



Title	CHP-MAGE-A4がんワクチン臨床試験患者における末梢血CD4+CD25+FOXP3+制御性T細胞比率の臨床的意義に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	和田, 雅孝
Citation	北海道大学. 博士(医学) 甲第13700号
Issue Date	2019-06-28
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/74980
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Note	配架番号 : 2491
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Masataka_Wada_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医学） 氏名 和田雅孝

学位論文題名

CHP-MAGE-A4 がんワクチン臨床試験患者における末梢血 CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺制御性 T 細胞比率の臨床的意義に関する研究

(Studies on clinical implications of circulating CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺regulatory T cell ratio in CHP-MAGE-A4 cancer vaccine clinical trial patients)

【背景と目的】手術療法、化学療法、放射線療法に続く、難治性悪性腫瘍に対する第 4 の治療としてがん免疫療法が注目されてきている。北海道大学消化器外科学教室 II でも、癌精巣抗原の一種である MAGE-A4 を免疫源としたがんワクチン療法の臨床試験を展開してきた。しかしながら、他のがんワクチン療法と同様、腫瘍縮小効果は限定的であった。近年、免疫チェックポイント阻害剤の顕著な臨床効果が示される中で、改めて抗腫瘍免疫における免疫抑制機構の存在に注目が集まっている。がんワクチン療法の今後の課題として、免疫抑制機構の克服が重要であり、そのためには抑制的に機能する免疫担当細胞の詳細な理解、解明が必要である。本研究はその一つである制御性 T 細胞 (Regulatory T cells : Treg) に着目し検討した。

【対象と方法】CHP-MAGE-A4 がんワクチン臨床試験患者のうち投与量が一定で、4 回以上治療が可能であった 16 名を対象とした。患者血清を一次抗体とし、ELISA 法で MAGE-A4 特異的 IgG 抗体価上昇の有無を評価した。対象患者の末梢血から採取した Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) を細胞調整し、CD4、CD25、FOXP3 で抗体処理した上で、フローサイトメトリーにて解析した。末梢循環型 Treg 比率を CD4 陽性リンパ球中の CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ Treg の割合と定義し (Treg ratio と呼称)、ベースライン、治療開始後 7 週時点、11 週時点、15 週時点の PBMC から測定した。

【結果】MAGE-A4 特異的 IgG は 16 名中、10 名に上昇がみられた。臨床試験患者 16 名のベースライン Treg ratio の中央値は、健常人 (中央値 : 6.60%) と比較し有意に高値であった。ベースライン Treg ratio 中央値である 10.28% をカットオフ値として群分けし、低値群と高値群で比較したが、腫瘍縮小効果、MAGE-A4 特異的 IgG 上昇の有無、生存期間のいずれとも相関を認めなかった。ワクチン投与開始後 7 週時点での Treg ratio 解析では、Treg ratio 低値群で有意に予後が良好であった。ワクチン投与開始後 7 週時点の Treg ratio 低値群はベースラインから Treg ratio が低値である症例が 8 名中 7 名であり、治療前後で Treg ratio が低値を維持し続けている症例の予後が良いことが示唆された。11 週時点、15 週時点で同様の検討を行ったが、腫瘍縮小効果、MAGE-A4 特異的 IgG 上昇の有無、生存期間との関連を認めなかった。

【考察】これまで、CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法の治療効果の判定方法としては、標的抗原に特異的な抗体産生能を評価する ELISA 法や、抗原刺激により誘導された細胞障害性 T 細胞を定量的に直接評価する ELISPOT が主に使用されてきたが、末梢循環型 Treg 比率測定の有用性が明確に示された報告はない。Treg の解析には、末梢循環型の他に腫瘍微小環境における腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) 中の Treg を免疫組織化学法で評価する方法がある。腫瘍局所の TIL において、Treg が相対的に増加していることと予後不良とに関連があることが多くの固形癌で示されており、直接的な抗腫瘍環境の評価や治療効果予測の上で有用な方法とされるが、頻回なサンプルの採取が難しいという欠点がある。そ

の点では、本研究で用いた血液サンプルは比較的簡便に採取が可能であり、最小限の侵襲で包括的な情報を得られる利点がある。本研究では、PBMC中に存在するTregを古典的な分類であるCD4陽性、CD25陽性、FOXP3陽性リンパ球と定義し、フローサイトメトリーにてCD4陽性リンパ球中のTreg比率をTreg ratioとして扱い、がんワクチン療法におけるバイオマーカーとしての意義について検証した。

Treg ratioは、治療前の癌の進行度が高いほど高値であることが種々固形癌で示されており、測定時点での癌の病勢、およびその後の自然経過を予測する指標となる可能性が示唆されている。従って、ベースラインTreg ratio高値群は予後不良となることが予測されるが、本研究では異なる結果であった。その要因として、対象患者が16名と少数であり、背景因子も異なるため、Treg ratioが単純に癌の病勢を反映していない可能性と、ベースラインTreg ratio高値群の中にCHP-MAGE-A4がんワクチン療法の治療効果により予後が改善された症例が含まれている可能性が挙げられた。治療開始後の検討では、7週時点でのTreg ratio低値の方が予後良好であることが判明し、さらにベースラインから低値を維持し続けることが7週時点Treg低値にとって重要であることが示唆された。末梢血CD4陽性Tリンパ球のサブセットは、細胞性免疫の誘導を担うTh1と、アレルギー反応に関わるTh2、液性免疫の誘導に関わるTfh、炎症の誘導・維持を担うTh17細胞と、免疫抑制を担うTregが含まれ、それぞれがサイトカイン環境に基づいて分化し、免疫環境のバランスを維持している。CD4陽性リンパ球におけるTregの比率を評価した指標であるTreg ratioが高値である状態は、前述のバランスが相対的にTreg優位な環境にあるといえる。そのため、Treg ratioが低く維持された状況は、逆にTregのTh1やCTLに対する抑制機能が低く抑えられている状態であり、抗腫瘍免疫が惹起されやすかったのではないかと考えられた。

がんワクチン療法の治療効果向上のため、腫瘍逃避機構を解除する戦略が重要視されている中、末梢循環性Treg比率のバイオマーカーとしての意義が高まる可能性があり、本研究の結果はその一助になり得ると考えられた。

【結論】 CHP-MAGE-A4がんワクチン療法患者では、PBMC中の末梢循環型Treg比率(Treg ratio)が健常人と比較し高値であった。がんワクチン治療前のTreg ratioは腫瘍縮小効果、抗原特異的抗体反応、予後を予測する指標とはならなかった。一方、治療開始後7週時点のTreg ratioでは、低値である方が予後良好であり、それは治療前からTreg ratioが低値であることと関連があった。治療前後のTreg ratioの測定が予後予測のバイオマーカーとなり得ると考えられた。