

ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する情報公開

福島県立医科大学放射線腫瘍学講座では、本学倫理委員会の承認を得て、下記のヒトゲノム・遺伝子解析研究を実施します。関係各位のご理解とご協力をお願い申し上げます。

平成29年8月1日 福島県立医科大学医学部 放射線腫瘍学講座
講座主任 鈴木 義行

【研究課題名】

術前放射線治療が施行された食道扁平上皮癌における放射線誘導抗腫瘍免疫と予後に関する腫瘍病理学的検討

【研究期間】

平成29年8月1日～令和4年7月31日

【研究の意義・目的】 食道扁平上皮癌は、成人の“がん”の約2.5%(男性に限ると約3.7%)を占める比較的まれな疾患です。早期に発見された場合は、1期の5年生存率が86%と比較的良好ですが、特に3期以上に進行している場合は、現在の標準治療(手術、術前化学放射線療法+手術、化学放射線治療)では、5年生存率が3期26.4%、4期12.2%と予後不良な病気です(1)。近年、標準的治療に加え、分子標的薬であるepidermal growth factor receptor inhibitor(ゲフィチニブ)を併用した治療法の第3相試験が米国において実施されましたが、治療成績は改善しませんでした(2)。従って、新しい抗がん剤の追加(上乘せ)ではなく、全く別の視点による新たな治療法の開発が必須だと考えます。

近年の腫瘍免疫学の進歩により、腫瘍免疫の重要性が世界的に再認識されています(3、4)。これまでに、我々は、動物実験にて放射線治療の効果にCD8陽性Tリンパ球が関係していること(5)、化学放射線治療が施行された食道扁平上皮癌患者において、末梢血中に“がん”だけに認められる抗原に特異的な細胞傷害性Tリンパ球(Cytotoxic T lymphocyte: CTL)が増加すること(6)、直腸がん患者において術前温熱化学放射線治療によりヒト白血球抗原(Human leukocyte antigen :HLA) class I発現が増強すること(7)、など、放射線治療と腫瘍免疫の関係を報告してきました。

現在、食道扁平上皮癌に対しては、標準治療後の再発症例などに対する救済治療として、免疫チェックポイント阻害剤の臨床試験が試みられています。しかしながら、そもそも、免疫治療の効果に直結すると考えられるヒト白血球抗原の発現や細胞障害性Tリンパ球、樹状細胞などの腫瘍組織内浸潤

数が予後と相関しているのかについても報告は少なく、食道扁平上皮癌に対して、免疫療法、もしくは、免疫療法と放射線治療の併用療法が効果的かどうかははっきりしていません。

抗腫瘍免疫の中でも、HLA class IIによる腫瘍抗原の提示や、細胞障害性Tリンパ球による腫瘍細胞の認識・排除は中心的な役割を果していると考えられています。特にHLA class IIは腫瘍細胞表面に存在し、細胞障害性Tリンパ球に抗原提示を行い、活性化を促します。逆に、腫瘍はHLA class I発現を低下させ、腫瘍免疫から“逃避”すると考えられており、HL

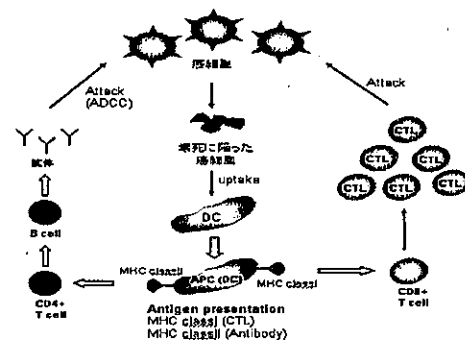


図1：放射線治療によって誘導される抗腫瘍免疫のメカニズム

A class I発現が低下した病態は、理論的にも免疫療法の効果も期待できず、実際に予後不良との報告があります。また、細胞障害性Tリンパ球や樹状細胞の腫瘍内浸潤、PD-L1発現、リン酸化シグナル伝達兼転写活性化因子1(pStat1)発現も腫瘍免疫の活性化の指標と考えられています。WT-1は、腫瘍の発生・進展に重要な役割を果たしている遺伝子であり、多くの腫瘍で高発現し、正常細胞では発現が低いことから、がん抗原(がんワクチン)として臨床研究が行われています。

そこで、本研究施設にて、現状の標準治療の一つである、(化学)放射線治療→根治的腫瘍摘出術が施行された食道扁平上皮癌について、治療前の(生検)腫瘍組織と手術摘出組織を免疫組織化学染色によって解析し、食道扁平上皮癌の腫瘍細胞における①HLA class I発現・PD-L1発現・WT-1発現・pStat1発現、②腫瘍内リンパ球・樹状細胞浸潤数の(化学)放射線治療前・後での比較と予後・病理組織学的効果判定との相関を検討することにより、食道扁平上皮癌に対する(化学)放射線治療と免疫療法の併用療法が効果的である可能性があるかどうかについて検討します。さらに最近、遺伝子変異に基づいた亜型分類・治療反応性検索が試みられており様々な知見が得られるようになってきました。そこで⑤本研究においても遺伝子変異パネルを用いた検索を追加し、上記免疫学的パラメータとの関連を検討します。本研究の成果は新しいがん治療方法の開発につながるものと考えられます。

<参考文献>

1. 国立がん研究センター http://ganjoho.jp/public/cancer/esophagus/treatment_option.html
2. Crosby T. et al. Lancet Oncol 2013, 3. Hwu P. N Engl J Med 2010, 4. Couzin-Frankel J. Science 2013, 5. Yoshimoto Y, et al. PLoS One 2014, 6. Suzuki Y, et al. Cancer Res 2012, 7. Sato H, et al. PLoS One 2014;9:e108122

【研究の対象となる方】

下記の適格基準を全て満たす患者さんを対象とします。

- ①20歳以上、80歳未満の患者さん(性別不問)
- ②病理学的に食道扁平上皮癌と診断された患者さん
- ③平成19年6月1日から平成29年5月31日までに、福島県立医科大学附属病院にて、放射線治療(化学療法併用を含む)後もしくは化学療法後に根治的腫瘍摘出術が施行された患者さん、および平成27年1月1日から平成29年12月31日まで術前治療が施行されず根治的腫瘍摘出術が施行された患者さん
- ④治療前及び摘出術による腫瘍組織を含むパラフィン包埋切片が入手できる患者さん

【研究の方法】

1) 観察・検査項目

- ①腫瘍細胞のHLA class I発現、PD-L1発現、WT-1発現、pStat発現、PD-L2発現、Ceacam-1発現、LSEctin発現
- ②腫瘍内浸潤リンパ球数・種類、樹状細胞数、浸潤リンパ球のFoxp3発現、PD-1発現、Timm-3発現、Lag-3発現
- ③手術摘出組織の術前治療の病理組織学的効果
- ④予後:生存期間、無再発生存期間、局所制御期間
- ⑤腫瘍組織における、癌・癌抑制遺伝子変異・コピー数異常の検索

2) 観察・検査方法

上記2)①、②について:免疫組織化学染色された標本において、ランダムに設定した4か所以上から、計2000個以上の腫瘍細胞について、HLA class I 陽性腫瘍細胞割合、PD-L1陽性腫瘍細胞割合、WT-1陽性腫瘍細胞割合、pStat陽性腫瘍細胞割合、PD-L2陽性腫瘍細胞割合、Ceacam-1陽性腫瘍細胞割合、LSEctin陽性腫瘍細胞割合、浸潤リンパ球数、樹状細胞数、浸潤リンパ球のFoxp3陽性細胞割合、PD-1陽性細胞割合、Tim-3陽性細胞割合、Lag-3陽性細胞割合を計測します。

上記2)③について:手術摘出組織標本において、病理組織学的に術前治療の効果判定を行います。判定は、大星・下里分類に従って分類します。

上記2)④について:福島県立医科大学附属病院のカルテ・検査記録(GTなど)から計測します。

上記2)⑤について:遺伝子異常などの解析は、福島県立医科大学放射線腫瘍学講座と、共同研究機関である、札幌医大フロンティア医学研究所(研究責任者:教授・時野隆至、佐々木泰史)で行います。患者さん自身を特定できるような個人情報学内や外部機関に漏洩することはありません。生検または手術により得られた組織よりDNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いたターゲットシーケンシングにより、体細胞変異を検索します。正常組織の遺伝子情報も調査し、体細胞変異同定時の対照とする目的のみにおいてこれを利用します。加えて、1000人ゲノムプロジェクト、COSMICなど、利用可能な遺伝子情報データベースを利用します。

4) EDC (Electric Data Capture)への登録情報の入力

登録時必要項目:担当医師名、患者識別番号(匿名化番号)、性別、生年月(計算年齢を自動表示)、臨床病期、放射線治療開始日、放射線治療線量、化学療法の内容・回数、手術日、最終生存確認日、遠隔転移確認日、局所再発確認日

5) 研究実施期間

平成29年8月1日から令和4年7月31日までの間に研究を行います。

6) 統計学的事項

評価項目:組織免疫染色が終了した時点で、腫瘍細胞のHLA class I発現、PD-L1発現、WT-1発現、pStat発現、PD-L2発現、Ceacam-1発現、LSEctin発現、腫瘍内浸潤リンパ球数・種類、腫瘍内樹状細胞数、浸潤リンパ球のFoxp3発現、PD-1発現、Tim-3発現、Lag-3発現と予後・病理組織学的効果との相関、について検討します。また、ターゲットシーケンシングにより検索した変異遺伝子のパターンと、上記分子の発現や臨床予後について、その相関を探索的に検討します。

【研究組織】

(所属) 医学部 放射線腫瘍学講座	(職) 主任教授	(氏名) 鈴木 義行
(所属) 医学部 放射線腫瘍学講座	(職) 准教授	(氏名) 田巻 倫明
(所属) 医学部 放射線腫瘍学講座	(職) 講師	(氏名) 佐藤 久志
(所属) 医学部 放射線腫瘍学講座	(職) 講師	(氏名) 吉本 由哉
(所属) 医学部 放射線腫瘍学講座	(職) 助教	(氏名) 海老 潤子
(所属) 医学部 消化管外科学講座	(職) 主任教授	(氏名) 河野 浩二
(所属) 医学部 消化管外科学講座	(職) 准教授	(氏名) 三村 耕作
(所属) 医学部 消化管外科学講座	(職) 准教授	(氏名) 大木 進司

(所属) 医学部 消化管外科学講座 (職) 講師 (氏名) 佐瀬 善一郎
(所属) 札幌医科大学ゲノム医科学 (職) 教授 (氏名) 時野 隆至
(所属) 札幌医科大学医療人育成センター (職) 教授 (氏名) 佐々木泰史

【他の機関への試料等の提供について】

①提供先の研究機関名と研究責任者の氏名（研究機関以外へ提供する場合は、提供先の機関名と責任者）

本研究の精度と効率を向上させる目的で、先進ゲノム支援事業・札幌医科大学拠点（研究責任者：医学部附属フロンティア医学研究所ゲノム医科学部門・教授・時野隆至）に②の試料を提供します。

②提供する試料・情報の項目

標本より抽出したDNA溶液を、匿名化した状態で送付し、送付したDNAより配列情報を読み取ります。

③提供方法（記録媒体、郵送等）

DNA溶液は、容器のラベルを匿名化して個人を特定できない状態にして、郵送により提供されます。

<データベースへの登録について>

本研究で得られた配列データは公的データベースから公開します。そうすることで、国内外の多くの研究者がデータを利用することが可能になり、疾患の診断や予防、治療等の開発に役立つことが期待されます。公的データベースからのデータの公開では、日本国内の研究機関に所属する研究者だけではなく、製薬企業等の民間企業や海外の研究機関に所属する研究者もデータを利用する可能性があります。研究から得られたデータをデータベースから公開する際には、データの種類によってアクセスレベル（制限公開、非制限公開）が異なります。個人の特定につながらない、頻度情報・統計情報等は非制限公開データとして不特定多数の者に利用され、個人毎のゲノムデータ等は制限公開データとし、科学的観点と研究体制の妥当性に関する審査を経た上で、データの利用を承認された研究者に利用されます。同意を撤回された際、既に公的データベースから個人毎のデータが公開されている場合、原則、あなたのデータをデータベースから削除し、その後の研究に提供しないようにデータベース側に要請します。ただし、あなたのデータを特定できない場合は破棄できない可能性があります。

【本研究に関する問合せ先】

本研究に関する御質問等がございましたら、下記の連絡先までお問い合わせください。他の研究対象者等の個人情報及び知的財産の保護等に支障がない範囲内で研究計画書及び研究の方法に関する資料を閲覧できます。

また、試料・情報が当該研究に用いられることについて研究対象者ご本人又は代理人の方に御了承いただけない場合には、研究対象者とはせずに試料・情報の利用、提供をいたしませんので、下記の連絡先までお申し出ください。その場合でも研究対象者ご本人又は代理人の方に不利益が生じることはありません。なお、研究結果が既に医学雑誌への掲載や学会発表がなされている場合、データを取り消すことは困難な場合もあります。

○研究内容に関する問合せの窓口

〒960-1295 福島県福島市光が丘1

公立大学法人福島県立医科大学医学部 放射線腫瘍学講座 担当 田巻倫明

電話:024-547-1111 内線 2660

E-mail:tamakit@fmu.ac.jp

○試料・情報を当該研究に用いられることについて拒否する場合の連絡先

公立大学法人福島県立医科大学医学部 放射線腫瘍学講座 担当 田巻倫明

電話:024-547-1111 内線 2660

E-mail:tamakit@fmu.ac.jp