HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	胆道癌におけるCD73発現とその進行・予後との関連性，及びその生物学的背景メカニズムに関する研究
Author(s)	白鳥，翔也
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第17029号
Issue Date	2026-06-30
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k17029
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/100082
Type	doctoral thesis
File Information	SHIRATORI_Shoya_abstract.pdf，論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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　白鳥　翔也

学 位 論 文 題 名

胆道癌における CD73 発現とその進行・予後との関連性,
及びその生物学的背景メカニズムに関する研究
(Study on the relationship between CD73 Expression and progression/prognosis in biliary tract cancer, and its underlying biological mechanisms)

【背景と目的】

胆道癌 (Biliary tract cancer: BTC) は，治療選択肢が限られ，予後不良な悪性腫瘍である．CD73 は，アデノシン一リン酸 (AMP) をアデノシンに変換する膜結合型エクトヌクレオチダーゼであり，低酸素環境下において発現が亢進する．いくつかの癌種の腫瘍微小環境 (tumor microenvironment: TME) では，CD73 を介したアデノシンが免疫寛容や腫瘍進展を促進することが知られている．しかし，BTC における CD73 の臨床的意義や腫瘍浸潤リンパ球 (tumor-infiltrating lymphocytes: TIL) との関連については十分に明らかにされていない．本研究では，BTC における CD73 発現と免疫学的特徴，臨床転帰との関連を検討することを目的とした．

【対象と方法】

本研究は，2018 年 1 月から 2023 年 2 月までに北海道大学病院で外科的根治切除を施行された胆道癌（BTC）患者 100 例を対象とした単施設・後ろ向きコホート研究である．対象は 18 歳以上の病理学的に診断された BTC 症例であり，オプトアウトの意思を示さなかった患者を含めた．臨床情報として，年齢，性別，臨床背景，既往歴，治療経過，病理学的所見などを収集した．

手術検体からホルマリン固定パラフィン包埋標本 (FFPE) を作製し，5 μm 厚に薄切した．最も腫瘍成分が豊富なブロックを選択し，ヘマトキシリン・エオジン（H&E）染色および免疫染色（IHC）を実施した．IHC では，CD73，CD3，CD8，Foxp3，CD163 に対する抗体を用い，それぞれ成熟 T リンパ球，細胞傷害性 T 細胞（CTL），制御性 T 細胞（Treg），および M2 マクロファージを同定した．発色は HRP 標識ポリマー法により行った．

画像解析には人工知能（artificial intelligence: AI）を用いた解析ソフトウェア DeepPathFinder™ を使用した．H&E 染色スライドをバーチャルスライド化し，腫瘍細胞の最深部を含む領域を tumor bed として定義した．この領域を TME の代表領域とし，DeepPathFinder™ により腫瘍上皮部と間質部を自動識別したうえで，CD73 発現およびリンパ球浸潤の面積を定量化した．また，IHC 画像と H&E 画像を重ね合わせ，腫瘍部と間質部それぞれにおける免疫細胞マーカーの分布を面積として算出した．腫瘍および間質における単位面積あたりの CD73 陽性面積をで算出し，それぞれ T-CD73 および S-CD73 score とした．同様に, 腫瘍および間質におけるリンパ球密度をそれぞれ T-TIL および S-TIL score と定義した. さらに，IHC によって染色された $CD3^+$，$CD8^+$，$Foxp3^+$，$CD163^+$ 細胞を同定し，腫瘍および間質における各免疫細胞サブセットの密度を算出した．全ての解析結果は，臨床情報および転帰を知らされていない消化器内科医 1 名および病理医 1 名の計 2 名により確認された．

主要評価項目は CD73 発現と全生存期間（OS：手術から全死亡までの期間）との関連とし，副次評価項目として TIL と OS の関連，ならびに CD73 発現と免疫細胞浸潤の関連を検討した．統計解析は，Kaplan‑Meier 法による生存曲線解析，log-rank 検定，および Cox 比例ハザードモデルによる単変量・多変量解析を実施した．また，CD73 発現と各免疫細胞密度の関連は Spearman の順位相関係数を用いて評価し，p 値＜0.05 を統計学的有意とした．

【結果】

本研究では，根治切除を施行された胆道癌（BTC）患者 100 例を解析対象とした．内訳は肝内胆管癌

3 例（3%），肝門部領域胆管癌 43 例（43%），胆嚢癌 12 例（12%），遠位胆管癌 26 例（26%），乳頭部癌 16 例（16%）であった．UICC 第 8 版 TNM 分類による病期は，0 期 1 例（1%），I 期 20 例（20%），II 期 44 例（44%），III 期 21 例（21%），IV 期 14 例（14%）であった．

CD73 および TIL と生存期間の関連を検討した結果, 腫瘍部 CD73 が高値の患者群（T-CD73 score high）は全生存期間（OS）の有意な短縮を示した（HR＝1.97，p＝0.041）．一方，間質部 CD73（S-CD73 score）における検討では有意差を認めなかった．TIL については，腫瘍部 TIL（T-TIL score）に関しては有意差を認めなかったが, 間質部 TIL が高値の患者群（S-TIL score high）で有意に長い OS を示した（HR＝0.49，p＝0.032）．単変量解析では，T-CD73 score，S-TIL score，性別，リンパ節転移，遠隔転移が OS と有意に関連した．多変量解析では，性別，遠隔転移，および T-CD73 score が独立した予後規定因子として抽出された．

CD73 と TIL との相関解析では，T-CD73 score は T-TIL および S-TIL score のいずれとも有意な負の相関を示した（それぞれ r＝−0.264，r＝−0.495，p＜0.01）．S-CD73 score は S-TIL score と弱い負の相関を示したが（r＝−0.208，p＝0.038），T-TIL score とは有意な相関を認めなかった．

さらに免疫細胞サブセットとの関連を解析した結果, T-CD73 score は T-CD3, CD8, Foxp3, CD163 score のいずれとも有意な相関を示さなかった．一方で，T-CD73 score は S-CD3 score（r＝−0.246，p＝0.014）および S-CD8 score（r＝−0.266，p＜0.01）と有意な負の相関を示し，腫瘍部における CD73 高発現が間質内の成熟 T リンパ球および細胞傷害性 T 細胞（CTL）浸潤を抑制することが示唆された．S-CD73 score は腫瘍部および間質部の CD3，CD8，Foxp3 score との関連を示さなかったが，間質部 CD163 score との間に有意な正の相関を認めた．

【考察】

本研究では，胆道癌（BTC）における腫瘍部および間質部の CD73 発現，腫瘍微小環境における免疫学的特徴, 臨床転帰との関連を解析した．その結果, 腫瘍部での CD73 高発現は, 間質内の T 細胞系列, 特に細胞傷害性 T 細胞（CTL）の免疫抑制を介して予後不良と関連することが明らかとなった．

TIL は腫瘍免疫の重要な構成要素であり，その分布位置や密度，機能的特性が予後を規定する．TME は低酸素状態であることが多く，CD73 活性が上昇し，間質内アデノシン濃度が増加する．さらに，間質の低酸素はマクロファージによる T 細胞増殖抑制を強め，抗腫瘍免疫の低下と腫瘍増殖の促進につながることが報告されている．本研究においても，間質内 TIL，特に T 細胞が腫瘍免疫において重要な役割を果たしていることが示唆された. 一方で, 多くの腫瘍では腫瘍内 TIL は少数かつ不均一であり, H&E 染色での評価の再現性が低い．そのため，TIL の総量ではなく，間質内における分布や局在がより予後と関連することが報告されており, 本研究でも間質 TIL 高値群が有意に良好な生存期間と関連していた．

また，CD73 発現と免疫細胞サブセットの相関解析では，腫瘍部の CD73 発現が CD3 陽性および CD8 陽性 T 細胞密度と負の相関を示し，CD73 が間質内の T リンパ球，および CTL の浸潤を抑制している可能性が示唆された．一方で，Foxp3 陽性 T 細胞（制御性 T リンパ球，Treg）や CD163 陽性 M2 マクロファージとは有意な相関を認めなかった．

これらの結果から，TME において腫瘍細胞の CD73 活性が上昇し，間質内アデノシン濃度の増加を介して TIL，特に CTL の機能を抑制して，腫瘍が免疫逃避状態に陥ることで予後不良を招く機序が示唆された．

本研究の限界として，単施設・後ろ向き研究である点，各部位・病期別の解析が症例数の制約で困難であった点，治療レジメン（特に抗 PD-1／PD-L1 抗体使用の有無）との関連を検討できなかった点が挙げられる．

【結論】

胆道癌腫瘍部の CD73 発現上昇は間質内のリンパ球, 特に CTL の機能を抑制することで免疫逃避を促進して，生存転帰を悪化させる．