

令和 5 年 6 月 11 日現在

機関番号：13901

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16300

研究課題名(和文) 直腸癌の免疫微小環境に与える術前化学療法の影響と新規治療レジメンの開発

研究課題名(英文) The impact of neoadjuvant chemotherapy for immune microenvironment of rectal cancer

研究代表者

小倉 淳司(Ogura, Atsushi)

名古屋大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：20867262

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)：局所進行直腸癌における術前化学療法(NAC)とtumor microenvironmentの関係性を明らかにすることを目的とした。NAC後に原発切除した局所進行直腸癌66例を対象とした。tPD-1陽性、tCD8陽性例はNACにより有意に増加した(p=0.016, 0.005)。さらに、tPD-1陽性かつtCD8陽性が独立したNAC奏効の予測因子であった(OR: 29.8, 95% CI: 3.16-281.0, p = 0.003)。大腸癌においてNACが免疫賦活に寄与する可能性及び、tPD-1陽性かつtCD8陽性は局所進行直腸癌に対するNACの奏効予測因子であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、直腸癌に対するNACの新たな役割と効果予測の免疫学的背景の可能性が示唆された。

Nonoperative managementを企図して術前治療がさらに強化されたtotal neoadjuvant therapy (TNT)が拡がる中、治療戦略の安全性と有効性を向上するために治療開始前に奏効予測が立てられることは大きな利点となり得る。特にchemotherapy 1stのTNTにおいては、安全なNOMへの一助とともに、効果不良例への化学放射線療法追加の一助ともなり得る。

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to clarify the relationship between neoadjuvant chemotherapy (NAC) and tumor microenvironment in locally advanced rectal cancer. In 66 patients who underwent curative surgery followed by NAC, NAC significantly increased the patients with PD-1+ (p = 0.016) and CD8+ (p = 0.005). Furthermore, tPD-1+ and tCD8+ before NAC was independent predictive factor for good responder NAC (OR: 29.8, 95% CI: 3.16-281.0, p = 0.003). In the treatment of colorectal cancer, this study would indicate that NAC can stimulate the immunogenesis and tPD-1+ and tCD8+ on biopsy would be a positive predictor for good responders to NAC.

研究分野：直腸癌

キーワード：術前化学療法 免疫微小環境 CD8 PD1 直腸癌

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、多くの癌種で免疫チェックポイント阻害薬の目覚ましい効果が報告されている。そのうちの一つである抗 PD-1/PD-L1 抗体薬は、腫瘍に発現した PD-L1 と T 細胞に発現した PD-1 が結合することにより、腫瘍が T 細胞からの攻撃を抑制する「免疫寛容」を阻害することで効果を発揮する。大腸癌においては、標準化学療法後の高頻度 microsatellite instability (MSI) 不安定性 (MSI-high) 転移性大腸癌に対して承認を得ているが、その適応は大腸癌全体の 5% 程度と非常に限定されている。

そこで現在注目されているのが、免疫チェックポイント阻害薬の先行治療としての放射線療法による相乗効果である。メカニズムは完全には解明されていないが、先行治療により増加した Neoantigen によって活性化された CD8 陽性 T 細胞による抗腫瘍効果が関与していると考えられている。研究代表者らは、直腸癌における術前放射線治療 (RT) 前後で特に腫瘍周囲の間質における PD-L1 と CD8 陽性 T 細胞の有意な相関を報告した。このように欧米で標準治療とされている RT 症例に関する報告は、研究代表者らの報告も含め散見される。しかし、RT はあくまで局所療法であり、予後を規定する遠隔転移への効果は示すエビデンスは乏しい。一方で、NAC は局所だけでなく遠隔病巣への効果も期待できる魅力ある治療法である。これまで我々は直腸癌に対する NAC の有用性について報告してきたが、NAC が免疫微小環境に与える影響についての報告はほぼ皆無である。

2. 研究の目的

本研究の目的は直腸癌において NAC が免疫微小環境に与える影響の解明、免疫チェックポイント阻害薬の効果を増幅する機構とバイオマーカーの解明を目的とした。

3. 研究の方法

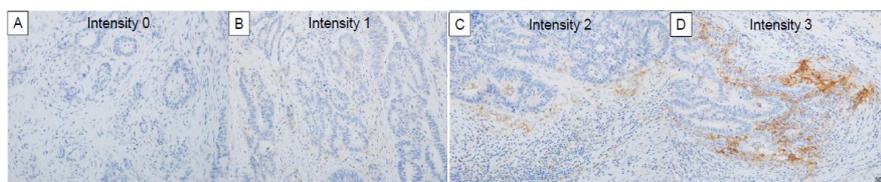
対象は当科で NAC 後に原発切除した局所進行直腸癌の中で、NAC 前と術後双方で評価可能であった 66 例を対象とした。腫瘍細胞に発現したもの(t)と間質に発現したもの(s)を別々に評価した。

当施設で NAC 後に切除された直腸癌症例における NAC の免疫微小環境に与える影響を後方視的に検討する。

PD-1/PD-L1 発現パターンの評価と CD8 陽性 T 細胞の定性評価

各症例の生検検体と手術検体のパラフィン包埋切片のうち、腫瘍部分を薄切する。免疫染色は PD-1(ab137132)/PD-L1 (ab205921)と CD8 (cloneC8/144B)を用いて染色する。PD-L1 の発現パターンおよび CD8 陽性 T 細胞の定性評価は、先行研究に準じて腫瘍部分 (tumor PD-1/PD-L1)と間質部分 (stromal PD-1/PD-L1)に分けて行う。これは腫瘍部だけでは陽性例が極めて少なくなる可能性があること、腫瘍と間質での反応は異なる意味を持つ可能性が示唆されるからである。

・PD-1/PD-L1 発現パターンの評価：前述の関連論文や、申請者の行った先行研究を参考に、染色濃度を 0：陰性、1：弱陽性、2：陽性に分類し、1-2 が腫瘍細胞または腫瘍細胞近傍の間質(100 μm 以内)に存在する場合を陽性とした。



・CD8 陽性 T 細胞の定量化：

CD8 も PD-1/PD-L1 と同様に染色濃度を 0:陰性、1:弱陽性、2:陽性に分類し、2 が腫瘍細胞または腫瘍細胞近傍の間質(100 μm 以内)に存在する場合を陽性とした。

PD-1/PD-L1 発現と CD8 陽性 T 細胞の増減パターンと病理学的効果判定との関連性の解析

前述した方法で分類された PD-1/PD-L1 と CD8 陽性 T 細胞の発現パターンと NAC の病理学的効果判定の相関をカイニ乗検定または Fisher の正確検定で統計学的に解析する。なお、病理学的効果判定は Dworak らの Tumor regression grade (TRG)の基準を用いて、5 段階に分類する。

PD-1/PD-L1 発現と CD8 陽性 T 細胞の増減パターンと予後の関連性の解析

前述した方法で分類された PD-1/PD-L1 と CD8 陽性 T 細胞の発現パターンと予後の関連性を Kaplan-meier 法による Log-rank テストで統計学的解析を行う。予後の指標としては全生存率 (Overall survival: OS)、無病生存率 (Disease-free survival: DFS)を用いる。

4. 研究成果

✓ 全 66 例中奏効群は 18 例(27%)、非奏効群は 48 例(73%)であった。

- ✓ tPD-1 陽性例は NAC 前 6 例(10.3%)であったのに対し、術後は 14 例(24.1%)($p = 0.016$)と増加し、tCD8 陽性も NAC 前 16 例(26.7%)に対し、術後 27 例(45.0%)($p = 0.005$)とそれぞれ有意に増加した。
- ✓ 奏効群において生検検体での tPD-1、 tCD8 陽性例が有意に多かった(38.9% vs. 4.2%, $p = 0.002$ 、61.1% vs. 20.8%, $p = 0.008$)。さらに、tPD-1 と tCD8 がともに陽性の症例は 8 例であり、うち奏効 群が 7 例(87.5%)と有意に多い結果であった($p < 0.001$)。
- ✓ NAC の奏効予測因子の多変量解析を行うと、tPD-1 陽性かつ tCD8 陽性が独立した予測因子として抽出された(OR: 29.8, 95% CI: 3.16-281.0, $p = 0.003$)。大腸癌において NAC が免疫賦活に寄与する可能性が示唆された。tPD-1 陽性かつ tCD8 陽性は局所進行直腸癌に対する NAC の奏効予測因子であることが示唆された。
- ✓ Nonoperative management を企図して術前治療がさらに強化された total neoadjuvant therapy が拡まる中、治療戦略の安全性と有効性を向上するために治療開始前に奏効予測が立てられることは大きな利点となり得る。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 三品拓也、小倉淳司、上原 圭、村田悠記、小林龍太郎、余語孝乃助、稲田亘佑、横山幸浩、江畑智希
2. 発表標題 局所進行直腸癌に対する術前化学療法と腫瘍免疫微小環境の関連についての検討
3. 学会等名 第78回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2023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
---------	---------