

令和 4 年 4 月 26 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16807

研究課題名（和文）透析腎癌に対する免疫チェックポイント分子抗体を用いた新規治療法に関する基礎研究

研究課題名（英文）Basic Research on Novel Treatment for Dialysis Kidney Cancer Using Immune Checkpoint Molecular Antibodies

研究代表者

高松 公晴（Takamatsu, Kimiharu）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・共同研究員

研究者番号：00649874

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）：透析腎癌における免疫微小環境を評価した結果、透析腎癌では通常型淡明細胞型腎癌と比較してPDL1発現が高いことを見出し、小児泌尿器科学会で報告した。さらに、腫瘍免疫微小環境の解析を進める過程で、PD-1/PD-L1阻害剤抵抗例が臨床的に問題となった。そこで、次世代チェックポイント分子であるLAG-3、TIM-3、TIGTの発現状況に着目すると、腎癌において3分子が相互排他的に発現することを見出し、その背景はp53遺伝子変異があることを見出した。この新規3分子を用いた新たな腎細胞癌の分類を構築し、報告した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究で明らかになった透析腎癌の免疫環境の特徴は透析腎癌において免疫チェックポイント阻害剤の効果が高いことを示唆するものであり、臨床上有意義である。また、次世代チェックポイント分子が腎細胞癌で相互排他性を示すことは、現在開発中の次世代免疫チェックポイント阻害剤の治療薬選択につながる可能性があり、テーラーメイド医療による薬剤の有効性の最大化につながる。さらに、高額な新規薬剤の有効利用の点から医療経済への寄与が期待される。

研究成果の概要（英文）：After evaluating the immune microenvironment in hemodialysis renal cell carcinoma, we found that PDL1 expression was higher in HD-renal carcinoma than in normal-type clear cell renal cell carcinoma, and reported this finding at the Japanese Pediatric Urology Annual Conference. Furthermore, in the process of analyzing the tumor immune microenvironment, PD-1/PD-L1 inhibitor-resistant cases have become clinical unmet needs. Therefore, focusing on the expression status of next-generation checkpoint molecules, LAG-3, TIM-3, and TIGT, we found that the three molecules are mutually exclusive in renal cell carcinoma and that the background of the mutation is p53 gene mutation. We constructed and reported a new classification of renal cell carcinoma using these three novel molecules.

研究分野：腎細胞癌

キーワード：腎細胞癌 腫瘍免疫微小環境 LAG-3 TIM-3 TIGIT 免疫チェックポイント阻害剤

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

わが国では慢性透析療法患者の増加に伴い進行性透析腎癌患者が増加している。この透析腎癌は、末期腎不全関連腎細胞癌(End-Stage Renal Disease associated Renal Cell Carcinoma: ESRD-RCC)といわれる特殊な組織型が大半を占める。一般腎細胞癌で最多の組織型は淡明細胞型腎細胞癌(clear cell RCC: ccRCC)である。ccRCCはVon-Hippel Lindau(VHL)遺伝子の変異により、その下流にある血管内皮増殖因子(VEGF)の発現が亢進し、発癌することが知られる。透析腎癌は炎症を背景とした特殊な発癌様式を持ち、従来の血管新生因子(VEGF)を標的とした進行性腎細胞癌治療に抵抗性を示しており、透析腎癌に薬物療法の確立が求められていた。

我々はESRD-RCCの発癌経路としてVHL-VEGF-HIF以外の経路としてP3K/Akt/mTOR経路に着目した。我々は先行研究でESRD-RCCはccRCCと比較してリン酸化mTORの活性化していることを発見した。しかし透析腎癌細胞株(KU20-02)に対してmTOR阻害剤(FKBP12)の殺細胞効果は有意なものではなく、単剤での治療効果には限界があると考えられた。

透析腎癌に限らず、癌細胞は出現すると同時に宿主の免疫細胞により排除されている。この監視システムを潜り抜けた(免疫逃避した)癌細胞が腫瘍を形成する。この免疫逃避のために用いられるのが免疫チェックポイント分子である。従来の癌研究は癌細胞の持つ増殖能、転移能、浸潤能に着目して治療薬が開発されてきた。我々の研究室では、過去に悪性黒色腫において、免疫チェックポイント分子であるB7-H3(CD276;PD-L3)がmTOR経路を上流から活性化するというcross-talkの存在を明らかにする共同研究に従事した経験があった。

本研究は従来の抗癌作用を持つmTOR阻害剤と、癌免疫に関与する抗PD-L3中和抗体を併用することで、新時代の抗癌薬物療法を開拓することを目標とした。

2. 研究の目的

本研究は哺乳類ラパマイシン標的蛋白質(mammalian target of rapamycin: mTOR)経路阻害剤(FKBP12)と、免疫チェックポイント阻害薬(抗PD-L3中和抗体)を併用し、透析腎癌の新規治療戦略の確立を目的とした。

3. 研究の方法

透析腎癌と淡明細胞型腎癌の免疫微小環境の比較解析を行った。腫瘍免疫微小環境は腫瘍、T細胞、マクロファージ、B細胞、血管やリンパ管からなる複雑な系である。その詳細な解析のために腫瘍免疫微小環境に重要な分子をピックアップし、独自の腫瘍免疫微小環境評価パネルを作成した。淡明細胞型腎癌105例と透析腎癌31例の組織マイクロアレイを作成し、パネルに含まれる各分子(CD3, CD8, PD-1, PD-L1, CTLA-4, CD39, FOXP3, CD68, CD163, CD47, CD73, SIRPa, Ki67, CD44, CD34, ETBR, D2-40, FasL, LAMP2, LYVE1, GLUT1, TNFa, HLA class1, CSF1a, CD20)を免疫染色を行い、解析ソフトを用いて1細胞レベルでカウントし、各抗体の陽性細胞率/陽性細胞面積比率を算出した。その結果、透析腎癌において淡明細胞型腎癌よりもPDL1発現が高いことが判明した。

透析腎癌細胞株にPD-L3中和抗体を投与したが、殺細胞効果は有意ではなかった。そこで、腫瘍免疫微小環境をより詳細に評価するため次世代免疫チェックポイント分子である、LAG-3 (lymphocyte activation gene 3) TIM-3 (lymphocyte activation gene 3) TIGIT (T-cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains)に着目して、より詳細に腫瘍免疫微小環境評価を行った。研究はさらに転移巣切除サンプル47例と非淡明細胞型腎細胞癌41サンプル、確認コホート96例を加え、組織マイクロアレイを作成した。LAG-3, TIM-3, TIGITにDAPIを加えた蛍光多重染色とそのシングルセル解析の結果、腎細胞癌において次世代免疫チェックポイント分子が相互排他的に発現することを見出した。

この相互排他性を用いた腎癌の新規分類は腎癌の予後予測に有用であることを確認コホートとトレーニングコホートを用いて確認した。

4. 研究成果

淡明細胞型RCC組織289サンプルを用いて新規IR3分子(LAG-3, TIM-3, TIGIT)の発現強度を単一細胞ごとに評価することにより、LAG-3, TIM-3, TIGITの発現が相互排他性を有すること(図1) LAG-3, TIM-3, TIGITにより淡明細胞型RCCは分類可能であり、この新規分類が非淡明細胞型RCCや他14種の固形癌でも応用可能なこと、LAG-3優位発現群が予後不良であり(図2) LAG-3優位群は免疫細胞が疲弊した腫瘍免疫微小環境を有することを報告した(Takamatsu K (1st), et al. Nat Commun 2021)。同様の評価を腎癌転移巣と、非淡明細胞型腎癌で行い、新規分類の再現性を確認した。さらに、公開された公共データベースを用いた検討により、他癌種も今回の新規分類で分類可能なことが明らかになった。最後に、個別の症例をLAG-3, TIM-3, TIGIT優位群へ分類する臨床応用可能なワークフローを作成し、このワークフローが実装可能であることをバリデーションコホートを用いて確認した。

図 1. 免疫染色、蛍光多重染色による single-cell 解析

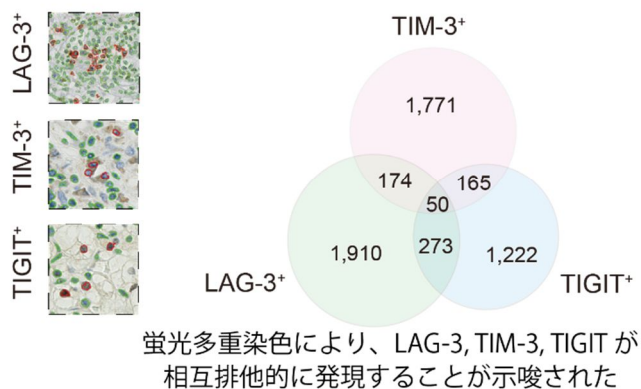
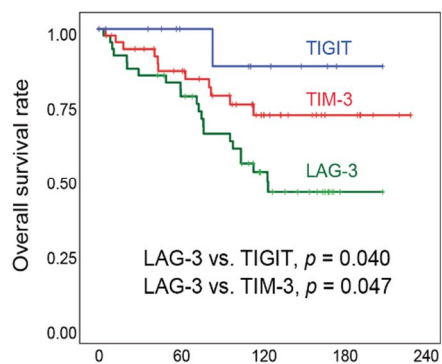


図 2. 新規分類による RCC の生存期間解析



LAG-3、TIM-3、TIGIT を標的とした次世代免疫チェックポイント阻害剤の開発は最終段階に入っている。抗 LAG-3 抗体と抗 PD-1 抗体の併用療法の皮膚悪性黒色腫を対象とした欧米における臨床試験での有効性が示されている。今回の研究は LAG-3、TIM-3、TIGIT を標的とした新規薬剤の治療候補症例を明らかにした。本研究が発展し、次世代免疫チェックポイント阻害剤の効果予測が可能となれば、新規薬剤を有効な患者さんへ届けることが可能になり、増大する医療費の抑制にも寄与することが期待される。また、癌免疫逃避機構は複数の癌種で共通していることが多く、免疫チェックポイント阻害剤は癌種横断的に有効性を示すことが特徴である。本研究では日本人の癌死亡数上位を占める肺癌・大腸癌・胃癌や皮膚悪性黒色腫を含む 14 の癌種も今回作成した新規分類で分類可能なことを示しており、本研究が発展すれば新規分類が他癌種でも応用可能となることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 高松公晴
2. 発表標題 Xp11.2転座型腎細胞癌における腫瘍周囲微小免疫環境の評価
3. 学会等名 第29回日本小児泌尿器科学会
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 Takamatsu Kimiharu
2. 発表標題 The change of serum C-reactive protein levels during molecular-targeted treatments could predict the response to anti-PD-1 treatment in metastatic renal cell carcinoma patients
3. 学会等名 American Society of Clinical Oncology Annual meeting 2020 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takamatsu Kimiharu
2. 発表標題 Novel prognostication model for clear cell renal cell carcinoma: Proposing the immune-based clustering algorithm using future immune-checkpoint targets
3. 学会等名 114th American Urological Association Annual Meeting: Washington D.C., USA (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高松公晴
2. 発表標題 Xp11.2転座型腎細胞癌においてInterleukin-6はprogrammed cell death-1 ligand(PDL1)発現を誘導する
3. 学会等名 第28回小児泌尿器科学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高松公晴
2. 発表標題 Clinical impact of serum C-reactive protein levels in metastatic renal-cell carcinoma patients treated by second-line molecular targeted therapies.
3. 学会等名 American Society of Clinical Oncology Annual meeting 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019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
---------------------------	-----------------------	----

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