

令和 3 年 6 月 9 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08592

研究課題名(和文) アブスコパル効果の概念から考案した腹腔内温熱化学療法の有効性の検討

研究課題名(英文) Consideration of effectiveness of intra-abdominal hyperthermia chemotherapy devised from abscopal effect

研究代表者

三木 誓雄 (Miki, Chikao)

三重大学・医学系研究科・客員教授

研究者番号：50242962

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)：胃癌腹膜播種モデルマウスにおける温熱化学療法のアブスコパル効果を直接的に解析することは手技の確立に難渋し、困難であった。細胞接着因子であるL1CAMの胃癌細胞における発現が腹膜播種に関与している可能性を示唆した。さらに、胃癌組織中のPD-L1発現も腹膜播種転移に相関することを同定した。宿主因子に着目し、癌免疫反応マーカーであるCLRが有意に栄養・予後と相関し、胃癌患者においてより高リスク群を抽出できる可能性を示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究結果を用いることで、胃癌患者における新たな予後マーカーの可能性が示唆された。腫瘍側と宿主側の両方向性にAbscopal効果の機序解明とAbscopal効果予測マーカーの確立につながると思う。

研究成果の概要(英文)：It was difficult to elucidate for abscopal effect with intra-abdominal hyperthermia chemotherapy, because we could not make the mouse model with gastric cancer peritoneal metastases. High L1CAM expression was significantly associated with peritoneal metastasis. Gastric cancer tissue PD-L1 expression was significantly higher in the GC patients with and peritoneal metastasis. Additionally, CLR size correlated with patient nutritional status and prognosis and may be helpful in identifying high-risk populations of GC patients.

研究分野：消化器外科学

キーワード：胃癌 アブスコパル効果 腹膜播種

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

胃癌は中国、日本、韓国などアジアや南米に患者が多い疾患であり、2015年度の日本における胃癌の死者数は49,129人(男32,206人、女16,923人)で、男性では肺癌に次いで第2位、女性では大腸癌、肺癌に次いで第3位の死亡者数の多い疾患である(厚生労働省人口動態統計より)。とりわけ腹膜播種は胃癌の転移再発形式として最も頻度の高く、播種が進行すると癌性腹膜炎に伴うイレウスや水腎症、腹水貯留を併発し、全身状態を著しく悪化させる。その治療に関しては、近年、胃癌全体に対する全身化学療法の効果が期待できるようになったが、薬剤の腹膜移行性が不良であることから胃癌腹膜播種に対する標準的治療は存在していないのが現状である。近年、腹膜切除+腹腔内温熱化学療法の有用性が報告されつつあるが、侵襲性が高く術後の生活の質も著しく低下することから、治療適応を決める新たなバイオマーカーの確立が急がれる。

放射線治療の間では、放射線治療の歴史の初期のころから、ごく稀ではあるものの局所治療のはずであるはずの放射線治療により、照射部位と離れた別の病巣も同時に縮小する現象(Abscopal効果)が確認されており、腫瘍免疫の重要性や免疫寛容の機序が解明されたこの数年で、そのメカニズムが徐々に解明されつつある。その免疫賦活化には、放射線治療により腫瘍細胞から分泌されるHMGB1や腫瘍崩壊性に漏出するがん抗原そのものが腫瘍特異的障害性Tリンパ球(とりわけCD8+リンパ球)の活性化に関与し、最近では免疫チェックポイント阻害剤(CTLA-4抗体)の併用により、放射線治療による局所治療効果を増強するほか、これまではごく稀な現象であったAbscopal効果を人工的に引き起こすことが可能となり、Grimaldiらは抗CTLA-4抗体と放射線治療の併用療法により悪性黒色腫症例の約半数以上の症例でAbscopal効果が認められたとの報告もある。

胃癌に対する全身化学療法はこの数年で飛躍的な進捗をとげているが、胃癌腹膜播種に対する標準的治療は存在せず、近年、腹膜播種切除+腹腔内温熱化学療法が新たな治療選択の一つとして注目されている。一方、PD-1抗体の登場により腫瘍宿主免疫の重要性が認識され、以前から放射線治療の間でごく稀に認められる現象として認識されていたAbscopal効果の機序が解明されつつあることから、その他の癌治療においても同様の効果が認められる可能性が想定される。

2. 研究の目的

胃癌腹膜播種に対する温熱化学療法の有用性が注目されており、腹膜への薬剤移行性という直接的な効果のみならず、治療そのものに伴う免疫賦活化の可能性が近年報告されつつある。本研究では、以前から放射線治療において稀に認められる効果で、近年そのメカニズムが解明されつつあるAbscopal効果に着目し、放射線治療やRFA治療などと同様に温熱化学療法そのものがAbscopal効果を呈する可能性を明らかにするとともに、腫瘍側と宿主側の両方向性にその機序をエピゲノムの観点も含めて解明することにより、Abscopal効果予測マーカーの確立とAbscopal効果そのものの発症頻度を増加させる新たな治療法の開発を目的とする。

3. 研究の方法

- ・ Total RNA抽出、cDNA作成(組織)

胃癌組織309例の原発腫瘍組織より採取したFFPE標本から抽出したTotal RNAをRNeasy mini kit (Qiagen)を利用して抽出した。抽出したTotal RNAからSuperscript III Reverse Transcriptase (Invitrogen, Carlsbad, CA)を用いてcDNAを作成した。

- ・ 免疫組織学解析

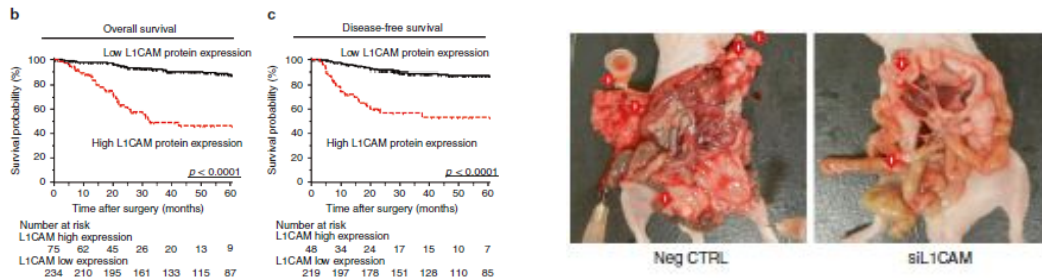
胃癌組織のFFPE組織を用いて、抗Foxp3抗体(clone: 236A/E, Abcam, Cambridge, UK)、抗CD8抗体(clone EP1150, GeneTex, San Antonio, TX, USA)、抗PD-L1抗体(27A2, LS-C179481; LifeSpan Biosciences)、抗L1CAM抗体(Thermo Scientific, Waltham, MA)を免疫染色し、Foxp3, CD8についてはOlympus BX-51 and DP21(Olympus, Tokyo, Japan) with CellSens software imaging systemを用いて測定した。

- ・ ELISA解析

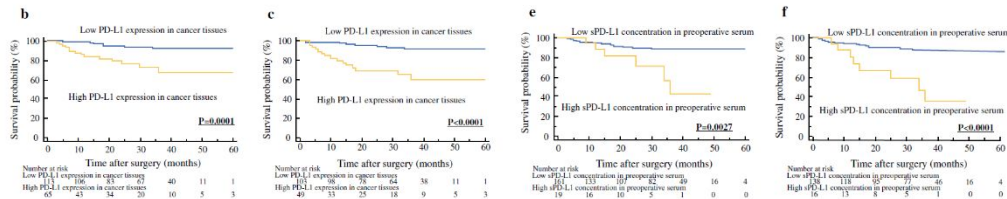
胃癌患者の術前血清を用いて、血中のPD-L1値をPD-L1(WLS Cloud-Clone Corp., Houston, TX, USA) ELISAキットを用いて測定した。

4. 研究成果

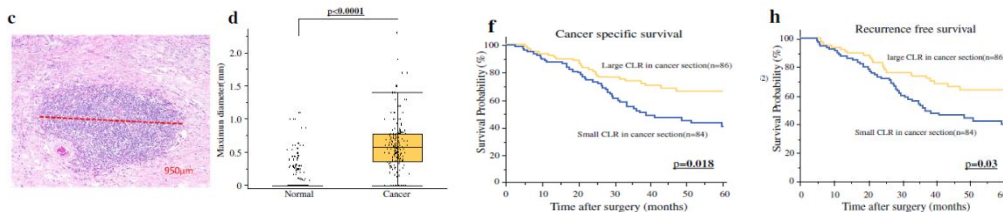
(1) 胃癌患者において、胃癌組織におけるL1CAM高発現が全生存期間(OS)、無再発生存期間(DFS)ともに有意に予後不良であった。In vitroでは、L1CAMが癌悪性度の関与しており、In vivoで胃癌細胞におけるL1CAMの発現を抑えることで、腹膜播種の形成を抑制する可能性が示唆された。



(2) 胃癌患者において血清 PD-L1 高値群と胃癌組織 PD-L1 高発現群が OS, DFS とともに有意に予後不良であった。血清 PD-L1 値と胃癌組織 PD-L1 発現は胃癌患者における予後・再発予測マーカーであり、組織中 PD-L1 高発現は腹膜播種転移と有意な相関を認めた。



(3) 胃癌組織における癌免疫反応マーカーである Crohn's-like lymphoid reaction (CLR) の長径を測定し、CLR の腫瘍径と胃癌患者の栄養状態、予後が有意な相関を認めた。胃癌患者において CLR が有意な栄養指標マーカーおよび予後予測マーカーとなり、より高リスク群の抽出に寄与する可能性が示唆された。



成果のまとめ

胃癌腹膜播種モデルマウスにおける温熱化学療法のアブスコパル効果を直接的に解析することは手技の確立に難渋し、困難であった。

細胞接着因子である L1CAM の胃癌細胞における発現が腹膜播種に関与している可能性を示唆した。さらに、胃癌組織中の PD-L1 発現も腹膜播種転移に相関することを同定した。宿主因子に着目し、癌免疫反応マーカーである CLR が有意に栄養・予後と相関し、胃癌患者においてより高リスク群を抽出できる可能性を示唆された。

今回検証できた遺伝子を基に、腫瘍側と宿主側の両方向性に Abscopal 効果の機序解明と Abscopal 効果予測マーカーの確立を進めていきたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kusunoki Yukina, Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Kusunoki Kurando, Ichikawa Takashi, Ide Shozo, Shimura Tadanobu, Kitajima Takahito, Imaoka Hiroki, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Yokoe Takeshi, Okita Yoshiki, Mochiki Ikuyo, Ohi Masaki, McMillan Donald C., Nakatani Kaname, Kusunoki Masato	4. 巻 40
2. 論文標題 Modified intramuscular adipose tissue content as a feasible surrogate marker for malnutrition in gastrointestinal cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition	6. 最初と最後の頁 2640 ~ 2653
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clnu.2021.03.036	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 Inoue Arisa, Ishikawa Eiji, Shirai Yumiko, Murata Tomohiro, Miki Chikao, Hamada Yasuhiro	4. 巻 36
2. 論文標題 Effects of Protein-Energy Wasting (PEW) and hyperphosphatemia on the prognosis in Japanese maintenance hemodialysis patients: A five-year follow-up observational study	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Clinical Nutrition ESPEN	6. 最初と最後の頁 134 ~ 138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.clnesp.2020.01.004	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 Omura Yusuke, Toiyama Yuji, Okugawa Yoshinaga, Yamamoto Akira, Yin Chengzeng, Kusunoki Kurando, Kusunoki Yukina, Shigemori Tsunehiko, Ide Shozo, Kitajima Takahito, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Hiro Junichiro, Yoshiyama Shigeyuki, Ohi Masaki, Kusunoki Masato	4. 巻 27
2. 論文標題 Crohn's-Like Lymphoid Reaction is Associated with Oncological Prognosis and Nutritional Status in Patients with Pathological Stage II/III Gastric Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 259 ~ 267
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-019-07709-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 Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Hur Keun, Yamamoto Akira, Yin Chengzeng, Ide Shozo, Kitajima Takahito, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Koike Yuhki, Okita Yoshiki, Hiro Junichiro, Yoshiyama Shigeyuki, Araki Toshimitsu, Miki Chikao, McMillan Donald C., Goel Ajay, Kusunoki Masato	4. 巻 10
2. 論文標題 Circulating miR 203 derived from metastatic tissues promotes myopenia in colorectal cancer patients	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle	6. 最初と最後の頁 536 ~ 548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jcsm.12403	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 Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Yamamoto Akira, Shigemori Tsunehiko, Ide Shozo, Kitajima Takahito, Fujikawa Hiroyuki, Yasuda Hiromi, Hiro Junichiro, Yoshiyama Shigeyuki, Yokoe Takeshi, Saigusa Susumu, Tanaka Koji, Shirai Yumiko, Kobayashi Minako, Ohi Masaki, Araki Toshimitsu, McMillan Donald C., Miki Chikao	4. 巻 -
2. 論文標題 Lymphocyte-C-reactive Protein Ratio as Promising New Marker for Predicting Surgical and Oncological Outcomes in Colorectal Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	6. 最初と最後の頁 1~1
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/SLA.0000000000003239	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 Shigemori T, Toiyama Y, Okugawa Y, Yamamoto A, Yin C, Narumi A, Ichikawa T, Ide S, Shimura T, Fujikawa H, Yasuda H, Hiro J, Yoshiyama S, Ohi M, Araki T, Kusunoki M.	4. 巻 26
2. 論文標題 Soluble PD-L1 Expression in Circulation as a Predictive Marker for Recurrence and Prognosis in Gastric Cancer: Direct Comparison of the Clinical Burden Between Tissue and Serum PD-L1 Expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol.	6. 最初と最後の頁 876-883
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1245/s10434-018-07112-x	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 Ichikawa Takashi, Okugawa Yoshinaga, Toiyama Yuji, Tanaka Koji, Yin Chengzeng, Kitajima Takahito, Kondo Satoru, Shimura Tadanobu, Ohi Masaki, Araki Toshimitsu, Kusunoki Masato	4. 巻 121
2. 論文標題 Clinical significance and biological role of L1 cell adhesion molecule in gastric cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 British Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 1058~1068
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41416-019-0646-8	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 Okugawa Y, Toiyama Y, Shigeyasu K, Yamamoto A, Shigemori T, Yin C, Ichikawa T, Yasuda H, Fujikawa H, Yoshiyama S, Hiro J, Ohi M, Araki T, Kusunoki M, Goel A.	4. 巻 16
2. 論文標題 Enhanced AZIN1 RNA editing and overexpression of its regulatory enzyme ADAR1 are important prognostic biomarkers in gastric cancer.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Transl Med.	6. 最初と最後の頁 366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12967-018-1740-z	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 該当する

[学会発表] 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 奥川喜永、問山 裕二、藤川 裕之、大村 悠介、井出 正造、北嶋 貴仁、志村 匡信、安田 裕美、大北 喜基、横江 毅、三枝 晋、廣 純一郎、大井 正貴、田中 光司、三木 誓雄、Mcmillan Donald、楠 正人
2. 発表標題 Clinical impact of perioperative inflammatory response in patients with gastrointestinal cancer
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会、東京
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、廣 純一郎、三澤雅子、手島信子、岩下義明、荒木俊光、三木誓雄、楠 正人
2. 発表標題 腫瘍宿主相互作用の観点に基づいた 転移組織分泌型miR-203による腫瘍誘導宿主サルコペニアの可能性の検討.
3. 学会等名 第34回日本静脈経腸栄養学会学術集会、東京
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、廣 純一郎、白井由美子、福森和俊、安田裕美、吉山繁幸、大井正貴、荒木俊光、Donald C McMillan、三木誓雄、楠 正人
2. 発表標題 大腸癌におけるCancer-induced Inflammationを標的としたImmuno-nutritionのArt and Science.
3. 学会等名 第34回日本静脈経腸栄養学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、藤川裕之、大村悠介、楠 蔵人、山本 晃、井出正造、北嶋貴仁、安田裕美、大北喜基、横江 毅、三枝 晋、廣 純一郎、吉山繁幸、田中光司、毛利靖彦、荒木俊光、三木誓雄、Donald McMillan、楠 正人
2. 発表標題 大腸治療における栄養介入療法の目指すアウトカム～腫瘍宿主反応に伴う全身性炎症反応を標的として～.
3. 学会等名 第119回日本外科学会定期学術集会、大阪
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奥川喜永、問山裕二、山本 晃、大村悠介、浦谷 亮、井出正造、近藤 哲、志村匡信、安田裕美、藤川裕之、大北喜基、白井由美子、横江 毅、三枝 晋、廣 純一郎、大井正貴、荒木俊光、田中光司、三木誓雄、楠 正人
2. 発表標題 臨床実装を視野に入れた大腸癌外科診療におけるあらたなmultiple-outcome prediction biomarkerの確立
3. 学会等名 第74回日本大腸肛門病学会学術集会、東京
4. 発表年 2019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
研究分担者	問山 裕二 (Toiyama Yuji) (00422824)	三重大学・医学系研究科・教授 (14101)	
研究分担者	奥川 喜永 (Okugawa Yoshinaga) (30555545)	三重大学・医学部附属病院・講師 (14101)	
研究分担者	藤川 裕之 (Fujikawa Hiroyuki) (40616091)	三重大学・医学部附属病院・助教 (14101)	
研究分担者	安田 裕美 (Yasuda Hiromi) (60586767)	三重大学・医学部附属病院・助教 (14101)	
研究分担者	楠 正人 (Kusunoki Masato) (50192026)	三重大学・医学系研究科・寄附講座大学教員 (14101)	

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