

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：21601

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18223

研究課題名（和文）小細胞肺癌に対するNOTCHシグナリングを標的とした新規免疫放射線療法の開発

研究課題名（英文）Assessment of Delta-like 1 homolog (DLK1) expression as a therapeutic target in small cell lung cancer and its application to radioimmunotherapy

研究代表者

高木 玄教 (Takagi, Hironori)

福島県立医科大学・医学部・客員研究員

研究者番号：90834325

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：小細胞肺癌(SCLC)および非小細胞肺癌(NSCLC)の切除症例である臨床検体で、DLK1の発現率を検討したところ、SCLCでは20.5%、NSCLCでは16.8%であった。NSCLC切除例において、DLK1陽性群では、陰性群と比較し無再発生存期間が有意に短かった($p < 0.01$)が、全生存期間に差はなかった。SCLCにおいては、DLK1の発現によりその予後に差はなかった。DLK1高発現のヒトSCLCやヒト神経芽細胞腫の培養細胞において、¹²⁵I標識抗DLK1抗体は腫瘍細胞上のDLK1と特異的な結合が見られ、さらに担癌モデルマウスにおいても、同複合体は腫瘍に特異的に取り込まれた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、小細胞肺癌と非小細胞肺癌、いずれにおいてもDLK1は一定数の発現があり、新規治療法における治療標的となり得ることが明らかにされた。また、臨床的特徴として、非小細胞肺癌においては術後再発を予測する因子となる可能性が示唆された。さらに、抗DLK1抗体複合体の、腫瘍細胞への取り込みを改善させる課題はあるものの、将来、小細胞肺癌などの予後不良の悪性疾患において、DLK1は、抗DLK1抗体を用いたRadioimmunotherapyの治療標的となる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：In SCLC and NSCLC, 20.5% (23/112) and 16.8% (17/101) of patients respectively had DLK1-positive tumors. In NSCLC, DLK1 expression was associated with recurrence-free survival ($P < 0.01$) but not with overall survival. In SCLC, there was no association between DLK1 expression and survival. In addition, ¹²⁵I-labeled anti-DLK1 antibody specifically targeted DLK1 on human SCLC and neuroblastoma tumor cell lines. Furthermore, ¹²⁵I-labeled anti-DLK1 antibody was incorporated into tumor tissue in a mouse model.

研究分野：呼吸器外科

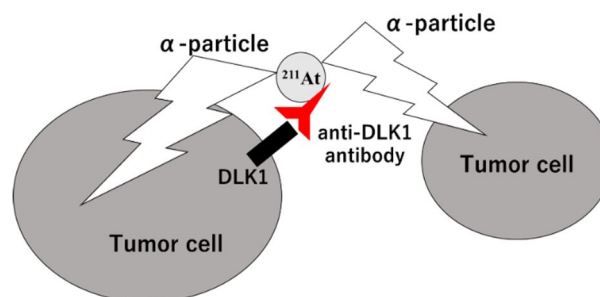
キーワード：lung cancer DLK1 Notch ligand radioimmunotherapy astatine

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

小細胞肺癌(SCLC)は原発性肺癌の約 12-16%程度を占め、その進行度により化学療法や放射線療法が行われる場合が多いが、現在まで予後不良の代表的悪性疾患である。近年、非小細胞肺癌(NSCLC)においては、分子標的薬や免疫チェックポイント阻害薬の登場によりその治療成績は飛躍的に向上した一方で、SCLC については、他の癌種のように、薬剤感受性遺伝子変異を有することが少なく、治療法が限定されている(1)。また、本研究開始後に、本邦においても免疫チェックポイント阻害薬が SCLC へ適応となったが、NSCLC において得られる治療効果には及ばずその効果は限定的であった(2)。また、免疫チェックポイント阻害薬等の新規治療薬が医療経済に与える影響は深刻であり、NSCLC において、治療効果の予測となるバイオマーカーを探索する研究が世界中で行われているが、SCLC においてもその確立が急務である。

近年、Delta-like ligand 3 (DLL3)が、SCLC に対する治療標的として注目されている。DLL3 は Notch receptor ligand family のひとつで、正常組織にはほとんど発現せず、SCLC では高頻度に発現しており、この Notch シグナルが腫瘍細胞を増殖させる伝達機構とされる(3)。Rovalpituzumab は、抗 DLL3 抗体と蛋白分解酵素を結合した抗体薬物複合体であり、SCLC 患者を含む患者に対する第一相試験が行われ、良好な成績を示した(3)。そこで、われわれは同じ Notch ligand の1つである Delta-like 1 homolog (DLK1) に注目した。DLK1 は Notch の非標準リガンドであり生体においては、組織の発生過程や、小児期の腫瘍での発現が報告されており、成人の正常組織では発現が消失するとされる(4)。われわれの先行研究として、SCLC 33 例中 17 例(51.5%)と高頻度に DLK1 の発現が見られた。また、当院の先端臨床研究センターは、国内で唯一、線放射核種である ^{211}At を製造可能なサイクロトロンを有しており、今回、抗 DLK1 抗体と ^{211}At との複合体による Radio-Immunotherapy(RI 療法)への可能性を検討した(右図)。



2. 研究の目的

治療法が限られている予後不良の SCLC を含む、原発性肺癌の新たな治療標的および治療法開発の可能性を検討することを研究目的とした。SCLC および NSCLC における DLK1 の発現程度を明らかにし、その治療標的分子としての可能性、さらに抗 DLK1 抗体と線放射核種の複合体を用いた RI 療法への応用の可能性を探索した。

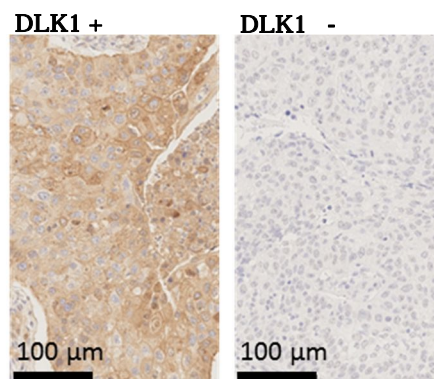
3. 研究の方法

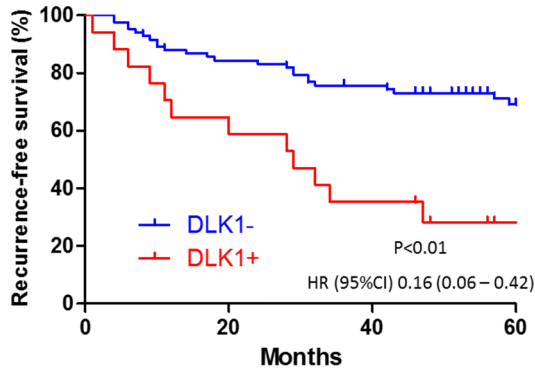
北海道肺癌臨床研究会(北海道大学病院、北海道がんセンター、旭川医科大学病院など 15 施設)と福島県肺癌研究会(福島県立医科大学、福島県立医科大学会津医療センター、竹田総合病院など 12 施設)の関連施設で、肺癌の外科的切除が施行され、病理組織学的に SCLC と診断、かつ病理検体の提出が可能な症例 112 例と、福島県立医科大学で切除が施行され、NSCLC と診断され病理検体の提出が可能な症例 101 例を対象に、免疫組織化学法で DLK1 の発現率とその臨床的特徴を検討した。また、福島県立医科大学先端臨床研究センターとの共同研究として、腫瘍細胞上の DLK1 を標的とした抗 DLK1 抗体を、線放射核種 ^{211}At と同族の核種 ^{125}I で標識した複合体(^{125}I 標識抗 DLK1 抗体)を作成し、RI 療法の可能性を細胞実験と動物実験で検討した。

4. 研究成果

SCLC および NSCLC の臨床検体で、DLK1 の陽性率はそれぞれ 20.5%および 16.8%であった(右図)。

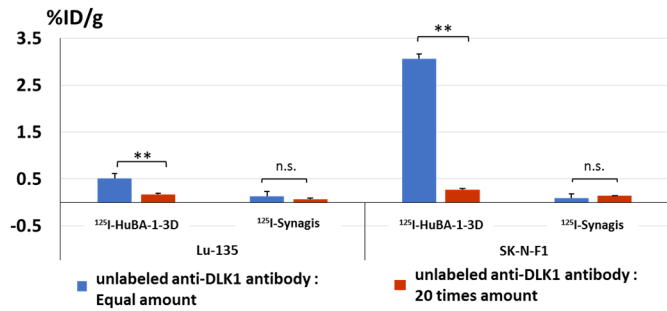
NSCLC 切除例において、DLK1 陽性群では、陰性群と比較し、リンパ節転移を有する症例が有意に多く($p < 0.05$)、さらに無再発生存期間が有意に短かった($p < 0.01$ 、下図)が、全生存期間に差はなかった。SCLC においては、DLK1 陽性群と陰性群で臨床的特徴に有意な差はなく、また DLK1 の発現により予後に差はなかった。





DLK1 高発現のヒト SCLC やヒト神経芽細胞腫の培養細胞を用いた細胞実験において、¹²⁵I 標識抗 DLK1 抗体は腫瘍細胞上の DLK1 と特異的な結合が見られ(下図)、さらに担癌モデルマウスを用いた動物実験においても、同複合体は腫瘍組織に特異的に取り込まれた。

以上より、原発性肺癌において DLK1 は一定数の発現があり、RI 療法の治療標的となり得ると考えられた。臨床的特徴として NSCLC では術後再発の予測因子となる可能性が示唆され、さらに基礎実験においては、抗 DLK1 抗体を用いた RI 療法開発の可能性が示された。



参考文献

1. Ueda M, et al. Mutational analysis of the BRAF gene in human tumor cells. Hum Cell. 2008 May; 21(2): 13-17.
2. Leora H, et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2018 Dec 6; 379(23):2220-2229.
3. Rudin CM, et al. Rovalpituzumab tesirine, a DLL3-targeted antibody-drug conjugate, in recurrent small-cell lung cancer: a first-in-human, first-in-class, open-label, phase 1 study. Lancet Oncol. 2017 Jan; 18(1):42-51.
4. Falix FA, et al. Possible roles of DLK1 in the Notch pathway during development and disease. Biochim Biophys Acta. 2012 Jun; 1822(6):988-95.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4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 Takagi Hironori, Zhao Songji, Muto Satoshi, Yokouchi Hiroshi, Nishihara Hiroshi, Harada Toshiyuki, Nakamura Koji, Inano Akihiro, Isobe Hiroshi, Suzuki Hiroyuki, et al.	4. 巻 153
2. 論文標題 Delta-like 1 homolog (DLK1) as a possible therapeutic target and its application to radioimmunotherapy using 125I-labelled anti-DLK1 antibody in lung cancer models (HOT1801 and FIGHT004)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 134 ~ 142
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.lungcan.2021.01.014	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 Watanabe Masayuki, Higashi Tomohito, Ozeki Kana, Higashi Atsuko Y, Sugimoto Kotaro, Mine Hayato, Takagi Hironori, Ozaki Yuki, Muto Satoshi, Okabe Naoyuki, Matsumura Yuki, Hasegawa Takeo, Shio Yutaka, Suzuki Hiroyuki, Chiba Hideki	4. 巻 11
2. 論文標題 CLDN15 is a novel diagnostic marker for malignant pleural mesothelioma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 12554
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-91464-0	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 Muto Satoshi, Inomata Sho, Yamaguchi Hikaru, Mine Hayato, Takagi Hironori, Ozaki Yuki, Watanabe Masayuki, Inoue Takuya, Yamaura Takumi, Fukuhara Mitsuro, Okabe Naoyuki, Matsumura Yuki, Hasegawa Takeo, Osugi Jun, Hoshino Mika, Higuchi Mitsunori, Shio Yutaka, Suzuki Hiroyuki	4. 巻 41
2. 論文標題 CTLA-4 Expression in Tumor-infiltrating Lymphocytes Is Irrelevant to PD-L1 Expression in NSCLC	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 6267 ~ 6272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.15447	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 Fukuhara Mitsuro, Muto Satoshi, Inomata Sho, Yamaguchi Hikaru, Mine Hayato, Takagi Hironori, Ozaki Yuki, Watanabe Masayuki, Inoue Takuya, Yamaura Takumi, Okabe Naoyuki, Matsumura Yuki, Hasegawa Takeo, Osugi Jun, Hoshino Mika, Higuchi Mitsunori, Shio Yutaka, Suzuki Hiroyuki	4. 巻 71
2. 論文標題 The clinical significance of tertiary lymphoid structure and its relationship with peripheral blood characteristics in patients with surgically resected non-small cell lung cancer: a single-center, retrospective study	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Immunology, Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 1129 ~ 1137
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00262-021-03067-3	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 鈴木弘行、猪俣 頌、山口 光、峯 勇人、高木玄教、尾崎有紀、渡部晶之、井上卓哉、福原光朗、山浦匠、武藤哲史、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、大杉 純、星野実加、樋口光徳、塩 豊	4. 巻 61
2. 論文標題 非小細胞肺癌に対する周術期治療としての免疫チェックポイント阻害薬の有用性	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 肺癌	6. 最初と最後の頁 919 ~ 923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2482/haigan.61.919	査読の有無 無
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14件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Muto Satoshi, Inomata Syo, Yamaguchi Hikaru, Mine Hayato, Takagi Hironori, Ozaki Yuki, Okabe Naoyuki, Matsumura Yuki, Shio Yutaka, Suzuki Hiroyuki
2. 発表標題 Study of Relationship Between Proportion of CTLA-4 Positive Tregs in Tumor Infiltrating Lymphocytes and PD-L1 TPS
3. 学会等名 IASLC 2020 World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Matsumura Yuki, Inomata Sho, Yamaguchi Hikaru, Mine Hayato, Takagi Hironori, Watanabe Masayuki, Ozaki Yuki, Muto Satoshi, Okabe Naoyuki, Shio Yutaka, Suzuki Hiroyuki
2. 発表標題 PD1-Positive Tertiary Lymphoid Structure as a Predictive Factor of Durable Clinical Effect in Immunotherapy for NSCLC
3. 学会等名 IASLC 2021 World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松村勇輝、山口 光、峯 勇人、高木玄教、尾崎有紀、福原光朗、武藤哲史、岡部直行、塩 豊、鈴木弘行
2. 発表標題 がん免疫療法のバイオマーカー探索は外科医に有利である：肺癌切除検体において評価可能なPD1高発現胚中心を有する三次リンパ様構造は長期抗腫瘍効果の十分条件となる可能性がある
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木弘行、猪俣 頌、山口 光、峯 勇人、高木玄教、尾崎有紀、渡部晶之、井上卓哉、福原光朗、山浦 匠、武藤哲史、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、大杉 純、星野実加、樋口光徳、塩 豊
2. 発表標題 癌に対する複合免疫療法の新展開～外科医でなければならないこと～
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤哲史、猪俣 頌、山口 光、高木玄教、尾崎有紀、岡部直行、松村勇輝、塩 豊、鈴木弘行
2. 発表標題 非小細胞肺癌における、 β -cateninの発現と免疫チェックポイント阻害薬による治療効果
3. 学会等名 第38回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高木玄教、武藤哲史、福原光朗、猪俣 頌、山口 光、渡部晶之、尾崎有紀、岡部直行、松村勇輝、塩 豊、鈴木弘行
2. 発表標題 非小細胞肺癌へのICI投与における内分泌障害の検討
3. 学会等名 第62回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 武藤哲史、猪俣 頌、山口 光、高木玄教、渡部晶之、尾崎有紀、岡部直行、松村勇輝、塩 豊、鈴木弘行
2. 発表標題 肺癌におけるirAEの経験とその盲点
3. 学会等名 第34回日本バイオセラピー学会学術集会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 原発性肺癌におけるDelta-like 1 homolog (DLK1)を標的とした治療開発および臨床的意義
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 原発性肺癌における治療標的としてのDelta-like 1 homolog (DLK1)検索と新たな治療開発
3. 学会等名 第37回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 Delta-like 1 homolog (DLK1)を標的とした治療開発および臨床的意義の検討
3. 学会等名 第60回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 Delta-like 1 homolog (DLK1)を標的とした治療開発および臨床的意義
3. 学会等名 第32回日本バイオセラピー学会学術集会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 Delta-like 1 homolog (DLK1) expression in non-small-cell lung cancer and the development of radioimmunotherapy targeting DLK1
3. 学会等名 2019 World Conference on Lung Cancer (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 原発性肺癌におけるDelta-like 1 homolog (DLK1)の臨床的意義の検討
3. 学会等名 第28回日本癌病態治療研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高木玄教、趙松吉、武藤哲史、山口光、峯勇人、渡部晶之、岡部直行、松村勇輝、長谷川剛生、塩豊、粟生木美穂、稲野彰洋、鈴木弘行
2. 発表標題 原発性肺癌におけるDelta-like 1 homolog (DLK1)の臨床的意義
3. 学会等名 第36回日本呼吸器外科学会学術集会
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
---------	---------