

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16764

研究課題名(和文) 腫瘍免疫に関わる生物学的因子解析と個別化放射線治療への応用

研究課題名(英文) Analysis of biological factors involved in tumor immunity and its application to personalized radiotherapy.

研究代表者

土屋 高旭 (Tsuchiya, Takaaki)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：90631169

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)：根治的放射線治療を行った子宮頸癌症例において、治療前の血中におけるエクソソーム内のmiRNA・腫瘍に浸潤するCD8陽性およびFoxP3陽性T細胞・予後の関連について調査を行い、再発の有無で発現の差がある9種のmiRNAシグネチャを同定した。また、いくつかのmiRNAシグネチャの発現は腫瘍浸潤CD8陽性およびFoxP3陽性T細胞の発現数と逆相関を示し、腫瘍免疫抑制と化学放射線治療の効果抑制の関連の可能性が示唆された。

この結果により、miRNAシグネチャを用いることで子宮頸がんの非侵襲的モニタリングと個別化治療を改善できる可能性があることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、腫瘍免疫機構が解明されつつあり、臨床においても免疫チェックポイント阻害薬が承認され効果が認められている。しかし、放射線治療と腫瘍免疫機構の関連については未解明の部分が多い。この研究では子宮頸癌における腫瘍免疫関連タンパクの発現や腫瘍免疫の制御に関わる血中マイクロRNAと放射線治療の成績について比較検討を行っている。その結果、いくつかのmiRNAシグネチャの発現は腫瘍免疫との関連を示すとともに化学放射線治療の効果にも影響を及ぼしている可能性が示された。

これにより腫瘍免疫やmiRNAに基づいた個別化治療を行うことで、化学放射線治療の効果を高められる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We investigated the expression of miRNAs in exosomes and tumor-infiltrating CD8-positive and FoxP3-positive T cells in blood before treatment in patients with uterine cervical cancer treated with definitive radiotherapy. The results and their prognostic relevance were also investigated. As a result, we identified nine miRNA signatures that were differentially expressed with or without recurrence. The expression of some miRNA signatures was inversely correlated with the number of tumor-infiltrating CD8-positive and FoxP3-positive T cells, suggesting a possible association between tumor immunosuppression and suppression of chemoradiotherapy efficacy. These results indicate that the use of miRNA signatures may improve noninvasive monitoring and personalized treatment of cervical cancer.

研究分野：放射線治療

キーワード：腫瘍免疫 リキッドバイオプシー 放射線治療 治療効果予測

1. 研究開始当初の背景

放射線治療による抗腫瘍効果の本質は、X線が腫瘍細胞内のDNA損傷を起こし、それによりアポトーシスが誘導され間期死を起こす、またはDNA損傷の蓄積によって増殖期に細胞分裂がうまく行かず増殖死を起こす、のいずれか2つの経路がメインと考えられていた。ところが臨床上市すべての腫瘍細胞を死滅させるだけの十分な線量を照射できなかった場合においても長期間の局所制御が得られるものや、照射野外にある腫瘍が縮小する現象(アブスコパル効果)がまれに観察される。よって従来考えられていたDNA損傷だけでなく、抗腫瘍効果には腫瘍免疫機構などが関連している可能性がある。

近年、腫瘍免疫機構のメカニズムが詳しく調べられ、腫瘍細胞がいかにして宿主の免疫細胞からの攻撃を避けて増殖、進行していくのか解明されつつある。腫瘍免疫に関わる主な経路としてはPD-L1 (Programmed death ligand-1) タンパクが知られ、腫瘍細胞表面のPD-L1発現量が多いと免疫逃避機構が強く働き、なおかつ放射線治療抵抗性の原因なる事が知られている。また、免疫細胞であるCD8陽性のTリンパ細胞が腫瘍内に多く浸潤している場合には放射線治療効果が良好である事も報告されており、この両面から放射線治療の効果予測に関連する研究が行われている。

つまり放射線治療に対する抗腫瘍効果は、従来の(1)放射線治療によるDNA損傷修復の観点に加えて、(2)放射線治療による腫瘍免疫機構の応答についても積極的に研究が進められている。これまで我々のグループでは、DNA修復に関わるタンパク発現(DNA-PKcs, Ku70, XRCC4など)を免疫染色し、解析する事で、複数のがん種に対して放射線治療効果予測が可能である事を報告してきた(Hayashi, 2012; Takada, 2016; Horii, 2017; Hasegawa, 2017; Kitagawa2019)が、今回は腫瘍免疫にテーマを当てて治療効果予測の研究を進める事とした。

2. 研究の目的

本研究ではこれまでの我々の研究成果を発展させ、腫瘍免疫関連タンパクの発現と放射線治療成績の相関を解明し、臨床応用に結びつけることを目的とした。具体的には、(A)治療開始前の生検検体および術後摘出標本を用いた、腫瘍免疫関連タンパクの免疫組織染色による放射線治療効果予測、(B)腫瘍免疫の制御に関わる血中マイクロRNAの同定を行い、がん細胞の腫瘍免疫関連因子を用いた放射線感受性予測法の臨床応用と個別化放射線治療の実用化を目指した。

3. 研究の方法

(A) 治療開始前の生検検体および術後摘出標本を用いた、腫瘍免疫関連タンパクの免疫組織染色による放射線治療効果予測

子宮頸がんの治療開始前の生検標本を用いて、腫瘍免疫に関わるタンパクであるPD-L1、HLA-1、CD8、FoxP3などの発現を免疫組織染色で検討し、放射線治療成績との相関関係を解析した。

(B) 腫瘍免疫の制御に関わる血中マイクロRNAの同定

これまでに非小細胞肺癌や口腔がんなどで、腫瘍免疫の調整に、血中に存在するマイクロRNAが関わっていると報告がある(Fujita, 2015; Ahn, 2017)。これを応用し、当施設で採取したサンプルの中から血中に存在するマイクロRNAを抽出し、腫瘍免疫関連タンパクと相関するものを同定した。

4. 研究成果

当施設で根治的放射線治療を行った子宮頸癌症例において、治療前の血中におけるエクソソーム内のmiRNA・腫瘍に浸潤するCD8陽性およびFoxP3陽性T細胞・予後の関連について調査を行った。その結果、再発の無い群とある群で発現の差がある9種のmiRNAシグネチャを同定した(図1)。また、そのmiRNAシグネチャを用いて患者を高リスク群と低リスク群に分けたところ、高リスク群は低リスク群に比べ、疾患特異的生存率が有意に低下していた(図2)。さらに、いくつかのmiRNAシグネチャの発現は腫瘍浸潤CD8陽性およびFoxP3陽性T細胞の発現数と逆相関を示し、腫瘍免疫抑制と化学放射線治療の効果抑制の関連の可能性が示唆された。この結果により、miRNAシグネチャを用いることで子宮頸がんの非侵襲的モニタリングと個別化治療を改善できる可能性があることが示された。この結果はMedical Molecular Morphology誌に投稿し受理・掲載された。

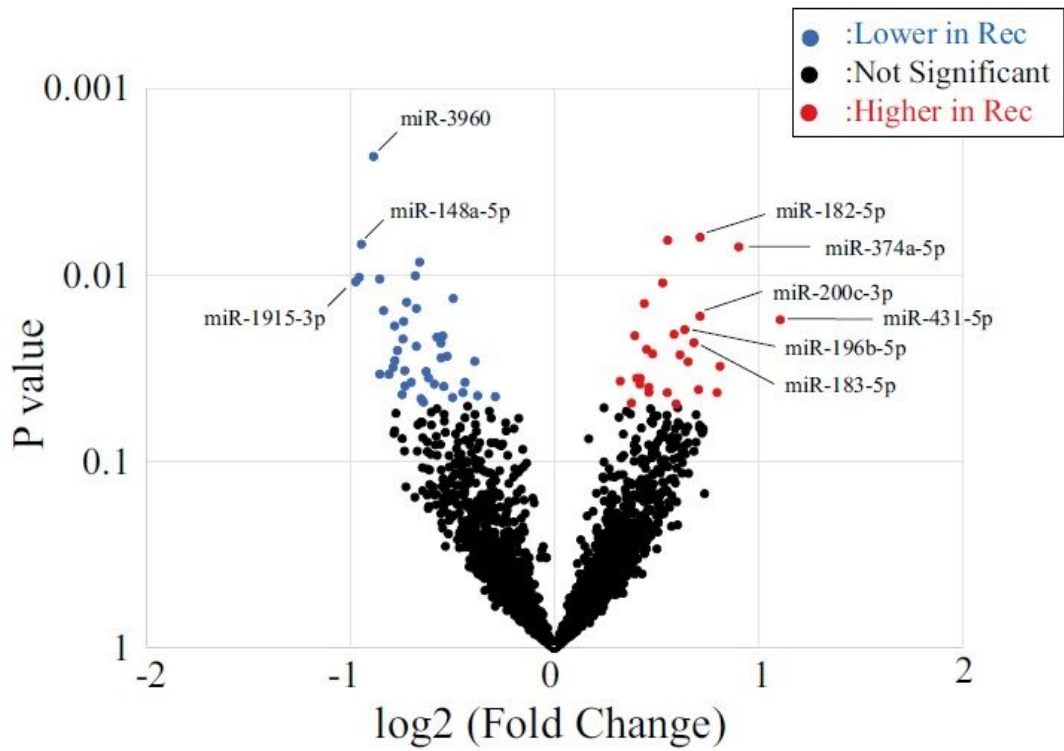
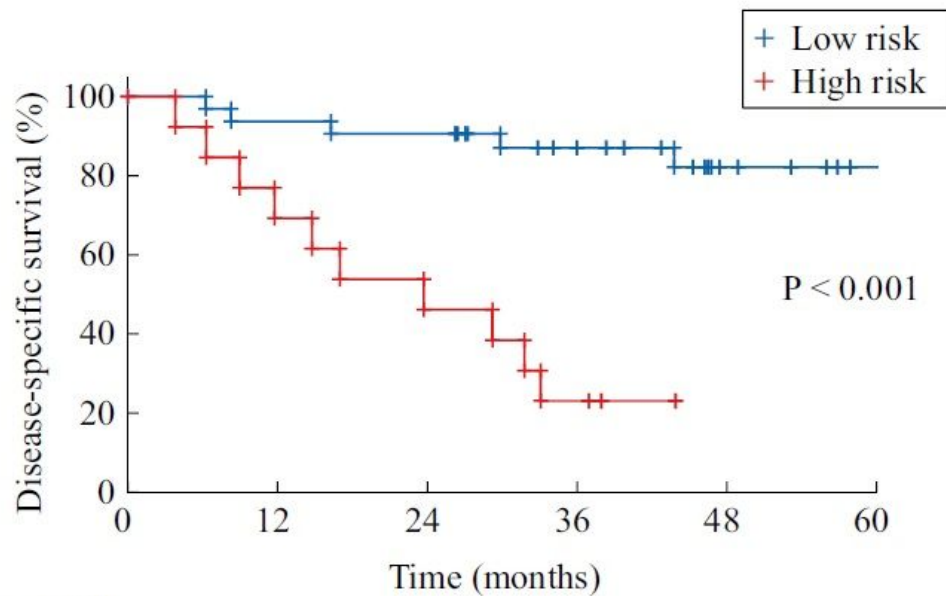


図1: 横軸を発現比、縦軸を p 値とした散布図(Volcano Plot)。赤丸は再発群で発現量が多い miRNA、青丸は再発群で発現量が有意に少ない miRNA を示す。



Number at risk						
Low risk	32	30	29	21	12	7
High risk	12	9	6	3	0	0

図2: 9 種の miRNA シグネチャに基づくリスクスコアによって層別化された、低リスク群および高リスク群の患者の疾患特異的生存率

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Someya Masanori, Tsuchiya Takaaki, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Hori Masakazu, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Matsumoto Yoshihisa, Sakata Koh-ichi	4. 巻 54
2. 論文標題 Prediction of treatment response from the microenvironment of tumor immunity in cervical cancer patients treated with chemoradiotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 245 ~ 252
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-021-00290-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 Someya Masanori, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Kozuka Yoh, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Sakata Koh-ichi	4. 巻 40
2. 論文標題 Radiotherapy for HPV-related cancers: prediction of therapeutic effects based on the mechanism of tumor immunity and the application of immunoradiotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Radiology	6. 最初と最後の頁 458 ~ 465
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11604-021-01231-4	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 Someya Masanori, Tokita Serina, Kanaseki Takayuki, Kitagawa Mio, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Fukushima Yuki, Gocho Toshio, Kozuka Yoh, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Takahashi Mamoru, Moniwa Keigo, Matsuo Kazuhiko, Hasegawa Tadashi, Torigoe Toshihiko, Sakata Koh-ichi	4. 巻 113
2. 論文標題 Combined chemoradiotherapy and programmed cell death ligand 1 blockade leads to changes in the circulating T cell receptor repertoire of patients with non small cell lung cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 4394 ~ 4400
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15566	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 Someya Masanori, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Kitagawa Mio, Fukushima Yuki, Gocho Toshio, Mafune Shoh, Ikeuchi Yutaro, Kozuka Yoh, Idogawa Masashi, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Sakata Koh-ichi	4. 巻 56
2. 論文標題 Predictive value of an exosomal microRNA-based signature for tumor immunity in cervical cancer patients treated with chemoradiotherapy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Molecular Morphology	6. 最初と最後の頁 38 ~ 45
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00795-022-00338-5	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 Someya Masanori, Tsuchiya Takaaki, Fukushima Yuki, Hasegawa Tomokazu, Takada Yu, Hori Masakazu, Miura Katsutoshi, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Hirohashi Yoshihiko, Torigoe Toshihiko, Iwasaki Masahiro, Matsuura Motoki, Saito Tsuyoshi, Sakata Koh-ichi	4. 巻 50
2. 論文標題 Association between cancer immunity and treatment results in uterine cervical cancer patients treated with radiotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 1290 ~ 1297
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jjco/hyaa149	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 Someya Masanori, Hasegawa Tomokazu, Tsuchiya Takaaki, Kitagawa Mio, Gocho Toshio, Fukushima Yuuki, Hori Masakazu, Miura Katsutoshi, Takada Yu, Nakata Kensei, Sakata Koh-ichi	4. 巻 61
2. 論文標題 Retrospective DVH analysis of point A based intracavitary brachytherapy for uterine cervical cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Radiation Research	6. 最初と最後の頁 265 ~ 274
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jrr/rrz099	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 染谷正則、土屋高旭、長谷川智一、福島悠希、池内佑太郎、眞船翔、北川未央、後町俊夫、坂田耕一
2. 発表標題 血中エクソソームmiRNAを用いた子宮頸癌の治療効果予測
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第34回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染谷正則、福島悠希、土屋高旭、長谷川智一、堀正和、後町俊夫、小塚陽、池内佑太郎、眞船翔、坂田耕一
2. 発表標題 Relationship between the type of CD8 invasion and prognosis in cervical cancer patients treated with definitive radiotherapy.
3. 学会等名 第80回日本医学放射線学会総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染谷正則、土屋高旭、福島悠希、長谷川智一、北川未央、後町俊夫、岩崎雅宏、松浦基樹、齋藤豪、坂田耕一
2. 発表標題 子宮頸癌根治照射症例におけるCD8の浸潤形式と予後との関連
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 染谷正則、土屋高旭
2. 発表標題 HPV関連癌における腫瘍免疫と放射線治療との関係
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会第33回学術大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 染谷正則、土屋高旭
2. 発表標題 Relationship between tumor immunity and radiotherapy effects in HPV associated cancer.
3. 学会等名 第56回日本医学放射線学会秋季臨床大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 染谷 正則、土屋 高旭、長谷川 智一、福島 悠希、北川 未央、小塚 陽、井戸川 雅史、廣橋 良彦、鳥越 俊彦、坂田 耕一
2. 発表標題 リキッドバイオプシーを用いた放射線治療効果予測と腫瘍免疫微小環境の非侵襲的なモニタリング
3. 学会等名 第50回放射線による制癌シンポジウム
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 染谷 正則、土屋 高旭、福島 悠希、長谷川 智一、高田 優、中田 健生、堀 正和、三浦 勝利、北川 未央、後町 俊夫、岩崎 雅宏、松浦 基樹、齋藤 豪、坂田 耕一
2. 発表標題 根治放射線療を行った進行期子宮頸癌症例における腫瘍免疫と予後の関連
3. 学会等名 第58回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 染谷 正則、土屋 高旭、福島 悠希、廣橋 良彦、鳥越 俊彦、坂田 耕一
2. 発表標題 がん免疫と放射線治療(基礎と臨床) HPV関連癌における腫瘍免疫と放射線治療効果との関係(An anti-tumor immunity and radiation: basic and clinicalresearch Relationship between tumor immunity and radiotherapy effects in HPV associated cancer)
3. 学会等名 第63回日本放射線影響学会大会
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
---------------------------	-----------------------	----

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