

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09203

研究課題名（和文）T細胞不活化経路をターゲットとした腫瘍免疫療法と抗腫瘍薬を併用した新規治療の開発

研究課題名（英文）Development of a novel combination of tumor immunotherapy targeting the T-cell negative pathway and anti-tumor drugs

研究代表者

北東 大督（Hokuto, Daisuke）

奈良県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：70526821

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）：抗癌剤は免疫力を弱める可能性があると考えられる。免疫療法と抗癌剤の併用療法はまだ解明されていない点も多い。本研究では、肝細胞癌と大腸癌肝転移の免疫療法と抗癌剤の併用療法について検討した。大腸癌肝転移と肝細胞癌の切除標本にて、免疫療法のターゲットであるHVEMが発現していると予後不良であることを発見した。またVEMを阻害すると癌細胞の増殖が抑制されることも発見した。さらに抗癌剤を加えると細胞の増殖がより抑制されることも発見した。これらを動物実験で立証すべくモデル開発を試みた。しかし、動物モデルの確立は本研究期間には確立できなかった。しかし、本研究の過程で得られた多くの知見を英文誌に投稿し掲載された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、T細胞不活化経路をターゲットにした免疫療法が悪性腫瘍に対して臨床応用されている。一方、抗癌剤は一般的に免疫力を弱める可能性があると考えられている。免疫療法と抗癌剤の併用療法は胃癌など一部の癌腫では臨床応用されつつあるものの、まだ解明されていない点も多い。もし免疫療法と抗癌剤が相乗的効果を持つのであれば多くの癌患者にとって有益な情報となる。本研究では、肝細胞癌と大腸癌肝転移に対して免疫療法と抗癌剤の併用療法が一部実験において有効な結果を示した。これは免疫療法と抗癌剤の併用が抗腫瘍効果を増強する可能性を示したと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Anticancer drugs are believed to have the potential to weaken the immune system. Combination therapy of immunotherapy and anticancer drugs has yet to be elucidated in many respects. In this study, we examined the combination therapy of immunotherapy and anticancer drugs for hepatocellular carcinoma and colorectal cancer liver metastases. We found that the expression of HVEM, a target of immunotherapy, in resected specimens of colorectal cancer liver metastases and hepatocellular carcinoma was associated with poor prognosis. They also found that inhibition of VEM suppressed cancer cell proliferation. They also found that the addition of an anticancer drug suppressed cell proliferation even more. We attempted to develop a model to prove these findings in animal experiments. However, we were unable to establish an animal model during this study period. However, many of the findings obtained in the course of this research were submitted to an English journal for publication.

研究分野：消化器外科

キーワード：免疫療法 抗癌剤 肝細胞癌 大腸癌肝転移 T細胞不活化経路

## 1. 研究開始当初の背景

近年、T細胞不活化経路をターゲットにした免疫療法が悪性腫瘍に対して臨床応用されている。一方、抗癌剤は一般的に免疫力を弱める可能性があるとしてされている。免疫療法と抗癌剤の併用療法は胃癌など一部の癌腫では臨床応用されつつあるものの、まだ解明されていない点も多い。本研究では、肝細胞癌と大腸癌肝転移に対して免疫療法と抗癌剤の併用療法がもたらす効果について検討することを主目的とした。また、近年注目されているT細胞不活化経路であるが、PD-L/PD-1経路をターゲットとした抗PD-1抗体は、すでに胃癌、非小細胞肺癌、腎細胞癌、悪性黒色腫などで臨床応用されている。また、B7/CTLA-4経路をターゲットとした抗CTLA-4抗体による癌免疫治療も腎細胞癌、悪性黒色腫に臨床応用されている。しかし、これらの治療が適応となる癌腫に限られている。近年ではマイクロサテライト不安定性を有する腫瘍では免疫治療薬の一つであるペンブロリズマブが使用可能となったが、使用できる確率は低い。よってさらなる有効な免疫療法の開発が求められている。我々はこれまでの研究にてT細胞不活化経路の一つであるHVEM/BTLA, CD160経路に着目し、腫瘍免疫における同経路の意義について研究を継続してきた。これまで腫瘍のHVEM高発現が、肝臓癌、大腸癌、食道癌における外科的切除後の予後不良因子であり、腫瘍内浸潤リンパ球が低下していることを英文誌に報告してきた。今回の免疫療法は肝細胞癌と大腸癌肝転移におけるHVEMの阻害として行うこととし、抗癌剤との併用療法との効果を検討することとした。

## 2. 研究の目的

大腸癌肝転移と肝細胞癌におけるHVEM発現と腫瘍免疫との関連を再度確認し、腫瘍にHVEMが発現した細胞培養モデル、および動物実験モデルを確立する。そのモデルを用いてHVEM阻害がもたらす細胞増殖効果の抑制と抗癌剤との併用の影響を検討する。抗癌剤がHVEM阻害による抗腫瘍効果を増強するのか、あるいは減弱させるのかを検討することを主目的とする。

## 3. 研究の方法

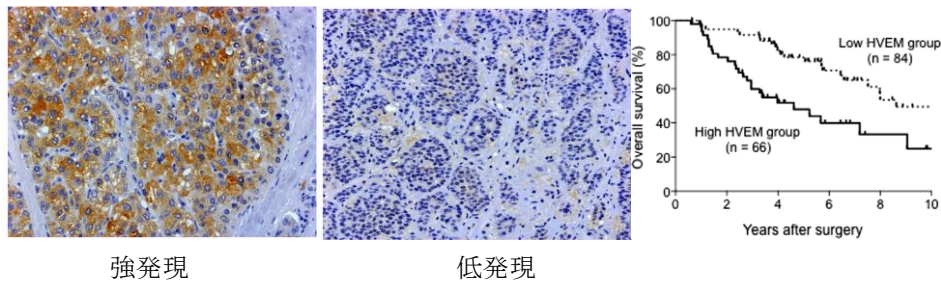
奈良県立医科大学で肝細胞癌と大腸癌肝転移に対し肝切除を施行した症例の臨床データの収集、解析を行い、データベースを作成する。さらに切除標本を用いて免疫染色を中心とした検討を行い、腫瘍のHVEM発現と予後との関連、および局所腫瘍免疫との関連を検討する。細胞レベルにてHVEMの発現、および阻害が細胞増殖にどのような影響を与えるか確認する実験モデルを確立する。HVEM免疫不全マウス、および免疫を有するマウスにてHVEMの発現、および阻害がどのような影響を与えるかを確認する。

## 4. 研究成果

### (1) 肝細胞癌のHVEM発現の検討

150例の肝細胞癌切除症例の検討を行ったところ、66例が高発現、84例が低発現であった。

強発現は低発現よりも有意に肝切除後の予後が不良であった。このことから、肝細胞癌のHVEM発現が肝切除後の予後に大きな影響を与えていることが考えられた。

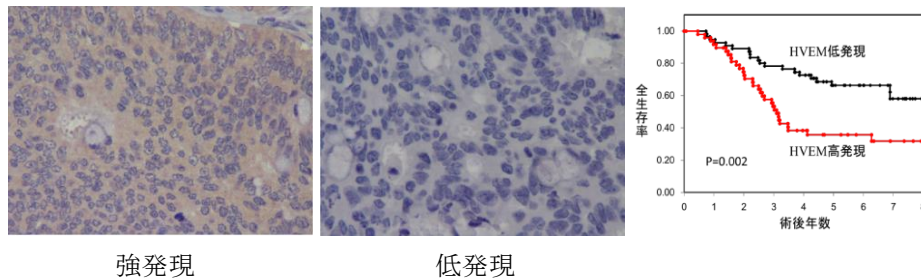


強発現

低発現

### (2) 大腸癌肝転移のHVEM発現の検討

104例の大腸癌肝転移切除症例の検討を行ったところ、49例が高発現、55例が低発現であった。強発現は低発現よりも有意に肝切除後の予後が不良であった。このことから、大腸癌肝転移のHVEM発現が大腸癌肝転移の肝切除後の予後に大きな影響を与えていることが考えられた。これまでに同様の報告はなく、貴重な発見であったと考えられる。

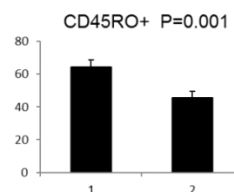
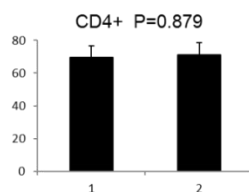
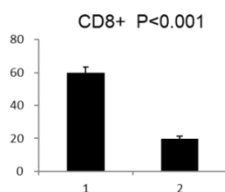
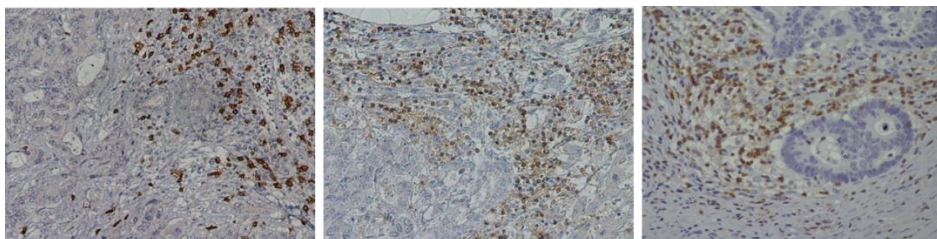


強発現

低発現

### (3) HVEM発現と腫瘍内浸潤リンパ球の検討

HVEMの発現腫瘍内へのT細胞の侵入を阻害している可能性があり、その検証のため腫瘍内浸潤リンパ球の免疫染色を施行した。その結果、腫瘍内浸潤リンパ球はHVEMが高発現した肝細胞癌、大腸癌肝転移で有意に減少していた。腫瘍細胞にHVEMが発現することで、T細胞に対してnegativeな信号を発信し、腫瘍内への遊走を阻止していると考えられた。



#### (4) 細胞レベルでのHVEM抑制による細胞増殖効果の確認

ヒト肝細胞癌細胞株 (Hep-G2) , ヒト大腸癌細胞株 (CACO-2) を用いてHVEM発現の有無を蛋白レベル, mRNAレベルで確認した. siRNAで, HVEMをknock downさせ, 細胞増殖をMTSアッセイでコントロールと比較したところ, HVEMのknock downにより細胞増殖能が有意に低下したことを確認した. さらにこの効果は抗癌剤との相乗的な効果があることを確認した. 引き続き, in vivoでHVEMを発現した肝細胞癌モデル, 大腸癌肝転移モデルの作成を試みたが, 腫瘍生着の割合が低くin vivoでのHVEM阻害の検証は本研究期間内には得られなかった. しかしながら本研究により, HVEMをターゲットとした免疫療法の可能性, および化学療法との併用がもたらす新規治療の可能性が明らかとなった.

#### (5) 本研究に付随する研究

本研究を始めるにあたり, 当院のデータベースのブラッシュアップを行った. これにて以下に示す論文発表 (いずれも査読あり) を施行することができた.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsuo Yasuko, Sho Masayuki, Nomi Takeo, Hokuto Daisuke, Yoshikawa Takahiro, Kamitani Naoki, Nakamura Kota, Iwasa Yosuke	4. 巻 3
2. 論文標題 Clinical Importance of CD200 Expression in Colorectal Liver Metastasis	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 ahead of print
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-020-09471-w	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 Hokuto Daisuke, Nomi Takeo, Yoshikawa Takahiro, Matsuo Yasuko, Kamitani Naoki, Sho Masayuki	4. 巻 15
2. 論文標題 Preventative effects of ramelteon against postoperative delirium after elective liver resection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 0241673 ~ 0241673
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0241673	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 Yoshikawa Takahiro, Nomi Takeo, Hokuto Daisuke, Kamitani Naoki, Matsuo Yasuko, Sho Masayuki	4. 巻 45
2. 論文標題 Outcomes in Patients with Chronic Kidney Disease After Liver Resection for Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 598 ~ 606
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00268-020-05829-z	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 Nakamura Yasuyuki, Hokuto Daisuke, Koyama Fumikazu, Matsuo Yasuko, Nomi Takeo, Yoshikawa Takahiro, Kamitani Naoki, Sadamitsu Tomomi, Takei Takeshi, Matsumoto Yayoi, Iwasa Yosuke, Fukuoka Kohei, Obara Shinsaku, Nakamoto Takayuki, Kuge Hiroyuki, Sho Masayuki	4. 巻 ahead of print
2. 論文標題 The prognosis and recurrence pattern of right- and left- sided colon cancer in Stages II, III, and liver metastasis after curative resection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Coloproctology	6. 最初と最後の頁 ahead of print
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3393/ac.2020.09.14	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 Nomi Takeo, Hokuto Daisuke, Yoshikawa Takahiro, Kamitani Naoki, Matsuo Yasuko, Sho Masayuki	4. 巻 28
2. 論文標題 Clamp?Crush Technique for Laparoscopic Liver Resection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 866 ~ 866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-020-08822-x	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 Kamitani Naoki, Nomi Takeo, Hokuto Daisuke, Yoshikawa Takahiro, Matsuo Yasuko, Sho Masayuki	4. 巻 44
2. 論文標題 Influence of the Glissonian Pedicle Transection Approach in Spiegel Lobe-Preserving Left Hepatectomy on Spiegel Lobe Volume and Remnant Liver Functions	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World Journal of Surgery	6. 最初と最後の頁 3079 ~ 3085
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00268-020-05548-5	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 Matsuo Yasuko, Nomi Takeo, Hokuto Daisuke, Yoshikawa Takahiro, Kamitani Naoki, Sho Masayuki	4. 巻 35
2. 論文標題 Pulmonary complications after laparoscopic liver resection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Surgical Endoscopy	6. 最初と最後の頁 1659 ~ 1666
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00464-020-07549-w	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 NAKAMOTO TAKAYUKI, HOKUTO DAISUKE, NOMI TAKEO, YOSHIKAWA TAKAHIRO, KAMITANI NAOKI, MATSUO YASUKO, OBARA SHINSAKU, KUGE HIROYUKI, KOYAMA FUMIKAZU, SHO MASAYUKI	4. 巻 40
2. 論文標題 Characteristics of Five-year Survivors After Liver Resection for Colorectal Liver Metastases in Modern Chemotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 1107 ~ 1116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.14050	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 Sasaki Y, Hokuto D, Inoue T, Nomi T, Yoshikawa T, Matsuo Y, Koyama F, Sho M	4. 巻 26
2. 論文標題 Significance of Herpesvirus Entry Mediator Expression in Human Colorectal Liver Metastasis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 :3982-3989
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07625-z	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1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Daisuke Hokuto
2. 発表標題 Clinical Impact of Herpesvirus Entry Mediator (HVEM) in Malignant Liver Tumors
3. 学会等名 IHPBA 2020 (国際学会)
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	野見 武男 (Nomi Takeo) (50570991)	奈良県立医科大学・医学部・学内講師  (24601)	

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