

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 20 日現在

機関番号：24303

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06184・19K21289

研究課題名（和文）固形癌における革新的ゲノム解析法を用いた免疫微小環境ならびに腫瘍不均一性の解明

研究課題名（英文）Immune cytolytic activity to assess anti-tumor immunity associates with intra-tumoral genetic heterogeneity and impacts clinical outcomes in solid tumor

研究代表者

川口 耕（KAWAGUCHI, TSUTOMU）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・特任助教

研究者番号：60825058

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,300,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は乳癌・肝臓癌の転移浸潤における免疫微小環境の役割とその臨床的意義の解明を目的とした。腫瘍臨床サンプルに対して次世代シーケエンサー解析を行い、RNAならびにDNA シーケエンスデータに独自の数理モデル解析基盤を応用、腫瘍内の遺伝子変異、遺伝子発現、ゲノム不安定性、免疫微小環境をそれぞれ定量、評価した。さらに癌細胞や免疫担当細胞（Tリンパ球やBリンパ球）の腫瘍内多様性（不均一性）をゲノムレベル評価した。それらのデータを元に乳癌・肝臓癌における悪性度の獲得や腫瘍内多様性（heterogeneity）獲得における免疫微小環境の役割とその臨床的意義を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究はさらなる革新的な網羅的ゲノム解析手法の導入により、固形癌の転移浸潤における免疫微小環境の役割とその臨床的意義の解明を目的とした。従来の腫瘍を分割して複数の解析をする手法と異なり、本研究では単一のシーケンスデータから複数のパラメータを計測、独自に開発した数理モデル解析基盤を適応した。すなわち、革新的なトランスクリプトミクスレベルの解析アルゴリズムを応用し、腫瘍内の免疫微小環境を定量、評価する。またDNA シーケエンスデータを元に腫瘍内のゲノム不安定性を定量した。本手法は他の様々な癌種の免疫微小環境を含めた病態解明さらには適切な治療法の確立に寄与すると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Our aim was to examine the immune landscape of BrCa as it relates to aspects of tumor biology, including intra-tumoral genetic heterogeneity and clinical significance. Using The Cancer Genome Atlas (TCGA) and other large independent datasets, we correlated cytolytic activity (CYT) with mutational, structural, and genetic features of the tumor, as well as clinical outcomes. High CYT associates with high anti-tumor immunity and genetic heterogeneity, suggesting that intrinsic oncogenic processes strongly correlated with intra-tumoral immune landscape. Furthermore, cytolytic activity combined with PD-L1 status may provide an improved index predicting the clinical outcomes in BrCa patients.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：腫瘍免疫 ゲノム 乳癌 肝臓癌 免疫微小環境 シーケンス

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、発癌ならびに癌進展における腫瘍浸潤リンパ球 (TILs) の重要性が示されてきたが、乳癌や肝癌における腫瘍関連の免疫微小環境とその臨床的意義は未だ明らかではない。

2. 研究の目的

本研究は乳癌・肝臓癌の転移浸潤における免疫微小環境の役割とその臨床的意義の解明を目的とした。腫瘍臨床サンプルに対して次世代シーケエンサー解析を行い、RNA ならびに DNA シーケンスデータに独自の数理モデル解析基盤を応用、腫瘍内の遺伝子変異、遺伝子発現、ゲノム不安定性、免疫微小環境をそれぞれ定量、評価した。さらに癌細胞や免疫担当細胞 (T リンパ球や B リンパ球) の腫瘍内多様性 (不均一性) をゲノムレベル評価した。それらのデータを元に乳癌・肝臓癌における悪性度の獲得や腫瘍内多様性 (heterogeneity) 獲得における免疫微小環境の役割とその臨床的意義を解明した。

3. 研究の方法

乳癌、肝癌について、包括的ゲノムデータバンクである The Cancer Genome Atlas (TCGA) といくつかの独立したコホートを用いて、腫瘍免疫活性指標 (CYT) と各種ゲノム情報との関連を解析し、その臨床的予後との関連について検討した。

4. 研究成果

乳癌：

乳癌組織において、CYT 高値は腫瘍内の CD 8 や M 1 マクロファージなど抗腫瘍免疫細胞数と相関したが、Treg や M 2 マクロファージなどの抗腫瘍免疫抑制細胞とは逆相関であった。また CYT 高値は体細胞変異やゲノム不安定性と相関した。さらに CYT 高値は免疫チェックポイント分子やその他免疫関連遺伝子群、APOBEC 3 などの発現と相関していた。興味深いことに CYT 高値は腫瘍多様性と逆相関した。臨床的意義に関して、高 CYT と低 PD-L 1 の組み合わせにより、非常に予後の良い集団を特定することが可能であった。

また CYT 高値腫瘍は化学療法に良く反応し、免疫チェックポイント阻害剤への反応予測も良好であることが示された。CYT は、抗腫瘍免疫とゲノム多様性に関連し、予後予測の手段となりうる。

肝癌：

CYT 高値は、遺伝子変異の指標の一つである APOBEC 3 群の発現と相関した。また CYT 高値は CD 8 や M 1 マクロファージなどの抗腫瘍免疫関連分子と相関を示した。また T 細胞受容体や B 細胞受容体のレパトアと相関していた。また CYT 高値は免疫チェックポイント分子の発現と相関し、その他の免疫関連遺伝子群とも強い相関を示した。

CYT 高値を示す肝癌患者は無増悪生存、無再発生存期間、全生存期間などにおいて有意に予後

良好であり、CYT 高値・免疫チェックポイント分子低発現群は最も予後良好なグループとして同定された。また多変量解析において、CYT は独立した予後因子となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7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 Narayanan Sumana, Kawaguchi Tsutomu, Peng Xuan, Qi Qianya, Liu Song, Yan Li, Takabe Kazuaki	4. 巻 9
2. 論文標題 Tumor Infiltrating Lymphocytes and Macrophages Improve Survival in Microsatellite Unstable Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13455
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-49878-4	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 McDonald Kerry-Ann, Kawaguchi Tsutomu, Qi Qianya, Peng Xuan, Asaoka Mariko, Young Jessica, Opyrchal Mateusz, Yan Li, Patnaik Santosh, Otsuji Eigo, Takabe Kazuaki	4. 巻 26
2. 論文標題 Tumor Heterogeneity Correlates with Less Immune Response and Worse Survival in Breast Cancer Patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 2191 ~ 2199
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1245/s10434-019-07338-3	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 Kawaguchi Tsutomu, Narayanan Sumana, Takabe Kazuaki	4. 巻 25
2. 論文標題 ASO Author Reflections: "From Computer to Bedside": A New Translational Approach to Immunogenomics	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 846 ~ 847
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1245/s10434-018-6957-9	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 Kawaguchi Tsutomu, Yan Li, Qi Qianya, Peng Xuan, Edge Stephen B., Young Jessica, Yao Song, Liu Song, Otsuji Eigo, Takabe Kazuaki	4. 巻 25
2. 論文標題 Novel MicroRNA-Based Risk Score Identified by Integrated Analyses to Predict Metastasis and Poor Prognosis in Breast Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 4037 ~ 4046
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1245/s10434-018-6859-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 Narayanan Sumana, Kawaguchi Tsutomu, Yan Li, Peng Xuan, Qi Qianya, Takabe Kazuaki	4. 巻 25
2. 論文標題 Cytolytic Activity Score to Assess Anticancer Immunity in Colorectal Cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 2323 ~ 2331
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-018-6506-6	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 Hait Nitai C., Maiti Aparna, Xu Pan, Qi Qianya, Kawaguchi Tsutomu, Okano Maiko, Takabe Kazuaki, Yan Li, Luo Cheng	4. 巻 34
2. 論文標題 Regulation of hypoxia inducible factor functions in the nucleus by sphingosine 1 phosphate	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FASEB Journal	6. 最初と最後の頁 4293 ~ 4310
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fj.201901734RR	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 Okano M, Oshi M, Butash A, Okano I, Saito K, Kawaguchi T, Nagahashi M, Kono K, Ohtake T, Takabe K.	4. 巻 25
2. 論文標題 Orthotopic Implantation Achieves Better Engraftment and Faster Growth Than Subcutaneous Implantation in Breast Cancer Patient-Derived Xenografts.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Mammary Gland Biol Neoplasia	6. 最初と最後の頁 27-36
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10911-020-09442-7	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0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----