

令和 6 年 5 月 23 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16490

研究課題名（和文）IMCによる食道癌NAC後TLSの成熟機序と臨床的意義の解明

研究課題名（英文）Elucidation of the maturation mechanism and clinical significance of TLS after esophageal cancer NAC by IMC

研究代表者

岐部 晋（KIBE, Shin）

九州大学・医学研究院・共同研究員

研究者番号：00910605

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：食道癌は近年、免疫チェックポイント阻害薬の適応が拡大してきたが、奏効率は低く、その治療抵抗性に寄与する腫瘍免疫微小環境（TIME）の不均一性の解明が求められている。抗腫瘍免疫は、リンパ節などの2次リンパ組織において樹状細胞が腫瘍抗原特異的に抗原提示すると考えられてきたが、近年は腫瘍局所でも3次リンパ組織（Tertiary Lymphoid Structure；TLS）が同様の機能をもつとされている。今回我々はTLSの有無による、予後との相関及び、single-cell RNA sequencing(scRNA-seq)を用いたTIMEの機能的不均一性を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年は、腫瘍局所におけるTLSが予後因子として報告されているが、その臨床学的に与える影響の機序や分子生物学的な詳細を報告したものは無く、TLSと抗腫瘍免疫における機能的な関与は不明であった。今回我々が行ったscRNAseqにより、TLSが腫瘍免疫微小環境（TIME）に与える機能的な変化が明らかとなった。本研究成果が新規食道癌治療開発に繋がることが期待され、さらにこの新たなアプローチは他の固形癌にも応用可能であり、学術的にも社会的にもインパクトの大きい研究と言える。

研究成果の概要（英文）：In recent years, the indication for immune checkpoint inhibitors has expanded for esophageal cancer. However, the response rate remains low, and there is a need to elucidate the heterogeneity of the tumor immune microenvironment (TIME) that contributes to this therapeutic resistance. Traditionally, anti-tumor immunity was believed to involve dendritic cells presenting tumor-specific antigens in secondary lymphoid organs such as lymph nodes. However, recent findings suggest that tertiary lymphoid structures (TLS) within the tumor area can perform similar functions. In our study, we investigated the correlation between the presence of TLS and prognosis, and elucidated the functional heterogeneity of TIME using single-cell RNA sequencing (scRNA-seq).

研究分野：医歯薬学

キーワード：食道癌 TLS 腫瘍免疫微小環境 scRNA-seq

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

StageII/III 食道癌では NAC 後の手術治療が標準治療であり、集学的治療が行われているが、いまだ予後不良な疾患である。また 2020 年に抗 PD-1 抗体療法が保険適応になり、大きく期待されたが、その効果は限定的である。そのため、その治療抵抗性に大きく寄与する腫瘍免疫微小環境 (TIME) の不均一性 (heterogeneity) の解明が急務となっている。

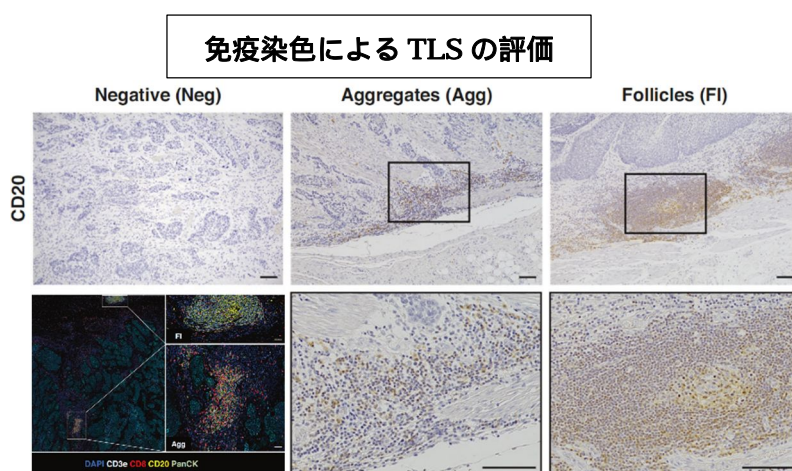
従来言われている腫瘍免疫応答の機序としては、リンパ節などの 2 次リンパ組織において、腫瘍抗原ペプチドを取り込んだ成熟樹状細胞が CD4/8 陽性 T リンパ球へ抗原提示することで活性化され、腫瘍免疫を担う。ただ最近の研究では、腫瘍局所にも二次リンパ組織と似た免疫細胞凝集構造があることが発見され、3 次リンパ組織 (Tertiary Lymphoid Structure; TLS) という名称でよばれている。TLS は腫瘍の辺縁に多くみられ、胚中心を持つ B 細胞の集簇とその周囲に T 細胞をみとめ、二次リンパ組織と同様の構造を形成している。TLS では 2 次リンパ組織と同様に、腫瘍局所で腫瘍抗原ペプチドを取り込んだ樹状細胞による T 細胞への抗原提示や B 細胞への抗原反応が起こっている可能性がある。腫瘍免疫応答においてこのように抗原提示などの抗原特異的な反応が腫瘍局所で行われると通常の二次リンパ組織 (リンパ節) での反応と比べて有利であると考えられる。TLS が予後良好因子であることは肺癌、結腸癌、膵臓癌、乳癌などの癌腫で近年報告されており、さらに線維形成性悪性黒色腫の免疫チェックポイントの奏効率は TLS の密度に相関するという報告もあり、TLS が腫瘍局所の免疫応答に大きく関与している可能性が示唆されている。その一方で、TLS の形成・成熟機序や腫瘍免疫における機能的な役割については未だわかっていない。CCL19, CCL21, CXCL12 などが腫瘍局所にリンパ球集簇を促すという報告があるが、それが TLS 形成に直接関係しているかは不明である。その一方で、抗 PD-1 抗体治療後、腫瘍縮小部で TLS の増加が認められたことが報告されている。しかしながら、これまで食道癌の TLS を詳細に評価した報告は皆無であり、また TLS の化学療法に伴う成熟機序や抗腫瘍免疫における機能的な関与は未だ不明である。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は食道癌 NAC 前後の腫瘍免疫微小環境の変動に着目し、TLS の成熟・凝集機序や抗腫瘍免疫における機能的な関与及び、その臨床的な意義を明らかにする。さらに、明らかとなった TLS の機能とその機序に基づく新たなアプローチでの新規治療法開発につなげることを目的とする。

### 3. 研究の方法

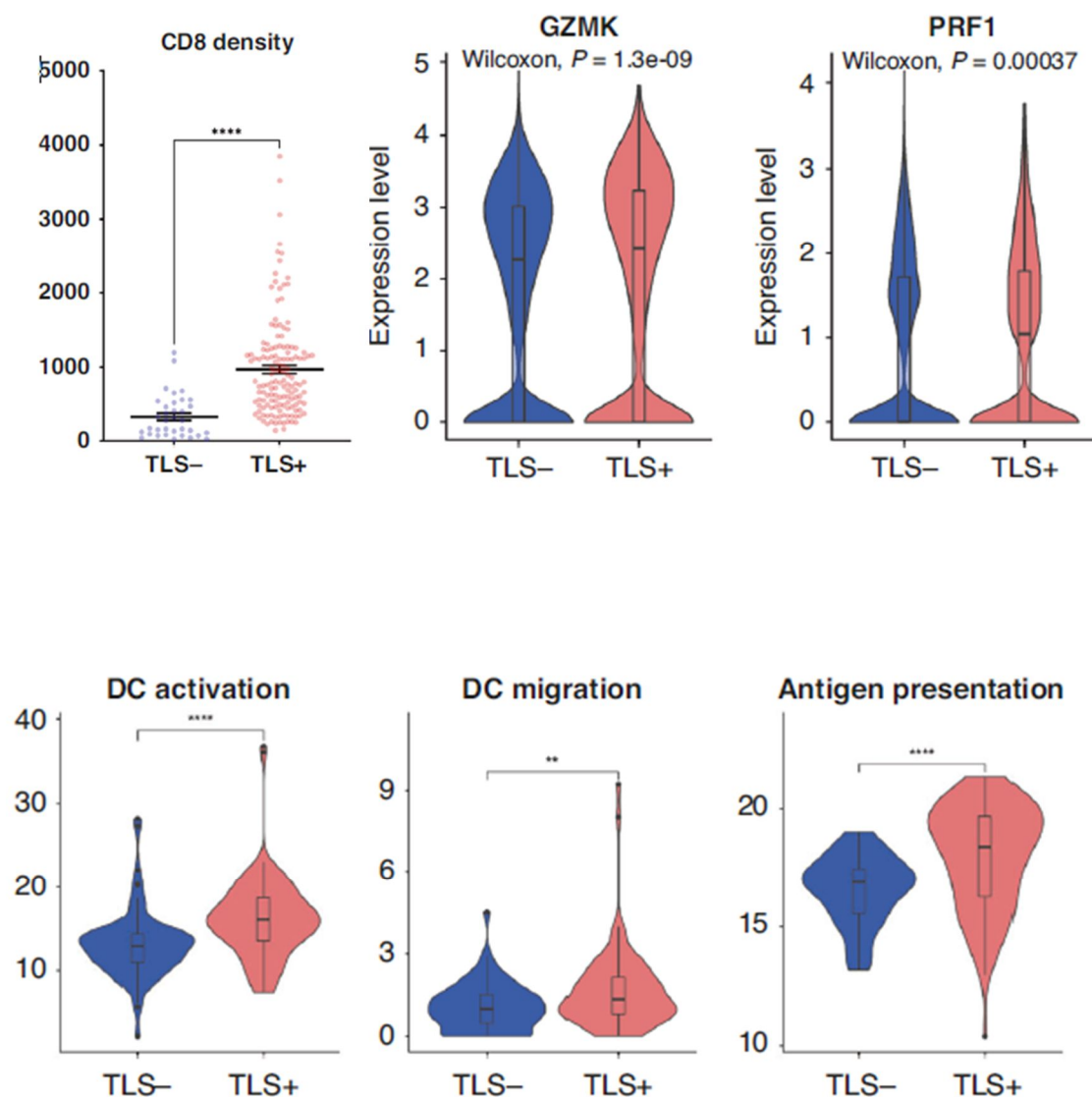
当院で施行した食道癌手術症例を、NAC 施行群/未施行群で分け、免疫組織学的染色で TLS の有無およびその成熟度を評価し、臨床学的意義を明らかにする。また、当研究室で導入している Drop-seq 技術を基盤とした Chromium Single Cell Controller (10X GENOMICS 社) を用いて、一細胞ごとの発現遺伝子を網羅的に解析するシングルセル解析を行うことで、TLS が食道癌の TIME に与える影響を評価する。



### 4. 研究成果

TLS を有する症例 (n=144) は TLS を認めない症例 (n=36) よりも予後良好であり、さらに成熟度の高い濾胞構造をもつ TLS を有する症例はさらに予後良好であった。シングルセル解析では、TLS+ 群では、CD8 陽性 T 細胞の数が多く、その細胞障害性も亢進していた。樹状細胞についてはその活性化及び抗原提示能の亢進が見られ、CD4 陽性ヘルパー T 細胞においては、濾胞性ヘルパー T 細胞の割合が上昇し、さらにリンパ球の凝集を誘導するケモカイン (CXCL13, CXCL5 など)

の発現が上昇していた。これらの結果から TLS は腫瘍局所において抗原提示の場となり抗腫瘍免疫を活性化させることで、予後の延長に寄与している可能性が示唆された。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1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 Nakamura S, Ohuchida K, Ohtsubo Y, Yamada Y, Tsutsumi C, Okuda S, Hisano K, Mochida Y, Shinkawa T, Iwamoto C, Torata N, Mizuuchi Y, Shindo K, Nakata K, Moriyama T, Torisu T, Nagai E, Morisaki T, Kitazono T, Oda Y, Nakamura M	4. 巻 13
2. 論文標題 Single cell transcriptome analysis reveals functional changes in tumour infiltrating B lymphocytes after chemotherapy in oesophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Clinical and Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 e1181
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/ctm2.1181	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 孫起和、大内田研宙、堤親範、片山直樹、久野恭子、林田さゆり、寅田信博、堀岡宏平、進藤幸治、藤本崇聡、田村公二、永吉絹子、水内祐介、池永直樹、仲田興平、中村雅史
2. 発表標題 食道癌の免疫微小環境サブタイプのシングルセル解析からみた機能的不均一性の解明
3. 学会等名 第124回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、堤親範、久野恭子、奥田翔、大坪慶志輝、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、中村雅史
2. 発表標題 single cell RNA sequenceを用いた食道癌浸潤Bリンパ球における化学療法後の機能変動の詳細な解明
3. 学会等名 第31回日本消化器関連学会週間（JDDW 2023）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 中村祥一、大内田研宙、堤親範、久野恭子、奥田翔、大坪慶志輝、寅田信博、水内祐介、進藤幸治、仲田興平、森山大樹、中村雅史
2. 発表標題 シングルセル解析を用いた食道癌における制御性B細胞の検討
3. 学会等名 第123回日本外科学会定期学術集会
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
研究協力者	中村 祥一  (NAKAMURA Shoichi)		

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