HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	術前化学放射線療法が膵癌微小環境にもたらす免疫学的効果に関する研究［論文内容及び審査の要旨］
Author(s)	桒原, 尚太
Description	配架番号：2525
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第14061号
Issue Date	2020-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/77937
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shota_Kuwabara_abstract.pdf, 論文内容の要旨

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　栗原　尚太

学 位 論 文 題 名

術前化学放射線療法が膵癌微小環境にもたらす免疫学的効果に関する研究

(Studies on prognostic relevance of tertiary lymphoid organs following neoadjuvant chemoradiotherapy in pancreatic ductal carcinoma)

【背景と目的】

膵癌は極めて予後不良の疾患であるが、近年では術前治療として化学療法や放射線照射療法を併用する集学的治療が、腫瘍縮小効果、R0 切除率の上昇、リンパ節転移陰性症例の増加などの点で治療成績を改善する可能性があると報告されている。さらなる集学的治療成績向上のためには、術前治療効果判定のためのバイオマーカーの探索が課題の一つである。腫瘍微小環境には腫瘍細胞はもとより血管、線維芽細胞、宿主免疫細胞、細胞外マトリックスなどさまざまな要素で構成されていることが知られているが、本研究では術前化学放射線療法の効果を反映するバイオマーカー候補として Tertiary Lymphoid Organs（以下 TLO）に着目した。TLO は元来、慢性炎症性疾患を中心にその存在が着目されていたが、近年悪性腫瘍組織にも認められることが報告されてきている。膵癌組織についての報告で、術前未治療で手術を先行して治療を行った患者を対象として、腫瘍組織内に TLO が高発現している症例ほど予後良好となることを示し、臨床病理学的に意義があることを証明した。

本研究では上記の先行研究を踏まえ、術前化学放射線治療群と手術先行群において腫瘍微小環境内での TLO 発現の程度を解析し、両群間で TLO の機能的差異があるかどうか、また予後との関連を比較することで、術前化学治療放射線治療を行った膵癌患者において TLO が持つ臨床病理学的意義について検討し、新規バイオマーカーを探索することと、術前化学放射線治療が膵癌微小環境に与える影響について検討することを目的とした。

【対象と方法】

対象

2009 年 1 月～2015 年 12 月の期間に、北海道大学病院消化器外科Ⅱで根治切除が施行された膵癌 140 例を、術前化学放射線療法（Neoadjuvant chemoradiotherapy；以下 NAC）群 47 例と、手術先行（Surgery First；以下 SF）群 93 例に群分けした。

方法

ホルマリン包埋標本を用いて腫瘍微小環境に発現する TLO の発現量、腫瘍組織に対する TLO の占有率（以下 TLO/Tumor 比）を両群において評価した。さらに、免疫組織化学染色法を用いて TLO を構成する免疫学的因子（CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞、CD20 陽性 B 細胞、Foxp3 陽性制御性 T 細胞、PD-1 陽性リンパ球、CD80 陽性マクロファージ、CD163 陽性マクロファージ、PNAd 陽性高内皮細静脈）の発現程度と TLO に占める割合、さらに TLO 構成細胞の増殖能について K-67 を用いて画像解析ソフトを用いて評価した。最後に腫瘍微小環境に発現する TLO が患者治療成績に及ぼす影響について生存解析を行い検討した。また臨床病理学的因子（年齢、性別、腫瘍局在、腫瘍サイズ、リンパ節転移の有無、組織学的グレード、Evans 分類、リンパ管侵襲、静脈侵襲、神経侵襲）に TLO/ Tumor 比を加えて単変量解析、多変量解析を行った。

統計学的比較検討に際し、2群間検定ではMan-Whitney U test、相関分析にはχ二乗検定、Fisherの直接検定、生存分析にはKaplan-Meier法、Log rank検定、Cox比例ハザードモデルをそれぞれ使用した。$p<0.05$を統計学的有意差ありと判定した。

【結果】

NAC群とSF群の２群間の患者背景の比較では年齢、性別、腫瘍局在、腫瘍因子、リンパ節転移の有無、遠隔転移の有無、病理学的ステージ、組織学的分類、術後補助療法施行の有無において有意差を認めなかった。TLOの発現率は全140症例中128例、91.4%に認められた。総腫瘍面積、総TLO面積はNAC群において有意に低値となった（いずれも$p<0.0001$）。NAC群とSF群における総腫瘍面積の差はNACによる腫瘍縮小効果と思われる。総TLO面積の差については腫瘍縮小に伴って修飾されたバイアスと考え、TLO/Tumor比が修飾バイアスを補正するための重要なパラメータであることが示唆された。TLO/Tumor比についてはNAC群、SF群の間に有意差はなかった。
免疫組織化学染色法を用いた解析では、NAC群においてTLO内に占めるCD8陽性Tリンパ球、PNAd陽性高内皮細静脈、CD163陽性マクロファージ、Ki-67陽性リンパ球の割合が有意に高値であった。一方、PD-1陽性免疫抑制性リンパ球の割合は有意に低値であった。生存解析ではNAC群患者がSF群患者に比較して予後良好であること示された。またサブグループ解析においてNAC群患者ではTLO/Tumor比高値群が低値群に比べて予後良好であることが示された。臨床病理学的因子にTLO/Tumor比を加えて全生存期間に対する多変量解析を施行したところ、リンパ節転移の有無（HR 0.029, 95%CI 0.003-0.163, $p<0.001$）、TLO/Tumor比（HR 0.056, 95%CI 0.006-0.297, $p<0.001$）が独立した予後良好因子であることが示された。

【考察】

化学放射線療法施行後の腫瘍微小環境内に浸潤するTリンパ球に関する研究は多く報告されているが、TLO構築に関する免疫学的メカニズムやTLOの機能の詳細についてはいまだ解明されていない。本研究結果からは術前化学放射線療法による腫瘍崩壊に伴い、腫瘍関連抗原が腫瘍微小環境内に放出されることでマクロファージによる抗原提示、免疫担当細胞の増殖能の増加、CD8陽性細胞傷害性T細胞の活性化、リンパ球遊走のための高内皮細静脈の誘導が活性化される一方で、免疫逃避機構に関与するPD-1陽性リンパ球が抑制され、NAC群患者における腫瘍微小環境を予後良好な方向に変化させる可能性があることが示唆された。

【結論】

膵癌術前化学放射線療法によりTLOを構成する免疫担当因子が変化することで腫瘍局所環境が免疫促進方向に変化し、良好な予後をもたらす可能性が考えられた。