

令和 3 年 6 月 8 日現在

機関番号：32620

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K16634

研究課題名(和文)肉腫患者における免疫モニタリング

研究課題名(英文) Immunological status of peripheral blood is associated with prognosis in patients with bone and soft-tissue sarcoma

研究代表者

金 栄智 (Kim, Youngji)

順天堂大学・医学部・非常勤助教

研究者番号：40808432

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：肉腫非転移群では、単球性骨髄由来サプレッサー細胞(M-MDSC)とT細胞免疫グロブリン・ムチンドメイン-3(Tim-3)+CD8+ T細胞の発現量が多く、無病生存期間(DFS)の低下と有意に関連し、NKG2D+CD8+ T細胞の発現量が多いとDFS期間の改善と有意に関連していた。転移群では、M-MDSCs発現と無増悪生存期間(PFS)との間に有意な関連が認められた。この結果は、肉腫患者において、がんに対する宿主の免疫反応が存在することを示唆し、M-MDSCsの発現量が高い場合にDFSとPFSの両者に有意に関連し、予後に強く関連している事を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究データは、肉腫以外の固形がんなどでも報告されているように、末梢血の免疫状態が肉腫患者の予後と関連していることを示唆していた。この結果から、肉腫領域においても固形がんと同様にバイオマーカーや免疫療法を利用した肉腫の新たな治療戦略の開発に役立つものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：The patients that did not have metastasis demonstrated higher quantities of M-MDSCs and Tim-3+ CD8+ T cells, which were significantly associated with poor DFS time, while higher quantities of NKG2D+ CD8+ T cells were significantly associated with improved DFS time. The number of Tim-3+ CD8+ T cells was associated with lower DFS time. A significant association was also found between the number of M-MDSCs and PFS time in patients with metastasis. The occurrence of immune surveillance, which indicated that the host immune reaction against cancer existed in patients with bone sarcoma and STS. A high number of M-MDSCs was associated with both DFS and PFS time, suggesting a strong prognostic value. The immune status of peripheral blood was associated with the prognosis in patients with sarcoma, as previously reported in patients with other cancer types. The results may assist with the development of novel strategies for sarcoma treatment, based on the use of biomarkers or immunotherapy.

研究分野：整形外科

キーワード：骨軟部肉腫 免疫状態 単球性骨髄由来サプレッサー細胞 T細胞免疫グロブリン・ムチンドメイン-3

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

悪性骨軟部腫瘍いわゆる肉腫とは、骨肉腫やユーイング肉腫を代表とする悪性骨腫瘍や脂肪肉腫、未分化多型肉腫、横紋筋肉腫などを代表とする悪性軟部肉腫の2つに大別される。症例が極めて少ないため、近年希少がんとも称され、がん対策基本法の改訂により、国による治療開発が行われている。しかしながら症例数の観点および経済的観点などからも新規治療開発が困難な領域である。それに加えて、組織型が多彩であるため、個別の疾患で標準治療が存在するのは骨肉腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫と非常に限定されている。一般的に軟部肉腫の治療において生存率の向上に寄与するとして確立されている抗腫瘍薬として、Doxorubicin と Ifosfamid の2剤が用いられているが、薬剤耐性肉腫も多いことから、臨床的に治療に難渋する。初診時転移のない軟部肉腫 期(UICC/AJCC)の5年生存率が約50-60%、転移のない骨肉腫は65%程度であり、化学療法の導入で改善してきたものの、AYA世代を始めとする若年者に多い疾患でもあり、未だ予後不良である。また新規薬剤の開発が過去30年でほとんどないのが現状であり、治療成績改善のためにも新しい治療戦略が必須である。固形がんにおいては、手術、化学療法、放射線療法に続くがんに対する第4の治療法として免疫療法が期待され多くの研究が行われてきた。近年、前立腺がんに対する樹状細胞ワクチン療法(Sipuleucel-T)や進行性メラノーマに対する抗CTLA-4抗体(ipilimumab)、抗PD-1抗体(Nivolumab)がFDAで承認され、他の癌種においても抗PD-L1、PD-1抗体の大規模な臨床試験でも創薬として有望な結果が得られてきており、これまで以上にがん免疫療法に注目が集まっている。また、m-MDSC(monocytic myeloid Derived Suppressor Cells:単級系骨髄由来免疫抑制細胞)が悪性黒色腫の予後不良と関連する報告など、治療のみならず、腫瘍の予後マーカーとしてもがん免疫領域は注目されている。しかしながら、多くの抗がん剤や分子標的薬剤と同様に、がん免疫療法も全ての患者に有効ではない。現在より高い有効性を求めるために、免疫療法に適した患者のバイオマーカー検索、また手術や従来の抗がん剤や分子標的薬剤と免疫療法の併用療法が欧米では試みられており、本邦でも今後、同様の研究や臨床試験が計画されていくと予想される。併用療法には理論上は免疫機能に好ましい影響を与える抗がん剤と免疫療法の組み合わせが望ましく、もしくは少なくとも免疫機能を高度に抑制しない抗がん剤と免疫療法を組み合わせることが必要条件と考えるが、どの薬剤と免疫療法の組み合わせが最適かに関して、肉腫領域では全くの未知であり、国内外でも報告は皆無である。さらには抗がん剤治療のレジメン毎に免疫機能への影響についての情報が必要となるが、前述のごとく肉腫においてその情報は皆無である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、悪性骨腫瘍および悪性軟部腫と呼ばれる肉腫患者の末梢血サンプルを用いて、免疫学的状態を明らかにすることを目的とし本研究を計画した。本研究の結果、肉腫患者の免疫状態を明らかにすることで、新たな視点に基づいた個別化された免疫療法開発や新規予後マーカーの開発にもつながることが期待される。

3. 研究の方法

悪性骨軟部腫瘍患者のうち(1)高悪性度肉腫の非転移群61例と(2)転移群25例の末梢血サンプルを用いて、免疫モニタリング解析を行った。採血採取後、まず遠心分離機を用いて1500bpm、10分の条件で血漿を分離・保存した。次に、10%FBS(Fetal Bovine Serum)で2倍希釈し、15mlチューブにリンパ球分離液(Histopaque®-1077:SIGMA社)5ml加えた後に、希釈した検体を10mlゆっくり重層した。その後、遠心分離機を用いて、2080bpm、20分の条件で遠心分離・上澄みを除去し、末梢血リンパ球(peripheral blood mononuclear cell:PBMC)を回収した。(図1)最終的に合計41の免疫細胞サブセットを、マルチカラーフローサイトメトリーを用いて分析した。

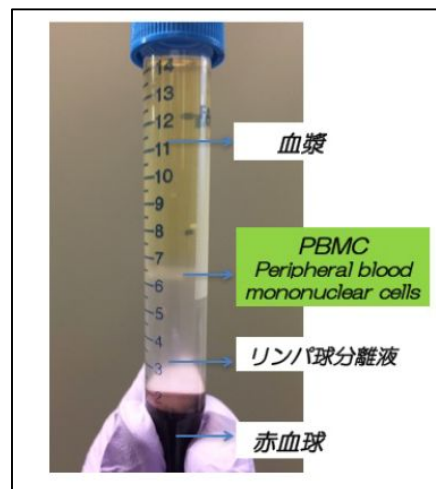


図1.PBMC分離

4. 研究成果

非転移群では、単球性骨髄由来抑制細胞 (M-MDSC) と T 細胞免疫グロブリン・ムチンドメイン-3 (Tim-3)⁺ CD8⁺ T 細胞の発現量が多く、これらは無病生存期間 (DFS) の低下と有意に関連していた。一方で、NKG2D⁺ CD8⁺ T 細胞の発現量が多いと DFS 期間の改善と有意に関連していた。また、Tim-3⁺ CD8⁺ T 細胞の数が DFS 期間の短縮と関連することが示された。転移群では、M-MDSCs 発現と無増悪生存期間 (PFS) との間に有意な関連が認められた。(図 2) この結果は、肉腫患者において、がんに対する宿主の免疫反応が存在することを示唆するものであった。

注目すべきは、M-MDSCs の発現量が高い場合に DFS と PFS の両者に有意に関連し、予後に強く関連している事を示唆していたことである。本研究データは、肉腫以外の固形がんなどでも報告されているように、末梢血の免疫状態が肉腫患者の予後と関連していることを示唆していた。以上のことから、今回の結果は、バイオマーカーや免疫療法を利用した肉腫の新たな治療戦略の開発に役立つものと考えられる。

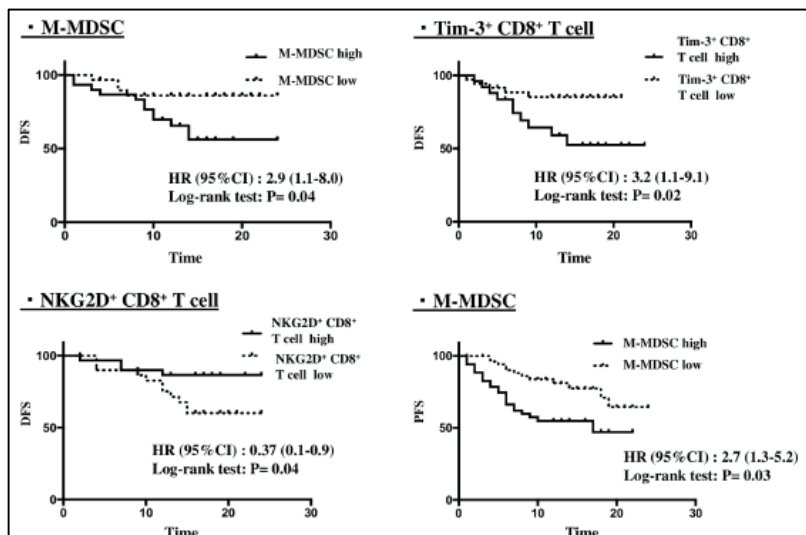


図 2. Kaplan-Meier 法による生存曲線

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1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 1件）

1. 著者名 Kim Youngji, Kobayashi Eisuke, Suehara Yoshiyuki, Ito Ayumu, Kubota Daisuke, Tanzawa Yoshikazu, Endo Makoto, Nakatani Fumihiko, Nakatsura Tetsuya, Kawai Akira, Kaneko Kazuo, Kitano Shigehisa	4. 巻 21
2. 論文標題 Immunological status of peripheral blood is associated with prognosis in patients with bone and soft-tissue sarcoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Oncology Letters	6. 最初と最後の頁 1-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/ol.2021.12473	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 金栄智
2. 発表標題 肉腫に対する新規治療標的の探索
3. 学会等名 順天堂大学・国立がん研究センター連携大学院合同シンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林英介
2. 発表標題 肉腫患者における免疫モニタリング
3. 学会等名 日本整形外科学会
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
研究協力者	小林 英介 (KOBAYASHI EISUKE)	国立がん研究センター中央病院 骨軟部腫瘍科・医長 (82606)	

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