

令和 5 年 5 月 3 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17755

研究課題名（和文）胸腺癌における免疫療法の治療効果予測新規マーカー探索と網羅的遺伝子解析

研究課題名（英文）Novel biological markers for immunotherapy and comprehensive genetic analysis in thymic carcinoma

研究代表者

坂根 理司（Sakane, Tadashi）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：70779248

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）：本研究では、まず胸腺癌および胸腺神経内分泌腫瘍54例を対象に遺伝子パネルを用いた次世代シーケンスを行った。最も高頻度であった変異バリエーションはTP53変異であった。KIT、PDGFRAを含むチロシンキナーゼ受容体遺伝子群の変異陽性例は有意に予後不良であった。続いて、胸腺癌を含む胸腺上皮性腫瘍192例において癌精巣抗原の発現を確認した。癌精巣抗原は胸腺上皮性腫瘍において広く発現しており、組織学的悪性度が高くなるにつれて、概ね発現率が高くなっていた。またB2/B3胸腺腫において、SAGEとGAGE7の発現例は予後不良であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胸腺癌は手術以外の有効な治療法がないにも関わらず、その手術も一部の患者に限られる。免疫チェックポイント阻害薬もいまだに臨床応用されていない。本研究にて胸腺癌の一部の患者にはチロシンキナーゼ受容体遺伝子の変異がみられた。これらの患者ではチロシンキナーゼ阻害薬が有効である可能性がある。また胸腺上皮性腫瘍における悪性度と癌精巣抗原の発現には概ね相関がみられた。悪性度の高い胸腺癌において癌精巣抗原をターゲットとした免疫療法が可能になるかもしれない。胸腺癌に対する有効な薬物治療確立の可能性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：In this study, first, we tested a next-generation sequencing panel in 48 cases of thymic carcinoma and 6 cases of thymic neuroendocrine tumor, and found that TP53 was the most frequently mutated gene, followed by KIT and PDGFRA. Prognostic analyses revealed that cases harboring gene mutations in RTKs, including KIT, PDGFRA and EGFR, were significantly associated with a worse overall survival time. Then, we examined the immunohistochemical expression of five cancer testis antigens (CTAs) in 192 cases of thymic epithelial tumor. We showed (i) a frequent CTA expression, (ii) a general correlation of CTA expression with tumor malignancy grades and (iii) a prognostic impact in some of the CTAs.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：胸腺癌 胸腺上皮性腫瘍 次世代シーケンス 遺伝子変異 癌精巣抗原 免疫組織染色 予後

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胸腺癌は稀少疾患の一つであり、発症の機構がほとんど解明されていない。根治を目指す治療法としては手術による完全切除しかないが、適応は一部に限られる。化学療法に関しても胸腺上皮性腫瘍に特化した有効な治療薬は今のところ明らかではない。

近年、免疫チェックポイント阻害薬などの免疫療法の臨床応用が多くの癌腫で活発であるが胸腺癌に対していまだに臨床応用されていない。

2. 研究の目的

本研究の最終的な目標は胸腺癌における新規治療法の確立と発症メカニズムの解明である。その目標を達成するために、本研究では腫瘍微小環境における特定のタンパク発現や免疫細胞の評価および治療標的や予後を予測マーカーとなりうる遺伝子変異の同定を目標とした。

3. 研究の方法

・ 胸腺癌の微小環境における癌精巢抗原の発現

当研究室に保管されている検体を用いて、免疫組織化学的に癌精巢抗原の発現の評価を行う。PD-L1 蛋白および臨床病理学的因子との相互関係の解析を行う。

・ 胸腺癌における遺伝子解析

当研究室に保管されている検体から DNA を抽出し、遺伝子解析を行う。次世代シーケンサーを用いて網羅的に遺伝子解析を行う(シークエンス、ライブラリー調整、ライブラリー定量/定性、バリエーションの解析)。同定された遺伝子変異などの結果と臨床病理学因子との関連について検討する。

4. 研究成果

・ 胸腺癌の微小環境における癌精巢抗原の発現

(1) 胸腺上皮性腫瘍における癌精巢抗原の発現

A 型胸腺腫 10 例、AB 型胸腺腫 31 例、B1 型胸腺腫 25 例、B2 型胸腺腫 54 例、B3 型胸腺腫 23 例、胸腺癌 49 例の胸腺上皮性腫瘍 192 例を対象に、5 種類の癌精巢抗原 (MAGE-A、NY-ESO-1、MAGE-C1、SAGE、GAGE7) の発現を免疫組織染色にて確認した。

MAGE-C1 以外の 4 種類の癌精巢抗原の発現率は腫瘍の悪性度と概ね相関していた (図 1)。胸腺扁平上皮癌では MAGE-C1 以外の 4 種類の癌精巢抗原の発現率は 23.1% から 43.6% であり、高発現であった。以上より悪性度の高い胸腺上皮性腫瘍、特に胸腺癌においては癌精巢抗原が治療のターゲットとなり得ると考えられた。

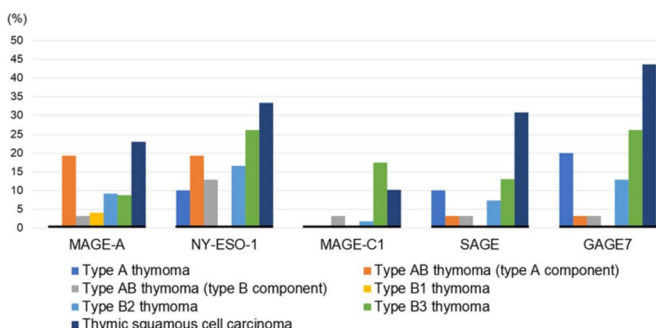


図 1 胸腺上皮性腫瘍における癌精巢抗原の発現

(2) 癌精巢抗原の発現と予後

B2 型胸腺腫と B3 型胸腺腫において、SAGE (p=0.0485) と GAGE7 (p=0.0289) の発現例は全生存期間の短縮が認められた。胸腺扁平上皮癌においては癌精巢抗原の発現と予後との間に相関関係は認めなかった。B2/B3 型胸腺腫において、SAGE と GAGE7 は予後マーカーとなり得ると考えられた。

(3) 癌精巢抗原と PD-L1 発現との関連

胸腺扁平上皮癌 29 例の検討において MAGE-A 陽性例 (n=7) では陰性例 (n=22) と比して腫瘍浸潤リンパ球の PD-L1 発現が高値であった。腫瘍細胞における PD-L1 発現および腫瘍浸潤リンパ球における CD4 や CD8 の発現との相関は見られなかった (図 2)。

	Thymic SqCC (n = 29)		P value
	MAGE-A positive (n = 7)	MAGE-A negative (n = 22)	
PD-L1 expression in tumor cells (% , mean ± SEM)	37.1429 ± 14.5920	41.3636 ± 8.3117	0.7462
PD-L1 expression in TILs (% , mean ± SEM)	6.1429 ± 2.6225	2.1818 ± 1.3414	0.0181
CD4 expression in TILs (% , mean ± SEM)	2.1429 ± 0.5948	7.1364 ± 3.1755	0.9527
CD8 expression in TILs (% , mean ± SEM)	9.4286 ± 2.8690	9.3182 ± 1.7769	0.7462

図 2 胸腺扁平上皮癌における MAGE-A 発現と PD-L1、CD4、CD8 発現との関連

・ 胸腺癌における遺伝子解析

(1) パネルシーケンス結果

54 例の胸腺癌のうち 21 例で 42 バリエントを認めた。このうち最も高頻度であったのは TP53 変異 (18.5%) で、ついで KIT 変異 (7.4%)、PDGFRA 変異 (5.6%) であった。遺伝子経路で分類すると、p53 経路の遺伝子変異が 20.4%、(RTK) /RAS 経路が 18.5%、PI3K 経路が 5.6% であった。これまで胸腺癌では TP53 変異を比較的多く認めると報告されていたが、今回の研究においても既存の報告と同様の結果を得た。KIT 変異や PDGFRA 変異は比較的低頻度であったが、これらの RTK 変異陽性例では、イマチニブをはじめとするチロシンキナーゼ阻害薬が有効である可能性が示唆された。

(2) 遺伝子変異と予後との関連

胸腺扁平上皮癌 44 例における検討では、KIT、PDGFRA、EGFR 変異を含む RTK 変異症例は全生存期間が有意に短縮していた ($p=0.0481$) (図 3) が、多変量解析では有意な予後因子は見いだせなかった。なお、TP53 変異と予後との相関は認めなかった。RTK 変異症例はチロシンキナーゼ阻害薬が有効である可能性に加え、予後不良群でもあったと考えられた。

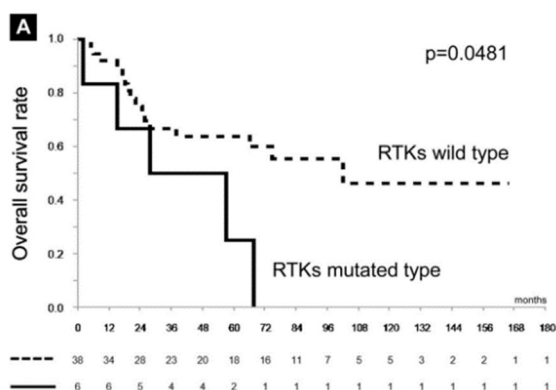


図 3 RTK 変異と全生存期間との関連

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tadashi Sakane, Takayuki Murase, Katsuhiko Okuda, Ayako Masaki, Ryoichi Nakanishi, Hiroshi Inagaki	4. 巻 71
2. 論文標題 Expression of cancer testis antigens in thymic epithelial tumors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Pathology International	6. 最初と最後の頁 471-479
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/pin.13103	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 Tadashi Sakane, Yuma Sakamoto, Ayako Masaki, Takayuki Murase, Katsuhiko Okuda, Ryoichi Nakanishi, Hiroshi Inagaki	4. 巻 22
2. 論文標題 Mutation Profile of Thymic Carcinoma and Thymic Neuroendocrine Tumor by Targeted Next-generation Sequencing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Lung Cancer	6. 最初と最後の頁 92-99
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.clcl.2020.11.010	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 Sakane Tadashi, Nakano Tomoharu, Hagui Emi, Haneda Hiroshi, Okuda Katsuhiko	4. 巻 -
2. 論文標題 Everolimus in combination with octreotide <scp>LAR</scp> in thymic atypical carcinoid	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Thoracic Cancer	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/1759-7714.14887	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 坂根理司、松井琢哉、小田梨紗、立松勉、横田圭右、奥田勝裕、遠藤克彦、羽田裕司、中西良一
2. 発表標題 胸腺癌における遺伝子パネルを用いた次世代シーケンス
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

〔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
---------	---------