

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18213

研究課題名(和文) 子宮頸癌放射線療法に伴うTCR改変と腫瘍内微小環境の解析と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Analysis of TCR modification and tumor microenvironment associated with radiation therapy for cervical cancer and development of new treatment modalities

研究代表者

吉田 光代 (YOSHIDA, MITSUYO)

東京大学・医学部附属病院・届出研究員

研究者番号：10833618

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：局所進行子宮頸癌の標準療法は化学放射線療法である。放射線療法は、細胞傷害を起こすと同時に、炎症性サイトカインの誘導に伴う変化を惹起する。このため放射線療法の治療効果予測には、局所免疫や全身性免疫を考慮することが重要である。本研究では、炎症や免疫応答に着目して、子宮頸癌放射線療法の治療効果を予測することを目的とした。子宮頸癌で放射線療法を受けた262人を対象とし、臨床病理学的特徴、MRI画像、血液データをもとに、機械学習を用いて予後予測を行った。その結果、腫瘍径とSCC値と組織型が予後予測因子として抽出された。炎症や免疫マーカーに着目すると、好中球数が予後予測因子として重要であることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

子宮頸癌ではhuman papilloma virus (HPV)の感染が、発癌や癌の進展と関わっている。ウイルス感染に伴う「宿主の免疫応答」と、「ウイルスの宿主免疫からの回避」のバランスにより、持続感染や発癌が制御されている。子宮頸癌の治療方法は、進行子宮頸癌に対しては化学放射線療法が選択されることが多いが、進行子宮頸癌の5年生存率は50%程度であり、十分とは言えない。本研究では、炎症や免疫応答に着目して、子宮頸癌の全身性免疫や局所免疫を評価することで、治療効果を予測した。さらに、放射線療法後に出現もしくは増加するT細胞を同定することでより強力な細胞療法候補を選定することも目的とした。

研究成果の概要(英文)：The standard therapy for locally advanced cervical cancer is chemoradiation. Radiation therapy induces changes associated with the induction of inflammatory cytokines as well as cellular injury. Therefore, it is important to consider local and systemic immunity in predicting the therapeutic effect of radiotherapy. In this study, we aimed to predict the therapeutic effect of radiotherapy for cervical cancer by focusing on inflammation and immune response. We used machine learning to predict prognosis based on clinicopathological features, MRI images, and blood data from 262 patients who had undergone radiation therapy for cervical cancer. As a result, tumor diameter, SCC value, and histological type were extracted as prognostic predictors. Focusing on inflammation and immune markers, neutrophil count was found to be an important prognostic factor.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：子宮頸癌 放射線療法 腫瘍内微小環境 TCR改変

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

子宮頸癌では human papilloma virus (HPV)の感染が、発癌や癌の進展と関わっている。ウイルス感染に伴う「宿主の免疫応答」と、「ウイルスの宿主免疫からの回避」のバランスにより、持続感染や発癌が制御されている。このため、「宿主の免疫反応」を効率的に惹起することは、前癌病変の治療や癌の進展制御につながることを期待されている。子宮頸癌の治療方法としては、早期癌に対しては手術療法が行われるが、進行子宮頸癌に対しては化学放射線療法が選択されることが多い。しかし、進行子宮頸癌の5年生存率は50%程度であり、まだ十分とは言い難いのが現状である。

化学放射線療法などの抗癌治療は、細胞傷害を起こすと同時に、炎症性サイトカインの誘導、DNA 障害に伴う細胞障害シグナルの活性など、局所に強い変化を惹起する。放射線療法による抗腫瘍効果を誘導するためには、抗腫瘍免疫の活性化、腫瘍免疫を抑制する腫瘍関連マクロファージ(TAM)や制御性 T 細胞(Treg)や炎症性サイトカインの制御が重要である。治療の効果予測を行うにあたり、癌細胞自体の放射線感受性や化学療法感受性が重要であることは言うまでもないが、局所免疫制御機構や全身免疫応答を理解することも重要である。特に子宮頸癌の放射線療法における免疫バイオマーカーとしては、血中グロブリン値が高いことが予後不良マーカーとして報告されている(Yoshino Y, Int J Gynecol Cancer, 2019)。

2. 研究の目的

本研究では、炎症や免疫応答に着目して、子宮頸癌の全身性免疫や局所免疫を評価することで、治療効果を予測できないかと着想した。まず後方視的検討により、血液データをもとに全身性の炎症応答や免疫応答を加味することで、放射線治療における治療効果予測や再発予測のバイオマーカーの候補を探索する。また、放射線治療に伴う局所免疫の変化を、免疫グロブリンを産生する形質細胞に注目して評価する。さらに本研究では、放射線療法による免疫改変に着目し、放射線療法後に出現もしくは増加する T 細胞を同定することでより強力な細胞療法の候補を選定することも目的とした。

3. 研究の方法

1. 後方視的検討：

1-1：炎症マーカーや全身性免疫マーカーに基づく放射線療法患者の予後予測モデルの構築

東京大学医学部附属病院と都立駒込病院で2008-2017年に初回治療で放射線療法をした子宮頸癌患者262人を対象とした。

因子	値
年齢、中央値 (IQR)	63 (29-91)
BMI、中央値 (IQR)	21.8 (14.3-42.4)
T STAGE N (%)	
I	15 (5.7)
II	100 (38.1)
III	119 (45.4)
IV	28 (10.7)
リンパ節転移 N (%)	117 (44.7)
組織型 N (%)	
扁平上皮癌	233 (88.9)
非扁平上皮癌	29 (11.1)
MRI 腫瘍径、中央値 (IQR)	48 (13-110)
初回治療方法 N (%)	
CCRT	200 (76.3)
RT	62 (23.7)

表 1：子宮頸癌放射線療法患者の臨床背景

・解析因子：

年齢、body mass index (BMI), T stage、リンパ節転移の有無、 傍大動脈転移 (MA) の有無、組織型、腫瘍径、初回治療法、CRP, Albumin (Alb), Globulin (Glob)、リンパ球数、好中球数、単球数、血小板数、ヘモグロビン値(Hb)、腫瘍マーカー (SCC, CA19-9, CEA) を用いた。

・解析方法：

まず、Random survival forest (" randomForestSRC v2.9.2 " " rfsc ") を用いて Progression free survival (PFS) と Overall survival (OS) を予測した。次に、Cox hazard と Random survival forest の比較を行った。精度評価は、C-index, Time-dependent AUC を用いて行った。

1-2：放射線療法検体の病理学的検討

1-1 で用いたデータベースのうち、101 例を対象に放射線治療前のヘマトキシリン・エオジン画像をもとに形質細胞とリンパ球浸潤を評価した。形質細胞とリンパ球浸潤は携帯から判断した。形質細胞浸潤の有無と OS との関連を検討した。また形質細胞浸潤とリンパ球浸潤の関連を検討した。

2. 子宮頸癌患者の放射線療法による T 細胞免疫応答の解析

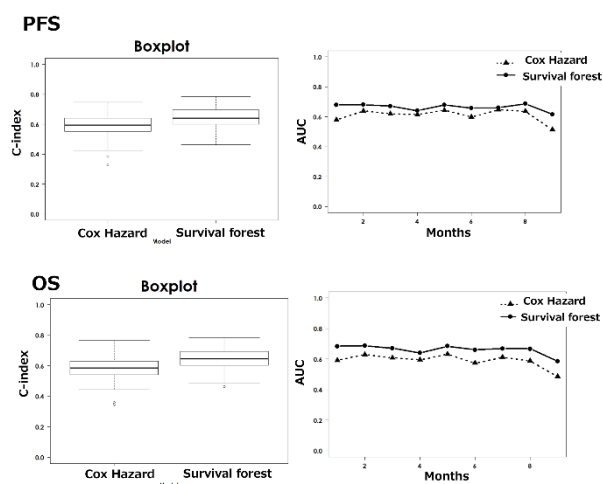
東京大学医学部附属病院で子宮頸がんの診断で放射線療法を行う患者を前向きに選別し、文書同意取得のもと、放射線療法前、放射線療法開始後 4 週間、終了時の経時的検体 (末梢血) を収集した。

子宮頸部細胞診検体を基に HPV タイピングを実施した。

また、T 細胞免疫応答を解析するため、HLA 型判定を行った。

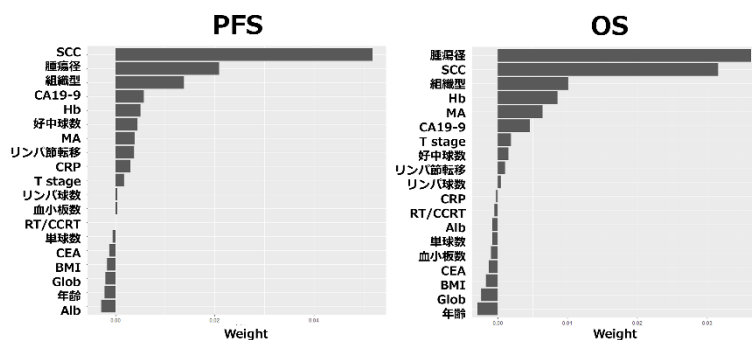
4. 研究成果

1-1: 炎症マーカーや全身性免疫マーカーに基づく放射線療法患者の予後予測モデルの構築



欠損値がない 211 人のデータを用いて、Survival forest と Cox hazard を用いて PFS と OS を予測した結果、PFS も OS もともに Survival forest で予測精度が高いことが分かった。また、Survival forest データより算出した各因子の予後予測に対する寄与度の計算では、PFS でも OS でも腫瘍径と SCC 値と組織型とヘモグロビン値が最も予後予測に重要であることがわかった。炎症や免疫マーカーに着目すると、好中球が上位因子として

抽出されていることが分かった。



1-2: 放射線療法検体の病理学的検討

まず、形質細胞浸潤の有無と OS との関連を検討した結果、形質細胞浸潤の有無は子宮頸癌放射線療法患者の OS とは関連しなかった ($p=0.165$)。次に、形質細胞浸潤とリンパ球浸潤の関連を検討した結果、形質細胞浸潤はリンパ球浸潤と優位に相関した (カイ 2 乗検定: $p=0.0018$)。

	リンパ球浸 潤(±)	リンパ球 浸潤(+)	合計
形質細胞浸 潤 (-)	12	37	49
形質細胞浸 潤 (+)	2	50	52
合計	14	87	101

2. 子宮頸癌患者の放射線療法による T 細胞免疫応答の解析

合計 12 人の患者から同意取得を行い検体収集した。患者年齢の中央値は 55.5 歳(範囲: 33 - 82 歳)、Stage I: 1 人、Stage II: 5 人、Stage III: 5 人、Stage IV が 1 人であった。組織型の内訳は、扁平上皮癌が 7 人、腺癌が 4 人、腺扁平上皮癌が 1 人であった。HPV タイピングの結果 HPV16 型が 5 人で陽性であった。HLA タイピングを行ったところ、抗原特異的免疫応答が解析可能な HPV16 型陽性で HLA*0201 陽性の患者は 1 人のみであった。

今後、さらに症例の蓄積を行い、抗原特異的 T 細胞の解析を行う予定である。

【考察】

まず、機械学習を用いた子宮頸癌の予後の検討より、子宮頸癌の予後規定因子としては、全身性の炎症性バイオマーカーよりも腫瘍径や SCC の値、組織型が重要であることがわかった。一方で、我々が用いた血液バイオマーカーは一般的な採血により取得されるバイオマーカーだけの検討であり、今後、炎症や免疫にかかわる新規バイオマーカーが発見されれば、より精度の高い予後予測モデルが構築できる可能性がある。

さらに、局所免疫細胞浸潤の検討では、グロブリン産生の主体である形質細胞の局所浸潤は子宮頸癌の予後と関連しないことが分かった。一方で、形質細胞浸潤を認める症例ではリンパ球浸潤も認めており、形質細胞やリンパ球の更なる分類を行ったり、形質細胞やリンパ球の相互作用も含めた詳細な検討を行うことで子宮頸癌放射線療法への応答との関連が明らかになる可能性がある。また、子宮頸癌放射線療法患者の抗原特異的免疫応答解析については、HPV16 型陽性かつ HLA*0201 患者のみが対象となることから、今後のさらなる症例の蓄積が望まれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

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

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