が抑制され、NAC群患者における腫瘍局所の免疫環境を促進し、予後向上に寄与する可能性があることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、難治性癌の治療は手術、抗癌剤、放射線治療などを術前・術後に組み合わせた形での集学的治療が標準的である。本研究により、抗癌剤による腫瘍崩壊の結果生じる多種多様な腫瘍抗原特異的抗体や局所での化学療法抵抗性をモニタリングすることが可能となり、その結果 術前抗癌剤投与による殺細胞効果と特異的免疫誘導効果の至適バランスの掌握、根治的外科手術を施行する適切なタイミングの掌握、そして誘導された特異的免疫能を損なわず、再発予防のための抗腫瘍免疫能を術後の適切な期間維持するための補助化学(放射線)療法の継続期間設定が可能となり、様々な癌種の個別化治療戦略に応用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The efficacy of preoperative neoadjuvant chemoradiotherapy (NAC) in cases of pancreatic cancer with extremely poor prognoses has been investigated. We aimed to develop novel biomarkers that reflect prognoses following chemoradiotherapy using tertiary lymphoid organs (TLO) expressed in the tumor microenvironment. In the IHC analysis, the proportions of CD8+ T lymphocytes, PNA⁺ high endothelial venules, CD163+ macrophages and Ki-67+ cells within the TLO were higher in the NAC group than in the surgery first (SF) group. In contrast, the proportion of programmed cell death 1+ immunosuppressive lymphocytes within TLO was lower in the NAC group than in the SF group. The NAC group demonstrated favorable prognoses compared with the SF group. We demonstrated that the administration of preoperative chemoradiotherapy may influence the immunological elements in the tumor microenvironment and result in favorable prognoses in pancreatic ductal adenocarcinoma patients.

研究分野：腫瘍免疫学、腫瘍外科学、外科学

キーワード：難治性癌 集学的治療 免疫療法 モニタリング 術前化学療法 根治切除

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、様々な癌種で術前化学療法が施行され、術後補助療法と比較して予後良好であることが報告されている。従来、抗癌剤は宿主免疫を抑制すると考えられてきたが、ある種の抗癌剤は癌細胞が抗原提示細胞に取り込まれる際の、免疫原性を高める作用を有することが明らかになっており、教室では培養細胞や動物モデルを用いてそのメカニズムを明らかにするとともに、術前化学療法後の各種癌切除検体を用いて、抗癌剤が癌局所免疫環境に及ぼす正の影響を検証してきた。その結果、術前化学療法後の切除検体には有意に免疫細胞の浸潤が多く、癌細胞に対する種々のストレス反応や周囲微小環境への作用を介して抗腫瘍免疫を誘導する効果があることを明らかにした。この知見を元に、術前化学療法施行後の手術検体の免疫組織学的な解析をすすめ、食道癌・膵癌において、抗癌剤投与により CD4, CD8, CDRO, HLAclass , Treg などの細胞性免疫に関連する因子が変化することを明らかにしてきた。

2. 研究の目的

抗癌剤が免疫誘導と抑制を来すそれぞれの投与量は明らかではないが、これまで化学療法の有効性は直接的殺細胞効果に基づく画像上の腫瘍縮小効果のみに焦点を当てて評価されており、このような免疫誘導メカニズムを視野に入れた適確な化学療法プロトコルは確立されていない。以上より、抗癌剤により誘導された局所浸潤リンパ球や液性免疫が腫瘍特異的免疫能を保持しているかを検証し、このような獲得免疫能が術後の微小遺残癌細胞の増大と再発病変を阻止し得るような新たな個別化免疫化学療法の戦略を開発することを目的とした。

3. 研究の方法

本研究計画では、(1) 抗癌剤による癌細胞の抗原性増強メカニズムの基礎的検証とその免疫反応モニタリング方法を樹立する。(2) SEREX 法による抗癌剤投与後の液性免疫誘導の網羅的評価を行う。(3) 免疫反応を誘導するために最適な抗癌剤の種類、投与量、投与プロトコルを確立する。以上の3つの方法を確立することによって、臨床試験による癌再発予防効果を検証する

4. 研究成果

本研究期間3年間の研究で抗癌剤や放射線照射が、癌細胞に対する直接の殺細胞効果以外に、宿主の癌局所免疫環境を修飾し予後に影響を与える可能性があることが明らかになった。このメカニズムとして抗原提示機構である HLA class I 分子の発現低下抑制、CD4, CD8 陽性 T リンパ球浸潤の促進や抑制性 T 細胞(Treg)の浸潤抑制が関与することを切除標本の免疫組織学的解析を行うことによって明らかにした。またこの局所免疫修飾作用は癌種と抗癌剤の組み合わせにより免疫増強にも免疫抑制にもなり得ることも判明した。さらに抗癌剤が膵癌局所の免疫系に与えるメカニズムを解析するために、ヒト膵癌培養細胞を用いた実験系を構築した。in vitro の実験系で、膵癌細胞に対して Gemcitabine , 5FU を至適濃度で添加共培養したところ GM-CSF (顆粒球単球コロニー刺激因子) の発現亢進と共に、ミエロイド細胞から MDSC(Myeloid-derived suppressor cells)への分化促進と T 細胞の増殖阻害が生じることが示された。抗 GM-CSF 抗体を用いて阻害実験を行ったところ MDSC 誘導、T 細胞増殖阻害が抑制され、この活性化には MAPK や NF- κ B 経路が関与することが示唆された。さらに 68 例の膵癌切除切片 TMA の免疫組織学的解析により GM-CSF 強発現症例は有意に予後不良で、術前化学療法施行症例では有意に MDSC が増加することが明らかとなった。この他、膵癌間質における palladin 発現細胞や、異所性リン

パ節の出現が膵癌術前化学療法後の予後良好症例を判断するためのバイオマーカーとなることを解明した。また胆道癌において PD-L1 発現が予後に与える影響や、Epithelial mesenchymal transition と局所免疫との相関メカニズムについても解明した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hontani Koji, Tsuchikawa Takahiro, Hiwasa Takaki, Nakamura Toru, Ueno Takashi, Kushibiki Toshihiro, Takahashi Mizuna, Inoko Kazuho, Takano Hironobu, Takeuchi Satoshi, Dosaka-Akita Hirotohi, Kuwatani Masaki, Sakamoto Naoya, Hatanaka Yutaka, Mitsuhashi Tomoko, Shimada Hideaki, Shichinohe Toshiaki, Hirano Satoshi	4. 巻 8
2. 論文標題 Identification of novel serum autoantibodies against EID3 in non-functional pancreatic neuroendocrine tumors	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 106206-221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.22175	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 2.Wada M, Tsuchikawa T, Kyogoku N, Abiko T, Miyauchi K, Takeuchi S, Kuwatani T, Shichinohe T, Miahara Y, Kageyama S, Ikeda H, Shiku H, Hirano S	4. 巻 38
2. 論文標題 Clinical Implications of CD4+CD25+Foxp3+Regulatory T Cell Frequencies After CHP-MAGE-A4 Cancer Vaccination	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1435-1444
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancer.12368	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 Abiko Takehiro, Tsuchikawa Takahiro, Miyauchi Kengo, Wada Masataka, Kyogoku Noriaki, Shichinohe Toshiaki, Miyahara Yoshihiro, Kageyama Shinichi, Ikeda Hiroaki, Shiku Hiroshi, Hirano Satoshi	4. 巻 15
2. 論文標題 Serum immunoglobulin E response as a marker for unfavorable prognosis following cholesteryl pullulan-MAGE A4 vaccination	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 3703-3711
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ol.2018.7767	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 Ueno Takashi, Tsuchikawa Takahiro, Hatanaka Kanako C., Hatanaka Yutaka, Mitsuhashi Tomoko, Nakanishi Yoshitsugu, Noji Takehiro, Nakamura Toru, Okamura Keisuke, Matsuno Yoshihiro, Hirano Satoshi	4. 巻 9
2. 論文標題 Prognostic impact of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression and its association with epithelial-mesenchymal transition in extrahepatic cholangiocarcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 20034-47
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.18632/oncotarget.25050	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 5. Kuwabara S, Tsuchikawa T, Nakamura T, Hatanaka Y, Hatanaka KC, Sasaki K, Ono M, Umemoto K, Suzuki T, Sato O, Hane Y, Nakanishi Y, Asano T, Ebihara Y, Kurashima Y, Noji T, Murakami S, Okamura K, et al.	4. 巻 110
2. 論文標題 Prognostic relevance of tertiary lymphoid organs following neoadjuvant chemoradiotherapy in pancreatic ductal adenocarcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 1853-1862
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14023	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 Umemoto Kazufumi, Tsuchikawa Takahiro, Nakamura Toru, Okamura Keisuke, Noji Takehiro, Asano Toshimichi, Nakanishi Yoshitsugu, Tanaka Kimitaka, Hirano Satoshi	4. 巻 21
2. 論文標題 Postoperative nutritional benefits of proximal parenchymal pancreatectomy for low-grade malignant lesions in the pancreatic head	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 HPB	6. 最初と最後の頁 1491 ~ 1496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.hpb.2019.03.359	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 1. 土川貴裕, 上野 峰, 佐々木勝則, 田中公貴, 中西喜嗣, 浅野賢道, 野路武寛, 中村 透, 岡村圭祐, 七戸俊明, 平野 聡	4. 巻 46
2. 論文標題 【がんにおけるPD-L1分子の発現調節】腫瘍局所環境における上皮間葉転換 (EMT) とPD-L1の発現調節機構	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 癌と化学療法	6. 最初と最後の頁 855-858
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 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 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 土川貴裕
2. 発表標題 膵・胆道悪性腫瘍に対するがん免疫療法の治療効果を予測するバイオマーカーの探索
3. 学会等名 日本消化器外科学会 (招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 土川貴裕
2. 発表標題 胆道悪性腫瘍に対するがん免疫療法の治療効果を予測するバイオマーカーの探索
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 土川貴裕
2. 発表標題 Appropriate indication of organ preserving surgery for pancreatic neuroendocrine neoplasms
3. 学会等名 第31回日本肝胆膵外科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 栗原尚太
2. 発表標題 Prognostic relevance and constitutive alteration of TL0 following neoadjuvant chemoradiotherapy in Pancreatic cancer.
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018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	平野 聡 (Hirano Satoshi) (50322813)	北海道大学・医学研究院・教授 (10101)	

6. 研究組織（つづき）

	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	七戸 俊明 (Shichinohe Toshiaki) (70374353)	北海道大学・医学研究院・准教授 (10101)	
研究分担者	中村 透 (Nakamura Toru) (70645796)	北海道大学・医学研究院・助教 (10101)	