



Title	免疫機能への影響を考慮した膠芽腫に対する新規放射線治療計画法の開発
Author(s)	高橋, 周平
Description	配架番号 : 2958
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16648号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16648
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98258
Type	doctoral thesis
File Information	TAKAHASHI_Shuheii.pdf, 全文



学 位 論 文

免疫機能への影響を考慮した

膠芽腫に対する新規放射線治療計画法の開発

(Development of a novel radiotherapy planning method for
glioblastoma with consideration of its effect on immune system)

2025 年 9 月

北海道大学

高橋 周平

学 位 論 文

免疫機能への影響を考慮した

膠芽腫に対する新規放射線治療計画法の開発

(Development of a novel radiotherapy planning method for
glioblastoma with consideration of its effect on immune system)

2025 年 9 月

北海道大学

高橋 周平

目 次

発表論文目録および学会発表目録	1
要 旨	2
略語表	5
全体の緒言	6
 第 1 章 膠芽腫の治療成績および再発様式の検討	
緒言	9
方法	10
結果	14
考察	17
 第 2 章 膠芽腫におけるリンパ球減少と予後の関連	
緒言	18
方法	19
結果	24
考察	29
 第 3 章 遷延性リンパ球減少の予測モデルの構築、およびモデルを 活用した新規放射線治療計画の検討	
緒言	32
方法	33
結果	36
考察	39
 全体の結論	43
謝辞	44
利益相反	45
引用文献	46

発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した（投稿中）。

1. Shuhei Takahashi, Kentaro Nishioka, Takashi Mori, Shigeru Yamaguchi, Yukitomo Ishi, Keiji Kobashi, Yoichi M. Ito, Zen-ichi Tanei, Hiromi Kanno-Okada, Shinya Tanaka, Hidefumi Aoyama
Assessment of Prognostic Value and Development of Predictive model for Prolonged Lymphopenia in Patients with Glioblastoma Following Chemoradiotherapy
Journal of Radiation Research

本研究の一部は以下の学会に発表した。

1. 高橋周平、西岡健太郎、森崇、山口秀、青山英史
当院における膠芽腫への術後化学放射線療法の治療成績および再発様式に関する研究
日本放射線腫瘍学会第 35 回学術大会、2022 年 11 月、広島
2. Shuhei Takahashi, Kentaro Nishioka, Yusuke Uchinami, Takashi Mori, Hiroaki Motegi, Shigeru Yamaguchi, Hidefumi Aoyama
Prognosis of patients with lymphopenia who undergo postoperative chemoradiotherapy for glioblastoma
The 3rd International Congress of the Asian Oncology Society (AOS2023) ,
Yokohama, Japan, 2023.10.19-21

要 旨

本研究では膠芽腫（glioblastoma ; GBM）に対する、免疫機能への影響を考慮した放射線治療計画法の開発を目的として解析および検討を行った。以下、全 3 章の構成に沿って要旨を述べる。

第 1 章 膠芽腫の治療成績および再発様式の検討

【背景と目的】 GBM は成人の原発性悪性脳腫瘍で最も高頻度にみられる腫瘍であり、近年報告された生存期間中央値は 18 ヶ月、2 年生存率は 35 %、5 年生存率は 15 % 程度と、手術および術後の化学放射線療法（chemoradiotherapy ; CRT）、薬物療法といった集学的治療を行ってもなお非常に予後不良な疾患である。また先行研究では GBM の再発様式は高線量照射野内、すなわち病変中心部での再発が大半を占めると報告されている。本章では新規放射線治療計画法の開発のパイロット研究として、現状の治療の課題を明確にすべく、当院（北海道大学病院）における GBM の治療成績と再発様式を遡及的に検討した。

【方法】 2008 年 5 月から 2021 年 4 月までに初回手術を受けて、当院で 60 Gy/30 分割の放射線治療と Temozolomide (TMZ) の同時併用による術後 CRT を施行した GBM 患者 75 症例を対象とした。全生存期間（overall survival ; OS）、無再発生存期間（progression-free survival ; PFS）について、既知の予後因子である年齢、術前 KPS（Karnofsky performance status）、全摘出（gross total resection, GTR）の有無、これらに加えて性別を変数とした生存時間解析を行った。また再発を認めた 62 症例 83 病変について MRI で同定される再発病変を治療計画と重ね合わせ、病変全体に対して 57 Gy 以上照射された病変が占める割合を 4 段階に分け、高い順にそれぞれ central/in-field/marginal/outside の再発と定義した。

【結果】 観察期間中央値は 20 ヶ月、OS 中央値は 24 ヶ月、5 年 OS は 22 %、PFS 中央値は 11 ヶ月であった。OS に関する単変量解析では 60 歳以上（ $p = 0.047$ ）と非 GTR（ $p = 0.019$ ）、多変量解析では 60 歳以上（ $p = 0.020$ ）と男性（ $p = 0.036$ ）が有意な OS 短縮因子であった。PFS に関しては単変量、多変量解析ともに 60 歳以上（各 $p = 0.001$ 、 $p = 0.003$ ）が有意な PFS 短縮因子であった。Central/in-field/marginal/outside の再発は各 62/3/2/16 病変で、再発様式は central の再発、すなわち高線量が照射されている中心部からの再発が 75 % を占めた。

【考察】 治療成績は過去の報告と概ね同等と考えられ、既知の予後因子に加えて男女差がある可能性も示唆された。再発部位は中心部が大半を占め、過去の報告と一致していた。

第2章 膠芽腫への化学放射線治療に際するリンパ球減少と予後の関連

【背景と目的】第1章の結果から、多くの症例で1年以内に再発、高線量が照射されている中心部から再発していることが判明した。より良好な腫瘍制御を得るためには治療強度を上げて、かつ中長期的に抗腫瘍効果を持続させることが望ましいが、放射線治療の線量増加による生存期間延長はコンセンサスが得られていない。予後向上への新規治療アプローチが模索される中、免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitor ; ICI) の台頭をはじめ、治療戦略におけるがん免疫への注目は近年高まっている。そこで本研究では GBM の腫瘍制御および予後向上への新規アプローチとしてがん免疫に注目した。特にがん免疫の中心的役割を担っているリンパ球は放射線感受性が高く、低線量の照射でも細胞死が起こることが知られている。実際にリンパ球減少は実質臓器や大血管を含むリスク臓器 (organ at risk, OAR) の線量や照射範囲と相関があることが報告されている。また臨床的にも放射線治療誘発性リンパ球減少はGBMを含む種々の悪性腫瘍において生存期間の短縮や再発率の上昇と関連しているという報告がある。本章では初発 GBM の術後 CRT におけるリンパ球減少に注目して、その発生頻度および予後との関係を解析した。

【方法】2008年7月から2023年5月までに初回手術を受け、当院で60 Gy/30分割の放射線治療とTMZの同時併用による術後 CRT を施行した GBM 患者 87 例を対象とした。各症例について末梢血リンパ球数 (absolute lymphocyte count; ALC) を調査し、CRT 開始時点で ALC が 1500/ μ L 未満であることを baseline lymphopenia (BL)、CRT 開始から終了3ヶ月時点までの ALC 最低値が 500/ μ L 未満であることを nadir lymphopenia (NL)、CRT 終了後1ヶ月時点で ALC が 800/ μ L 未満であることを prolonged lymphopenia (PL) と定義した。BL、NL、PL の発生数を評価し、これらの有無を変数として生存時間解析を行った。

【結果】全87例のうち、BLは53例、NLは51例、PLは41例に認められた。生存期間解析の結果、PL群は非PL群に比べてPFSが有意に短かった (中央値 8.0 vs. 15.4 ヶ月、 $p = 0.003$)。一方でOSでは両群間に有意差は認められず (中央値 20.8 vs. 27.9 ヶ月、 $p = 0.522$)、BLとNLのいずれもOSとPFSの有意な因子ではなかった。

【考察】PLはPFSの有意な短縮因子であり、リンパ球減少の遷延が中長期的なGBMの腫瘍制御に対して不利に働いている可能性があると考えられる。

第 3 章 遷延性リンパ球減少の予測モデルの構築、およびモデルを活用した新規放射線治療計画の検討

【背景と目的】第 2 章の結果から CRT 終了 1 ヶ月後のリンパ球減少、すなわち遷延性リンパ球減少 (PL) が最も強い PFS 短縮因子であることが示唆され、PL を避けることが予後改善のアプローチとして考えられる。そこで PL のリスク因子を解析して、PL 発生リスクを予測する数理モデルを構築した。さらに予測モデルを活用して放射線治療の寄与の程度を定量的に評価することで免疫機能への影響、とりわけリンパ球の温存について考慮した放射線治療計画法について検討した。

【方法】対象症例は第 2 章と同一である。第 2 章で定義した PL について、背景因子や放射線治療のパラメータ、特に脳全体のうち 20 Gy 以上照射される体積割合 (脳 V20) に注目してリスク因子の解析を行い、PL 発症リスクを予測する多変量回帰モデルを構築した。さらにこのモデルを用いて、放射線治療のパラメータや治療モダリティの違いで PL の予測リスクがどの程度変化するか検討した。

【結果】非 GTR ($p = 0.042$)、術前 KPS 不良 ($p = 0.009$)、脳 V20 高値 ($p = 0.004$) が PL の有意なリスク因子として同定された。PL リスクの予測式は脳 V20、性別、年齢、GTR、術前 KPS の 5 変数を用いて表され、脳 V20 は有意な予測因子として同定された。モデルの AUC (area under the curve) 値は 0.773 であった。高精度放射線治療の一種である強度変調放射線治療 (intensity modulated radiation therapy ; IMRT) と従来の 3 次元原体照射の比較を行った先行研究で報告された脳 V20 のデータを本モデルに適用すると、IMRT 群で予測 PL リスク値が減少することが示唆された。

【考察】脳 V20 は PL リスクの有意な予測因子であり、IMRT をはじめとした高精度放射線治療を用いて照射される脳体積を適切に減少させることでリンパ球減少のリスクを低減できる可能性がある。

全体の結論

多くの GBM 症例は 1 年以内に再発し、また高線量が照射されている中心部から再発しているため、予後改善のためには治療強度の向上および中長期的な腫瘍制御が望まれる。本研究で着目したリンパ球減少は腫瘍制御効果の低下と関係していることが先行研究で示唆されており、本研究でも遷延性リンパ球減少は PFS の短縮と相関が示唆された。高精度放射線治療により脳の適切な線量低減を行うことでリンパ球の温存が期待でき、これは GBM の予後を改善するアプローチとなる可能性がある。

略語表

本文中で使用した略語は以下の通りである。

3D-CRT : three-dimensional conformal radiation therapy
ALC : absolute lymphocyte count
AUC: area under the curve
BL : baseline lymphopenia
CI : confidence interval
CRT : chemoradiotherapy
CT : computed tomography
CTCAE: the common terminology criteria for adverse events
CTV : clinical target volume
DIR : deformable image registration
DVH : dose volume histogram
FLAIR : fluid attenuated inversion recovery
GBM : glioblastoma
GTR : gross total resection
GTV : gross tumor volume
ICI : immune checkpoint inhibitor
IDH : isocitrate dehydrogenase
IHC : immunohistochemistry
IMRT : intensity modulated radiation therapy
IS : intensity score
KPS : Karnofsky performance status
MGMT : methylguanine-DNA methyltransferase
MRI : magnetic resonance imaging
NL : nadir lymphopenia
OAR : organ at risk
OS : overall survival
PBT : proton beam therapy
PFS : progression-free survival
PL : prolonged lymphopenia
PS : proportion score
PTV : planning target volume
ROC: receiver operating characteristic
TMZ : temozolomide

全体の緒言

1. 背景

(1) 膠芽腫について

膠芽腫 (glioblastoma ; GBM) は成人の原発性悪性脳腫瘍で最も高頻度にみられる腫瘍である。初発GBMに対しては、可及的範囲で摘出を行った後、術後化学放射線療法 (chemoradiotherapy ; CRT) としてTemozolomide (TMZ) 併用での放射線治療 (60 Gy/30 分割)、その後アジュバント療法としてTMZ維持療法を行うレジメン (Stupp et al, 2005) が2025年時点で標準治療とされている。本邦におけるレジストリ解析 (The Committee of Brain Tumor Registry of Japan, 2017) によると、GBMの生存期間中央値は18ヶ月、2年生存率は35 %、5年生存率は15 %程度と報告されており、集学的治療を行ってもなお早期の再発および死亡が多い非常に予後不良な疾患である。またGBMの再発様式としては高線量照射野内、つまり病変中心部での再発が大半を占めると報告されており (Zheng et al, 2021)、治療強度および中長期的な腫瘍制御の向上が必要であると考えられる。近年の新たなエビデンスとしては維持療法期の交流電場腫瘍治療システムの併用により生存期間延長が報告されている (Stupp et al, 2015) が、一方で放射線治療の線量増加による生存時間延長の上乗せ効果に関しては明確でなく、少なくとも第3相ランダム化比較試験の結果からは線量増加による生存期間延長についてコンセンサスは得られていない (Chang et al, 1983; Souhami et al, 2004)。そのため、放射線治療の成績を向上させる新たなアプローチの開発が望まれる。

(2) 放射線治療とリンパ球減少

悪性腫瘍の治療戦略において、免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitor ; ICI) の台頭をはじめ、がん免疫への注目は近年高まっている。がん免疫の中心的役割を担っているリンパ球は放射線感受性が高く、低線量の照射でも細胞死が起こることが知られている (Nakamura et al, 1990)。実際にリンパ球減少は実質臓器や大血管を含むリスク臓器 (organ at risk ; OAR) の線量や照射範囲と相関があることが報告されている (Yu et al, 2021)。また臨床的にも CRT を含む放射線治療に関連したリンパ球減少はしばしば見られ、放射線治療誘発性リンパ球減少は GBM を含む種々の悪性腫瘍において生存期間の短縮や再発率の上昇と関連しているという報告がある (Matiello et al, 2020; Huang et al, 2015)。

またリンパ球減少は月単位ないし年単位で遷延することが知られている (Ghosh et al, 2023) が、一方で予後改善のためには中長期的な腫瘍制御が必要

であり、そのためにはリンパ球減少の重症度のみならず、リンパ球減少からの回復の有無も重要であると考えられる。実際に膵癌や食道癌では放射線治療誘発性リンパ球減少から回復を得られた群は非回復群よりも予後が有利であったという報告があるが (Tseng et al, 2023; Lee et al, 2020)、その一方で GBM においてリンパ球減少の遷延について着目した研究は少ない。

(3) 放射線治療の技術発展

1980年代はX線シミュレータを元に照射範囲を決定する2次元放射線治療 (two-dimensional radiation therapy) が行われていたが、基本的には骨構造を目印とした単純な照射野しか設定できないことが多かった。2000年代になりCT (computed tomography) シミュレータで標的を設定し、標的に合わせてビーム形状を変化させつつ様々な方向から照射を行う3次元原体照射 (three-dimensional conformal radiation therapy ; 3D-CRT) が普及して、2次元放射線治療よりも飛躍的に治療精度が向上した。しかし3D-CRTは基本的に人間が手動でビームの形状、強度、方向を設定しなければならない都合上、治療標的と正常臓器が近接している部分では治療標的の線量を確保しつつ正常臓器を避けることが両立できないケースも多い。

この課題を解決する技術として高精度放射線治療が開発されており、2010年代からは強度変調放射線治療 (intensity modulated radiation therapy ; IMRT) が台頭した。IMRTはコンピュータに標的の目標線量、正常臓器の線量上限といった線量制約を与えて、この条件下で最適な線量分布を実現できるよう放射線治療計画を作成させる逆方向治療計画 (inverse planning) という手法を用いることで、例えば正常臓器が腫瘍に囲まれた状態で、正常臓器のみをくり抜いた形の線量分布を得るなど、人力では実現困難な高精度放射線治療が可能となった。また陽子線治療 (proton beam therapy ; PBT) も高精度放射線治療の一つであり、これは一般的な放射線治療で用いられているX線 (光子、photon) ではなく陽子 (proton)、すなわち水素原子核を用いた治療である。電磁波であるX線はある深度に存在する標的にエネルギーを与えた後、その後方へ通過して緩やかに減衰しながらエネルギーを放出する性質がある一方で、陽子は与えられた初速度に対応した特定の深度付近でほとんどのエネルギーを放出し、その後方ではエネルギーを付与しないという性質 (ブラッグピーク) を持つ。この物理学的性質によりPBTはX線治療と比較して病変周囲の正常組織の線量をより有効に低減することが可能となった。

GBMの放射線治療計画に関しては3D-CRTが主流であったが、近年ではIMRTも日常診療で用いられるようになってきた。一方でPBTは2025年現在、本邦で保険診療としては認められていない。

2. 何がわかっていて、何がわかっていないのか

GBMにおいて、脳への照射線量が高いとリンパ球減少のリスクが上昇し、またリンパ球減少が予後不良因子であることが示唆されているため回避すべき有害事象の一つであることは知られている (Huang et al, 2015)。一方、治療期間においてどの時期のリンパ球減少が予後に影響しているのか、また放射線治療の計画法やパラメータの違いがリンパ球減少にどの程度寄与するかについては知見に乏しい。具体的には高精度放射線治療により得られるリンパ球減少リスクの低減の程度については一定の見解が得られていない。

3. 本研究で何を明らかにしようとしているか

リンパ球減少のリスクを予測する数理モデルを構築することで、リンパ球減少リスクに対する放射線治療パラメータの寄与の程度を評価する。これにより種々の放射線治療計画アプローチを定量的に評価することが可能となるため、そこから適切な治療計画法を明らかにすることを試みた。

第 1 章

膠芽腫の治療成績および再発様式の検討

緒言

GBM に対する標準治療は手術、術後 CRT、維持薬物療法を組み合わせた集学的治療であり、その構築自体は 2005 年に Stupp らが提唱したレジメン (Stupp et al, 2005) から直近 20 年間で大きな変化はない。一方、近年では IMRT を中心とした高精度放射線治療が普及しつつあり、さらに 5-アミノレブリン酸による腫瘍摘出術中の腫瘍組織の可視化 (Stummer et al, 2006)、術後摘出腔へのカルムスチンウェハーの留置 (Gutenberg et al, 2013)、交流電場腫瘍治療システムの併用 (Stupp et al, 2015) など、放射線治療以外にも治療のオプションには変化が見られ、治療成績にも変化がある可能性がある。また新規治療アプローチを検討するにあたり、再発は摘出腔を中心とした高線量照射域に起こりやすいのか、照射範囲外に起こりやすいのか、その傾向を把握することは治療の課題を把握することにつながるため、照射範囲や線量を設定する上で重要である。先行研究では高線量照射域、すなわち病変中心部から再発することが多いと報告されているが (Zheng et al, 2021)、本邦では再発様式に関して線量分布に注目した報告は少ない。これらの背景より、既報の治療成績や再発様式の傾向が当院 (北海道大学病院) の症例群にも当てはまるかどうか確認することが望ましい。

本章では新規放射線治療計画法の開発にあたるパイロット研究として、既報の再現性を確認するとともに現状の治療の課題を明確にすべく、当院における GBM の治療成績と再発様式を遡及的に検討する。

方法

1. 対象

2008 年 5 月から 2021 年 4 月までに初回手術を受けて、当院で TMZ 併用の放射線治療（60 Gy/30 分割）が施行された膠芽腫患者を対象とした。除外基準は初回手術時の年齢が 20 歳未満または 71 歳以上である症例、照射終了日から 8 週時点の予後が不明である症例とした。

本研究はヘルシンキ宣言および「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」に従い、北海道大学病院の倫理審査委員会により承認（研究番号 022-0179）を受けて実施している。既存の診療情報および試料のみを用いており、書面によるインフォームド・コンセントの手続きは省略されたが、研究内容は北海道大学病院のホームページに掲載し、対象患者に対してオプトアウトを実施した。

2. 放射線治療および併用療法

放射線治療について、まずはその標的として MRI（magnetic resonance imaging）の造影 T1 強調像で造影される残存腫瘍が GTV（gross tumor volume）と設定された。造影効果が乏しい腫瘍については T1 強調像で極めて強い低信号域、ないし FLAIR（fluid attenuated inversion recovery）画像や T2 強調像での高信号域（FLAIR/T2 high）が代わりに残存腫瘍とみなされた。次に CTV

（clinical target volume）の設定について、CTV1 は残存腫瘍＋摘出腔、および周囲の FLAIR/T2 high 領域に 15 mm のマージン、CTV2 は残存腫瘍＋摘出腔に 15 mm のマージンを付与してから、それぞれ解剖学的構造を考慮して適宜編集したものとされた。PTV（planning target volume）の設定については、患者位置の固定精度を考慮して CTV1 および CTV2 に 3-5 mm のマージンを付与し、それぞれ PTV1、PTV2 とされた。線量分割は 60 Gy/30 分割で、PTV1 に対して 40-50 Gy、PTV2 に対して 60 Gy が照射されるような治療計画が作成された。図 1 で一般的な放射線治療における標的設定の概念について補足する。照射手法は直線加速器（リニアック）での高エネルギー X 線治療で、照射は 3D-CRT もしくは IMRT により行われた。

併用療法について、CRT 期間中は放射線治療と同時併用で TMZ 75 mg/ m² が連日投与された。これに続いて CRT 終了時点から TMZ を 4 週間休薬した後、維持療法として TMZ 150 - 200 mg/ m² を 28 日ごとに 5 日間投与するサイクルを再発ないし 2 年経過するまで継続された。なお骨髄抑制や非血液毒性により TMZ の減量または休薬が必要と判断された場合はこの限りではない。

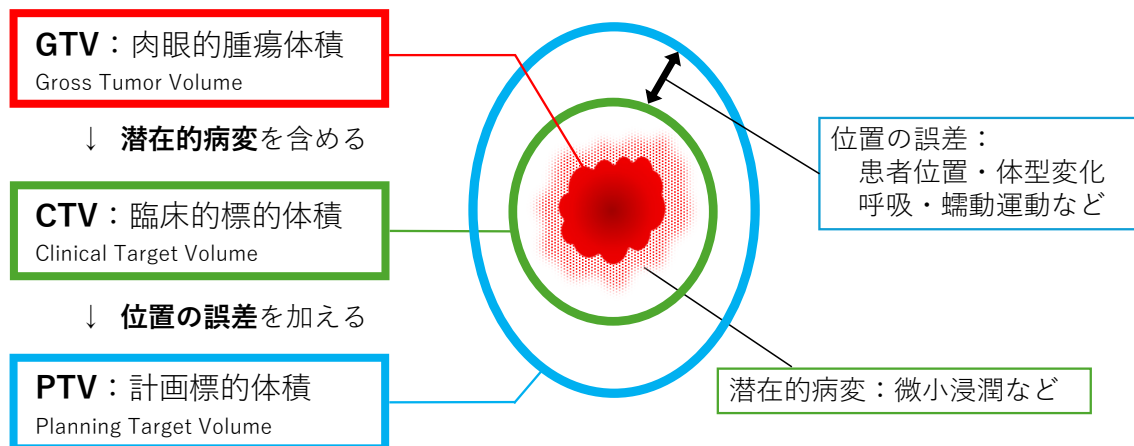


図 1：一般的な放射線治療における標的の概念

3. 生存時間解析

初回手術日を起算点として全生存期間（overall survival ; OS）、無再発生存期間（progression free survival ; PFS）を算出し、カプランマイヤー法およびログランク検定による単変量解析、および Cox 比例ハザードモデルでの Wald 検定による多変量解析を行った。なお再発は原則的に RANO 2.0（response assessment in neuro-oncology）（Wen et al, 2023）により定義した。既知の予後因子である年齢、術前 KPS（Karnofsky performance status）、全摘出（gross total resection ; GTR）の有無、これらに加えて性別を説明変数とした。年齢は 60 歳以上、摘出度は摘出率 95 %以上（GTR と定義）、術前 KPS は 90 %以上をカットオフとして設定した。有意水準は p 値 < 0.05 とした。統計解析ソフトは JMP pro 17.2.0（JMP Statistical Discovery LLC, Cary NC USA）を使用した。

4. 再発様式の解析

再発を認めた症例について初回再発時点の MRI で同定される再発病変のマッピングを行い、治療計画時の CT および線量分布との重ね合わせを行った。MRI と CT の重ね合わせは非剛体レジストレーション（deformable image registration ; DIR）で行った。再発病変のマッピングおよび治療計画時 CT への重ね合わせは図 2 で補足し、DIR の詳細については補足 1 で述べる。先行研究（Zheng et al, 2021）を参考として、再発病変全体の体積に対する、57 Gy（処方線量 60 Gy の 95 %線量）以上が照射された部分の体積の割合を R [%] とし、これに応じて各病変の再発様式を以下の 4 つに分類し、病変数全体に占める割合をそれぞれ算出した。算出方法については図 3 で補足する。なお 1 人の

患者につき複数部位に同時に再発した場合は、各々の病変について再発様式を評価するものとした。

- | | |
|----------------------------------|--------------------------|
| (1) 中心部再発 (central recurrence) | : $R \geq 95 \%$ |
| (2) 照射野内再発 (in-field recurrence) | : $80 \% \leq R < 95 \%$ |
| (3) 辺縁部再発 (marginal recurrence) | : $20 \% \leq R < 80 \%$ |
| (4) 照射野外再発 (outside recurrence) | : $R < 20 \%$ |

※ $R [\%] = [57 \text{ Gy 以上が照射された再発病変体積}] \div [\text{再発病変全体の体積}] \times 100$

補足 1 : 非剛体レジストレーション

放射線治療において、CT のみでは腫瘍や正常臓器の正確な範囲の把握が困難な場面や、過去の画像所見との比較を必要とする場面があり、その際に種類ないし撮像時点が異なる画像を 3 次元的に重ね合わせて腫瘍や正常臓器の描出を行うプロセスがしばしば用いられる。この重ね合わせは従来、平行移動と回転移動のみで行う剛体レジストレーション (rigid image registration) が用いられることが多かったが、腫瘍や正常構造はしばしば経時的に形態変化が起こるため、重ね合わせが不正確となる場合があった。この課題を解決する方法として、平行移動と回転移動以外の画像変形も許容した非剛体レジストレーション (DIR) が近年では用いられるようになり、とりわけ脳腫瘍においては脳浮腫や摘出腔の変化に解剖学的構造を対応させることがある程度可能となった。

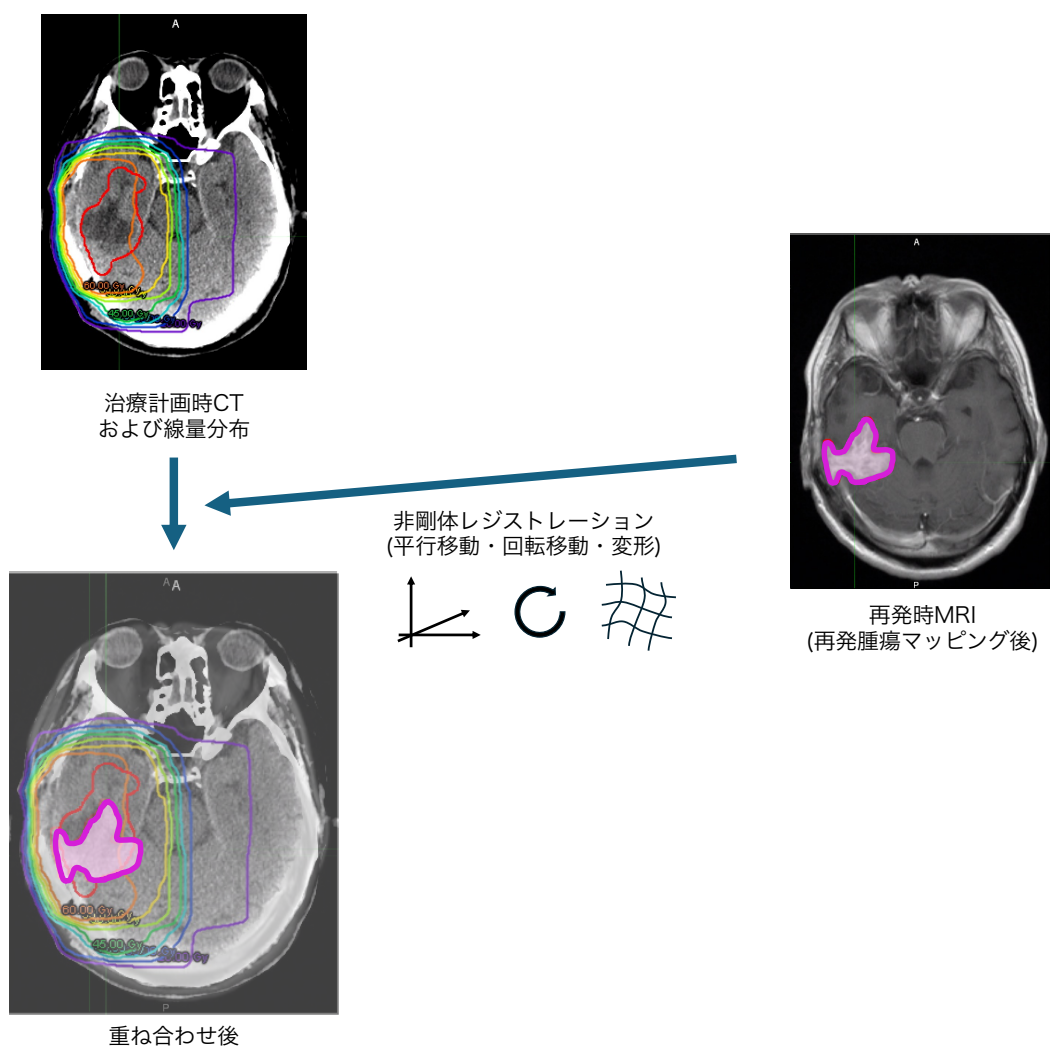


図 2：再発病変のマッピングと治療計画時画像への重ね合わせ

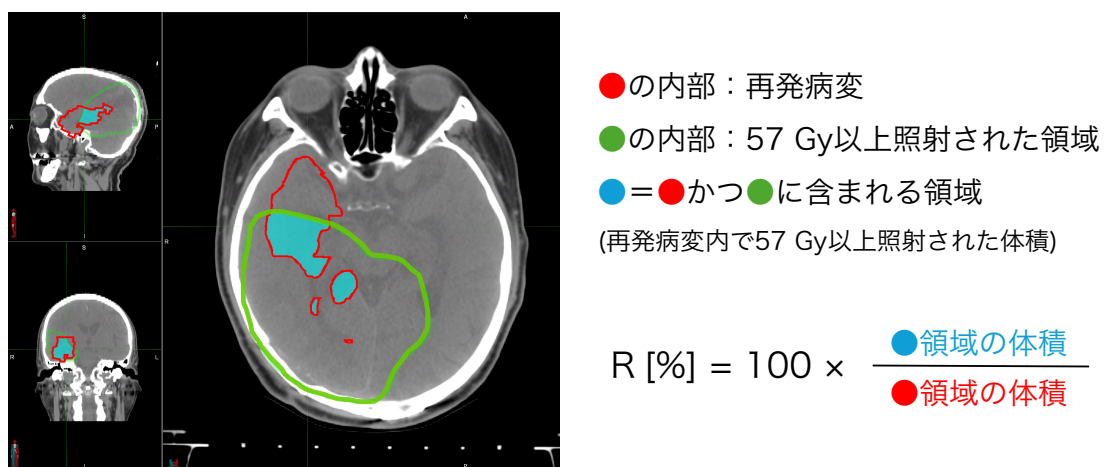


図 3：再発様式の評価指標（R）の算出

結果

1. 生存時間解析

条件に合致する解析対象症例は75例であった。観察期間中央値は19.9ヶ月、OS中央値は24.4ヶ月（95%CI：18.5-33.3ヶ月、CI；confidence interval）、5年OSは22%（95%CI：13-35%）、PFS中央値は11.1ヶ月（95%CI：8.5-13.3ヶ月）、5年PFSは10%（95%CI：4-20%）であった。OSに関する単変量解析では60歳以上（中央値：19.6 vs. 29.7ヶ月、 $p = 0.047$ ）と非GTR（中央値：19.9 vs. 29.7ヶ月、 $p = 0.019$ ）が有意なOS短縮因子であった。また多変量解析では60歳以上（ $p = 0.020$ ）に加えて男性（ $p = 0.036$ ）が有意なOS短縮因子であった。PFSに関しては単変量解析、多変量解析ともに60歳以上（中央値：8.6 vs. 16.9ヶ月、単変量： $p = 0.001$ 、多変量： $p = 0.003$ ）が有意なPFS短縮因子であった。OS、PFSのカプランマイヤー曲線は図4に、生存時間解析の詳細は表1および表2示す。また患者背景を表3に示す。

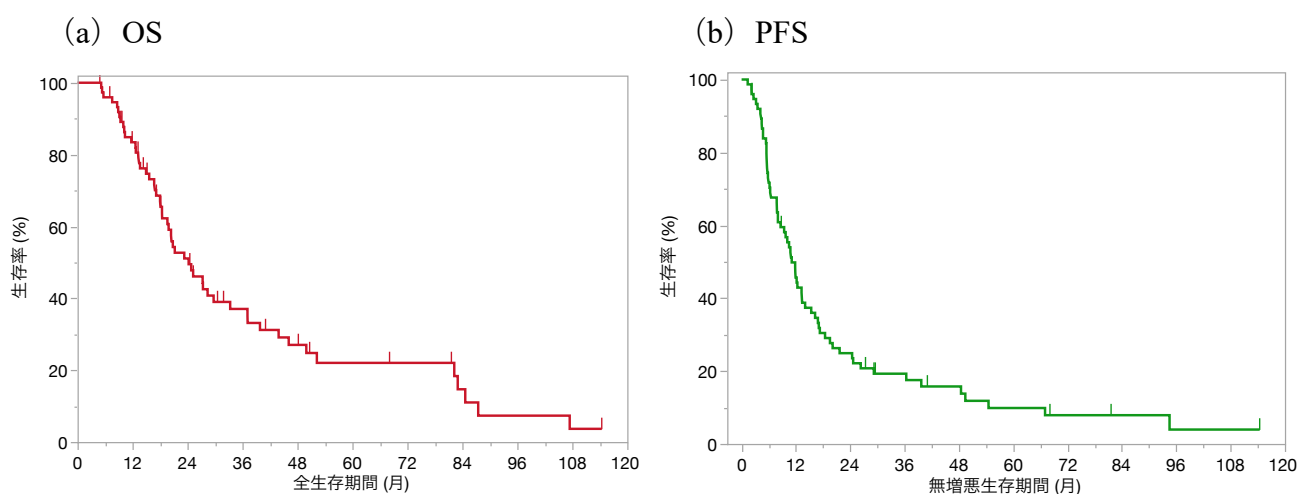


図4：カプランマイヤー曲線 (a) OS (b) PFS

表 1：全生存期間（OS）に関する生存時間解析

	単変量解析		多変量解析	
	ハザード比 (95 % CI)	p 値	ハザード比 (95 % CI)	p 値
性別 男性－女性	1.629 (0.920–2.885)	0.091	1.902 (1.043–3.470)	0.036*
年齢 60 歳以上－未満	1.772 (1.000–3.139)	0.047*	2.049 (1.122–3.742)	0.020*
摘出度 非 GTR－GTR	2.008 (1.111–3.627)	0.019*	1.895 (0.996–3.609)	0.052
術前 KPS 90 %未満－以上	1.585 (0.898–2.799)	0.109	1.371 (0.736–2.557)	0.320

表 2：無増悪生存期間（PFS）に関する生存時間解析

	単変量解析		多変量解析	
	ハザード比 (95 % CI)	p 値	ハザード比 (95 % CI)	p 値
性別 男性－女性	1.301 (0.792–2.136)	0.297	1.469 (0.872–2.474)	0.148
年齢 60 歳以上－未満	2.276 (1.355–3.822)	0.001*	2.276 (1.336–3.878)	0.003*
摘出度 非 GTR－GTR	1.520 (0.897–2.575)	0.117	1.492 (0.835–2.668)	0.177
術前 KPS 90 %未満－以上	1.492 (0.897–2.483)	0.120	1.203 (0.671–2.159)	0.320

表 3：患者背景（全 75 例）

	症例数（割合 [%]）
性別	
男性	44 (59 %)
女性	31 (41 %)
年齢	
60 歳未満	32 (43 %)
60 歳以上	43 (57 %)
摘出度	
GTR	50 (67 %)
非 GTR	25 (33 %)
術前 KPS	
90 %以上	30 (40 %)
90 %未満	45 (60 %)

2. 再発様式

続いて再発様式について、再発を認めた 62 症例で合計の再発病変数は 83 病変であった。そのうち中心部再発（central）/照射野内再発（in-field）/辺縁部再発（marginal）/照射野外再発（outside）はそれぞれ 62/3/2/16 病変で、図 5 に示した通り中心部再発が全体の 75 %を占めた。

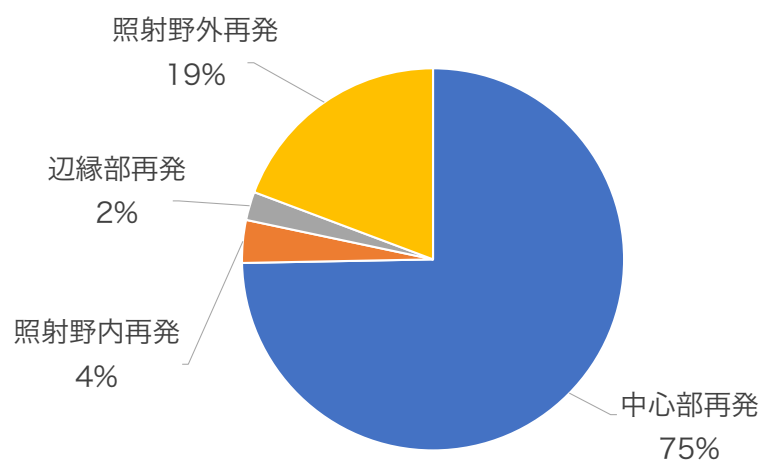


図 5：各再発様式の割合

考察

本章の解析対象症例において、OS 中央値は 24.4 ヶ月、5 年 OS は 22 %であり、本邦のレジストリ解析（The Committee of Brain Tumor Registry of Japan, 2017）で報告されている OS 中央値 18 ヶ月、5 年 OS 15%と比較して数値上では良好な成績であった。ただし照射終了日から 8 週時点の予後が不明である症例を解析から除外していることから、ホスピスなどへ転院して観察が打ち切りとなった最重症例が解析から除外されている可能性を考慮すると成績が過大評価されている可能性があるため、本治療成績は過去の報告と概ね同等の範疇であると考ええる。既知の予後因子である年齢や GTR は本章の解析でも有意な予後因子として挙げられており、再現性が確認された。一方で術前 KPS や多変量解析での GTR については有意差がなかったが、これは症例数が少ないことによる検出力不足の影響と考えられる。

なお本章の結果において多変量解析で男性よりも女性で OS が有意に良好であったことに関して、過去にも同様な報告（Patil et al, 2021）がある。予後良好因子として知られている MGMT（methylguanine-DNA methyltransferase、メチルグアニン DNA メチル基転移酵素）遺伝子プロモーター領域のメチル化が女性で多いというコホート解析（Johansen et al, 2021）や遺伝子パネル解析の結果（Majchrzak-Celińska et al, 2020）や、がん免疫に関わる T 細胞リンパ球の機能が男性で低下しているというマウス実験の結果（Lee et al, 2023）が報告されており、遺伝子発現や免疫反応などの性別差が予後の差と関連している可能性があるが、本研究において既存の試料のみではこれらの関連を証明できず、今後の研究課題である。

再発様式については中心部再発が大半を占め、過去の報告と一致していた。また PFS 中央値は 11.1 ヶ月であり、半数以上の症例が 1 年以内に再発していた。そのため新規放射線治療計画法の開発にあたっては、腫瘍およびその近傍部の治療強度および中長期的な抗腫瘍効果の持続性について注目すべきであると考ええる。

第2章

膠芽腫への化学放射線治療に際するリンパ球減少と予後の関連

緒言

第1章のパイロット研究の結果から、多くの症例で1年以内に再発し、また再発は高線量が照射されている中心部が大半を占めることが判明した。このため、より良好な腫瘍制御を得るためには治療強度を上げて、かつ中長期的に抗腫瘍効果を持続させることが望ましい。特に治療強度を上げる方法としては拡大切除、併用薬物療法の強化、放射線治療の線量増加などが挙げられ、様々な臨床試験が行われており現在も進行中である。しかし放射線治療の線量増加による生存期間延長への上乗せ効果については議論があり、本邦の後ろ向き観察研究（Tanaka et al, 2005）では悪性神経膠腫（Grade III-IV）に対して通常用いられる 60 Gy よりも高線量である 80 - 90 Gy での放射線治療により生命予後延長の可能性が示唆された一方で、第3相ランダム化比較試験において 60 Gy から 70 Gy への線量増加で生存率に有意な改善が見られず（Chang et al, 1983）、また通常の放射線治療に定位放射線治療を追加することによる生存期間の延長も得られなかった（Souhami et al, 2004）。また 60 Gy を超える線量では脳壊死のリスクが上昇し、他にも認知機能障害といった晩期有害事象のリスクも上昇する。すなわち従来の照射方法のまま単純に線量増加のみを行うという治療戦略は、既存の臨床試験では有効性についてコンセンサスが得られておらず、有害事象の観点からも有望ではないと考える。そこで本研究では線量増加によらずに治療強度を上げられるような新規アプローチの検討にあたり、近年注目されているがん免疫に着目した。特にがん免疫の中心的役割を担っているリンパ球は放射線感受性が高く、1 Gy 程度の低線量の照射でも細胞死が起こることが知られている（Nakamura et al, 1990）。実際にリンパ球減少は実質臓器や大血管を含む OAR の線量や照射範囲と相関があることが報告されている（Yu et al, 2021）。また臨床的にも CRT を含む放射線治療に関連したリンパ球減少はしばしば見られ、放射線治療誘発性リンパ球減少は GBM を含む種々の悪性腫瘍において生存期間の短縮や再発率の上昇と関連しているという報告がある

（Matiello et al, 2020; Huang et al, 2015）。一方でリンパ球減少を評価するタイミングは研究によって異なり、どの時点のリンパ球減少が予後に影響しているのかは見解が一定ではない。

本章では初発 GBM の術後 CRT に際するリンパ球減少に注目して、そのタイミング別の発生頻度および予後との関係を解析した。

方法

1. 対象

2008 年 7 月から 2023 年 5 月までに初回手術を受けて、当院で 60 Gy/30 分割の放射線治療と TMZ の同時併用による術後 CRT を施行した GBM 患者を対象とした。除外基準は第 1 章で述べた初回手術時の年齢が 20 歳未満または 71 歳以上である症例、照射終了日から 8 週時点の予後が不明である症例に加えて、CRT 開始前に薬物療法が行われた症例、必要な採血データに欠落のある症例、IDH (isocitrate dehydrogenase) 遺伝子変異を有する症例も除外とした。IDH 遺伝子変異の取り扱いについては補足 2 で詳しく述べる。臨床研究の承認については、第 1 章に記載した内容と同一であるため、本章では省略する。

補足 2 : IDH 遺伝子変異

腫瘍の組織型分類で広く用いられている WHO (world health organization) 分類が 2021 年に第 5 版へと改訂され、脳腫瘍においては組織学的所見だけでなく遺伝子変異も病理診断において重視されるようになった。この改訂に伴い、第 4 版以前の基準では膠芽腫と分類されていた神経膠腫のうちイソクエン酸脱水素酵素をコードする IDH 遺伝子に変異を有するものは、膠芽腫の診断基準から外れることとなった。このような背景から本章および第 3 章の対象症例からは、当初は膠芽腫の病理診断となった症例のうち IDH 遺伝子変異を有する症例を除外することとした。

2. 治療内容

放射線治療および併用療法の内容は、第 1 章の方法「2. 放射線治療および併用療法」で述べた内容と同一であるため、本章では省略する。

3. リンパ球減少の評価

評価対象である末梢血リンパ球数 (Absolute Lymphocyte Counts ; ALC) は採血データから得られる直接計測値、ないし分画の比率から計算される間接計測値により得るものとした。リンパ球減少の評価タイミングは CRT 開始時点、CRT 開始から終了 3 ヶ月時点までの ALC 最低値を記録した時点 (以下 nadir 時点と表記する)、CRT 終了後 1 ヶ月時点の 3 時点とした。各時点の ALC をもとに、Common Terminology Criteria for Adverse Effect version 5.0 (CTCAE v5.0) によるリンパ球減少の Grade 評価を行った。その基準は Grade 1 ($800 \leq \text{ALC} < 1500 /\mu\text{L}$)、Grade 2 ($500 \leq \text{ALC} < 800 /\mu\text{L}$)、Grade 3 ($200 \leq \text{ALC} < 500 /\mu\text{L}$)、Grade 4 ($\text{ALC} < 200 /\mu\text{L}$) である。先行研究 (Song et al, 2021; Kim et al,

2023; Huang et al, 2015) を参考として、CRT 開始時点での ALC が 1500/ μ L 未満 (Grade 1 以上) であることを baseline lymphopenia (BL)、nadir 時点での ALC が 500/ μ L 未満 (Grade 3 以上) であることを nadir lymphopenia (NL)、CRT 終了後 1 ヶ月時点で ALC が 800/ μ L 未満 (Grade 2 以上) であることを prolonged lymphopenia (PL) と定義した。各時点でのリンパ球減少の Grade、および BL、NL、PL の発生数を評価した。

4. 生存時間解析

初回手術日を起算点として OS、PFS を算出し、カプランマイヤー法およびログランク検定による単変量解析を行った。3 つの時点のリンパ球減少 (BL、NL、PL) と OS、PFS の間で生存時間に有意差があった組み合わせに関しては Cox 比例ハザードモデルでの Wald 検定による多変量解析を追加した。

本項目の統計解析に用いる説明変数はリンパ球減少の有無のほか、患者背景因子と放射線治療パラメータがある。患者背景について、第 1 章で説明変数として用いた年齢、摘出度、術前 KPS、性別に加えて、術前腫瘍サイズおよび予後因子として知られている MGMT 発現の有無を背景因子として選択した。年齢、GTR、術前 KPS のカットオフは第 1 章と同一である。術前腫瘍サイズは直接的な体積計測が困難であったため、MRI で同定される腫瘍の最大断面 (軸位断) での長径と短径の積を術前腫瘍サイズ指標として定義した。MGMT 発現については病理標本と照会し、DNA メチル化の有無、それが不明な場合は免疫組織化学染色 (immunohistochemistry ; IHC) により評価した。MGMT の詳細および IHC 評価の具体的な方法は補足 3 で述べる。

続いて放射線治療のパラメータについて、先行研究から脳に照射される線量がリンパ球減少と関連していることが示唆されていることから、本研究ではまず線量体積ヒストグラム (dose volume histogram ; DVH) から得られる脳 V5, V10, ..., V60 というパラメータを算出した。ここで脳 V5 というのは脳全体のうち 5Gy 以上が照射された体積の割合 (単位は %) を指しており、本研究では 5 Gy から 60 Gy まで 5 Gy ごとにこのパラメータを評価している。なお図 7 に示す相関係数行列の作成を事前解析として行い、これらの DVH パラメータ同士の相関が非常に強いことが判明していることから、多変量解析の際に多重共線性が問題となることが予想された。そのため、先行研究を参考にして脳 V20 のみを DVH パラメータを代表する説明変数として主な解析対象とすることにした。多重共線性については補足 4 で述べる。

第 1 章と同様に有意水準は p 値 < 0.05 とした。統計解析ソフトは JMP pro 17.2.0 (JMP Statistical Discovery LLC, Cary NC USA) を使用した。

補足 3 : MGMT 遺伝子のメチル化と発現、および評価方法

TMZ は DNA のメチル基架橋形成を引き起こし、DNA 複製を障害することで抗腫瘍効果を発揮するが、MGMT はこのメチル基を転移させることにより DNA 架橋形成を阻害する作用があるため MGMT の発現は TMZ の効果減弱と関連していると言われている。ここで MGMT 遺伝子のプロモータ領域がメチル化されている場合、転写が抑制されて MGMT の発現量が低下することから TMZ が有効に作用しやすくなると考えられており、MGMT 遺伝子プロモータ領域のメチル化は予後良好因子として知られている。しかし DNA のメチル化は設備を有する限られた施設でしか解析することができず、全ての症例でメチル化ステータスを評価することは設備およびコストの制約より本研究では断念した。このため一般的な施設でも比較的可能である IHC による MGMT 発現の評価を代替指標として用いることとし、評価方法は先行研究 (Miyazaki et al, 2014) のスコアリング法を用いた。このスコアリング法は視覚的に評価した染色強度と染色率についてそれぞれ *intensity score* (IS)、*proportion score* (PS) として 0, 1, 2, 3 の 4 段階のスコアを与えるものである。そして IS と PS の合計値が 0 の場合は MGMT 発現陰性、そうでない場合は MGMT 発現陽性と判定される。病理標本と対応するスコアリングの例は図 6 に示す。

北海道大学病院病理部および北海道大学医学部腫瘍病理学教室に保管されている病理プレパラートについて、病理診断レポートに MGMT 発現に関する記載がなされていた症例はあるものの、評価者間のばらつきを避けるため、2 名の病理専門医よりスコアリングの訓練を受けた筆者が一律に再評価を行った。ただし他院に保管されている標本に関しては本臨床研究の承認範囲外であることから評価対象から除外している。

HE染色

MGMT染色

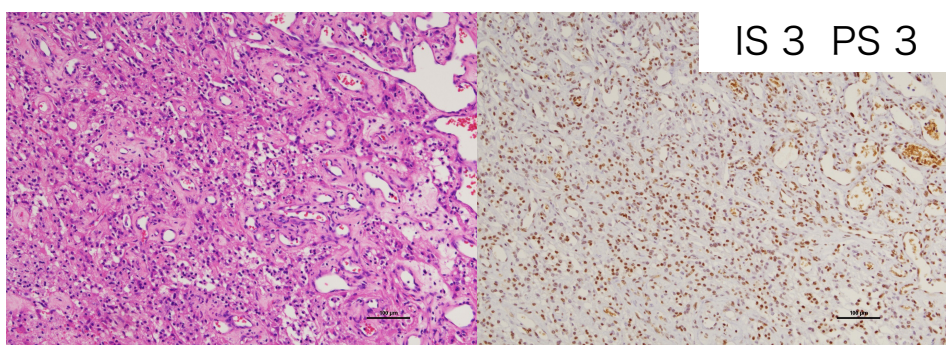
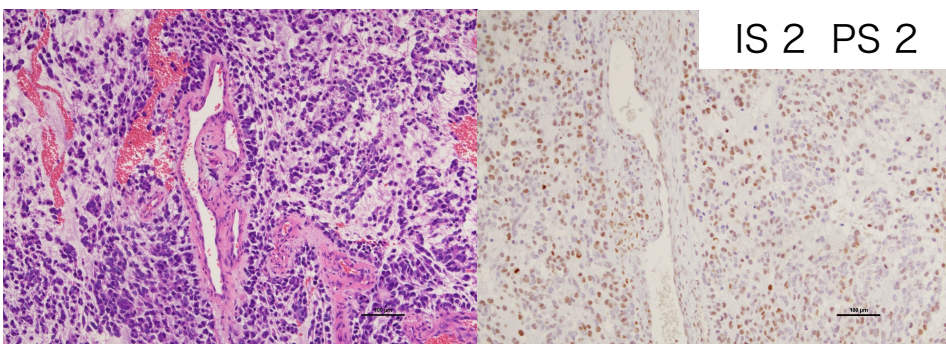
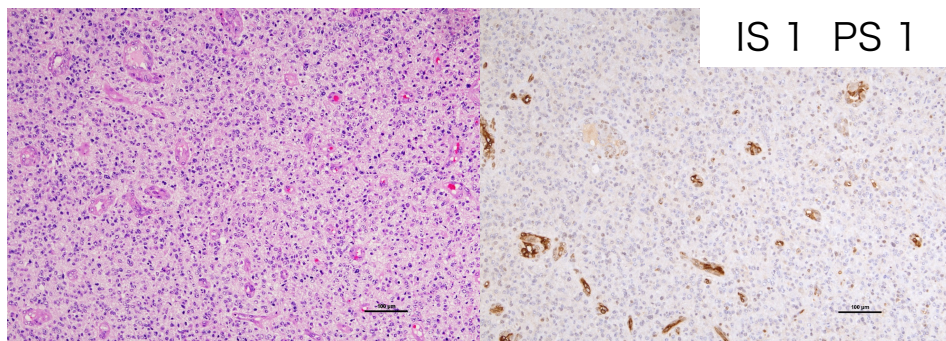
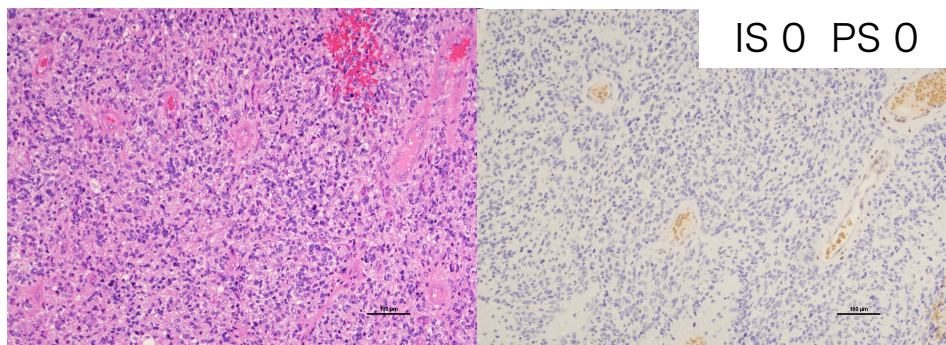


図 6 : GBM の病理標本と MGMT 発現パターン例

補足 4：多変量解析における多重共線性

生存時間解析や回帰分析において複数の変数を同時に解析に投入する多変量解析は、交絡因子と調整する解析方法として広く用いられている。ここで多変量解析に投入する説明変数間に強い相関があることは多重共線性と呼ばれ、多重共線性があると回帰係数の決定が不安定になり、解析結果や回帰モデルの予測精度に悪影響を及ぼす場合があることが知られている（Ellsworth et al, 2023）。

多重共線性の問題を回避する方法はいくつか提唱されているが、最も簡潔な方法は互いに強い相関のある説明変数の集合がある場合、それらを代表する変数を事前に選び、その代表的変数のみを解析に投入することである。放射線治療の領域において多重共線性が問題となる代表的なものは DVH パラメータであり、特に近い線量同士の評価指標は非常に強い相関がある場合が多い。このように投入する説明変数間に強い相関があることが予測される場合は、以下に示す図 7 のような相関係数行列を作成するなどして、事前に相関関係を評価しておくことが重要とされている（Ellsworth et al, 2023）。

V5	1											
V10	0.89	1										
V15	0.73	0.93	1									
V20	0.69	0.87	0.96	1								
V25	0.68	0.83	0.88	0.97	1							
V30	0.66	0.81	0.83	0.93	0.98	1						
V35	0.66	0.80	0.81	0.89	0.96	0.99	1					
V40	0.66	0.79	0.78	0.86	0.93	0.96	0.99	1				
V45	0.66	0.79	0.78	0.86	0.91	0.94	0.97	0.99	1			
V50	0.64	0.76	0.74	0.81	0.87	0.90	0.92	0.95	0.98	1		
V55	0.57	0.69	0.68	0.76	0.82	0.85	0.87	0.90	0.93	0.96	1	
V60	0.50	0.59	0.58	0.65	0.70	0.72	0.73	0.76	0.80	0.82	0.90	1
	V5	V10	V15	V20	V25	V30	V35	V40	V45	V50	V55	V60

図 7：脳の DVH パラメータの相関係数行列

結果

1. リンパ球減少

解析対象症例は 87 例であった。CRT 開始時点、nadir 時点、CRT 終了後 1 ヶ月時点でのリンパ球減少の Grade を表 4～6 に示す。Grade 0/1/2/3/4 であった症例数は、CRT 開始時点で各 34/51/2/0/0 例、nadir 時点で各 0/15/21/41/10 例、CRT 終了後 1 ヶ月時点で各 9/37/27/13/1 例であった。全 87 例のうち Baseline Lymphopenia (BL) は 53 例 (61 %)、Nadir Lymphopenia (NL) は 51 例 (59 %)、Prolonged Lymphopenia (PL) は 41 例 (47 %) で認められた。

表 4：CRT 開始時点でのリンパ球減少（全 87 例）（BL：Grade 1 以上）

Grade	症例数（割合 [%]）
Grade 0	34（39.1 %）
Grade 1	51（58.6 %）
Grade 2	2（2.3 %）
Grade 3	0（0.0 %）
Grade 4	0（0.0 %）

表 5：nadir 時点でのリンパ球減少（全 87 例）（NL：Grade 3 以上）

Grade	症例数（割合 [%]）
Grade 0	0（0.0 %）
Grade 1	15（17.2 %）
Grade 2	21（24.1 %）
Grade 3	41（47.1 %）
Grade 4	10（11.5 %）

表 6：CRT 終了後 1 ヶ月時点でのリンパ球減少（全 87 例）（PL：Grade 2 以上）

Grade	症例数（割合 [%]）
Grade 0	9（10.3 %）
Grade 1	37（42.5 %）
Grade 2	27（31.0 %）
Grade 3	13（14.9 %）
Grade 4	1（1.1 %）

2. 生存時間解析

OS、PFS と各時点でのリンパ球減少の有無に関する単変量解析の結果を表 7 と表 8 に示す。OS 中央値は、BL (+) - BL (-) の順に 20.8 vs. 25.2 ケ月 ($p = 0.498$)、NL (+) - NL (-) の順に 24.4 vs. 25.9 ケ月 ($p = 0.847$)、PL (+) - PL (-) の順に 20.8 vs. 27.9 ケ月 ($p = 0.522$) であった。PFS 中央値は、BL (+) - BL (-) の順に 10.1 vs. 16.9 ケ月 ($p = 0.060$)、NL (+) - NL (-) の順に 10.1 vs. 12.8 ケ月 ($p = 0.365$)、PL (+) - PL (-) の順に 8.0 vs. 15.4 ケ月 ($p = 0.003$) であった。それぞれの Kaplan-Meier 曲線は図 8 に示す。これらの結果から、PL 群は非 PL 群に比べて PFS が有意に短かったが、一方で OS では両群間に有意差は認められず、BL と NL のいずれも OS と PFS の有意な因子ではなかった。

表 7：各時点のリンパ球減少と OS

	OS 中央値	p 値
Baseline lymphopenia BL (+) - BL (-)	20.8 vs. 25.2 ケ月	0.498
Nadir lymphopenia NL (+) - NL (-)	24.4 vs. 25.9 ケ月	0.847
Prolonged lymphopenia PL (+) - PL (-)	20.8 vs. 27.9 ケ月	0.522

表 8：各時点のリンパ球減少と PFS

	PFS 中央値	p 値
Baseline lymphopenia BL (+) - BL (-)	10.1 vs. 16.9 ケ月	0.060
Nadir lymphopenia NL (+) - NL (-)	10.1 vs. 12.8 ケ月	0.365
Prolonged lymphopenia PL (+) - PL (-)	8.0 vs. 15.4 ケ月	0.003*

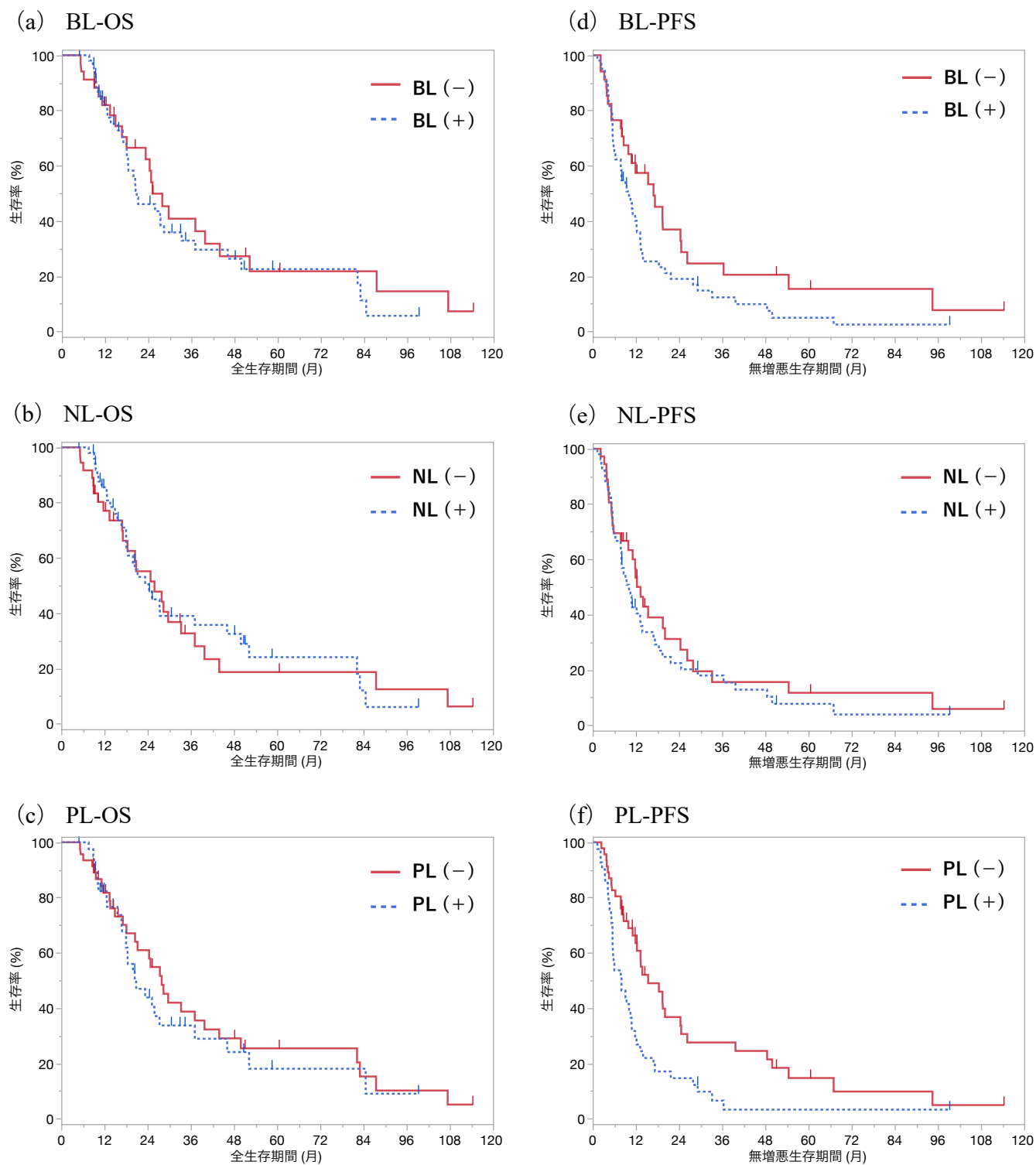


図 8 : 各タイミングのリンパ球減少と OS、PFS の Kaplan-Meier 曲線

(a) BL - OS (b) NL - OS (c) PL - OS
(d) BL - PFS (e) NL - PFS (f) PL - PFS

以下、詳細な解析結果は PL - PFS 間に関する内容のみ記載する。PFS に関する単変量解析および多変量解析の詳細は表 9 に示す。単変量解析では PL (+) ($p = 0.003$) の他、60 歳以上 ($p = 0.002$)、非 GTR ($p = 0.004$)、脳 V20 ($p = 0.004$) が有意な PFS 短縮因子であった。また PL (+) ($p = 0.040$) と 60 歳以上 ($p = 0.005$) は多変量解析でも有意な PFS 短縮因子であった。

全 87 症例の患者背景は表 10 に示す。なお MGMT 発現が評価可能であった 64 症例のうちメチル化ステータスが判明しているのは 3 例であった。また術前腫瘍サイズ指標の平均値は 1630 mm^2 、脳 V20 の平均値は 60.7%であった。

表 9：PFS に関する単変量解析および多変量解析

	単変量解析		多変量解析	
	ハザード比 (95% CI)	p 値	ハザード比 (95% CI)	p 値
Prolonged Lymphopenia PL (+) – PL (–)	2.017 (1.262–3.223)	0.003*	1.744 (1.026–2.975)	0.040*
性別 男性 – 女性	1.262 (0.790–2.015)	0.328	1.275 (0.763–2.129)	0.353
年齢 60 歳以上 – 未満	2.132 (1.312–3.464)	0.002*	2.109 (1.248–3.564)	0.005*
摘出度 非 GTR – GTR	2.036 (1.242–3.337)	0.004*	1.763 (0.982–3.165)	0.058
術前 KPS 90 %未満 – 以上	1.580 (0.980–2.546)	0.058	1.009 (0.586–1.737)	0.973
MGMT 発現 陽性 – 陰性 不明 – 陰性	1.440 (0.828–2.503) 0.901 (0.479–1.697)	0.209	1.104 (0.608–2.003) 0.998 (0.518–1.921)	0.929
術前腫瘍サイズ指標 10^3 mm^2 増加毎	0.928 (0.719–1.185)	0.558	0.979 (0.739–1.296)	0.883
脳 V20 1 %増加毎	1.023 (1.001–1.039)	0.004*	1.008 (0.990–1.027)	0.399

表 10：患者背景（全 87 例）

	症例数（割合 [%]）
性別	
男性	49（56 %）
女性	38（44 %）
年齢	
60 歳未満	39（45 %）
60 歳以上	48（55 %）
摘出度	
GTR	57（66 %）
非 GTR	30（34 %）
術前 KPS	
90%以上	37（43 %）
90%未満	50（57 %）
MGMT 発現	
陰性	26（30 %）
陽性	38（44 %）
不明	23（26 %）
Baseline Lymphopenia	
BL（+）	53（61 %）
BL（-）	34（39 %）
Nadir Lymphopenia	
NL（+）	51（59 %）
NL（-）	36（41 %）
Prolonged Lymphopenia	
NL（+）	41（47 %）
NL（-）	46（53 %）

考察

本章の解析対象症例において PL (Prolonged Lymphopenia)、すなわちリンパ球減少の中でも CRT 終了 1 ヶ月後時点で Grade 2 以上のリンパ球減少が遷延していることが有意な PFS 短縮因子であることが示唆された。先行研究では CRT 終了 1 ヶ月後時点で Grade 3 以上のリンパ球減少を認めた症例群で OS が有意に短いことが報告されており (Kim et al, 2019)、リンパ球減少のカットオフや評価のエンドポイントは異なるものの、類似した結果が得られている。また CRT 開始時点や nadir 時点でのリンパ球減少が予後不良因子であるという報告もある (Huang et al, 2015; Song et al, 2021)。がん免疫においてリンパ球は、腫瘍細胞を認識して攻撃を行うという役割を果たしており、また放射線治療および化学療法、手術などによる侵襲はリンパ球減少を引き起こすことが知られている (Velardi et al, 2021; Hogan et al, 2011)。GBM において CRT 後の維持療法に代表的な ICI である nivolumab を用いた第 3 相ランダム化比較試験 (Omuro et al, 2023; Lim et al, 2022) では従来の治療と比較して OS 延長は得られなかったが、ICI が GBM の腫瘍微小環境に影響を及ぼしていることが小規模の臨床試験ではあるが示唆されている (Cloughesy et al, 2019)。このような背景から、治療戦略においてがん免疫の温存を目的としたリンパ球減少の回避というアプローチは近年注目されており、重要であると考えられる。

また PL、脳 V20、摘出度が単変量解析で有意な PFS 短縮因子であった一方で、術前腫瘍サイズ指標が有意因子でなかった点も注目すべきである。その理由としては、術前腫瘍が小さかったとしても摘出に伴う機能障害が非常に大きいことが予想される位置に腫瘍が存在していた場合は亜全摘～生検にとどまる症例があるなど、必ずしも術前腫瘍と残存病変の体積が相関しないことが挙げられる。

リンパ球減少が一旦起こると、しばしば数カ月から数年にわたり続く可能性があることが知られている (Heier et al, 1975)。リンパ球減少が遷延する生物学的機序の一つとして、GBM に対する放射線治療が骨髄由来サプレッサー細胞 (myeloid-derived suppressor cells) を誘導することで、長期にわたるリンパ球減少を引き起こすことが示唆されている (Ghosh et al, 2023)。また臨床的には膵臓癌や食道癌に関する先行研究 (Lee et al, 2020; Tseng et al, 2023) において、リンパ球減少からの回復が予後と関連することが報告されている。これらの点から、CRT 開始時点や nadir 時点でのリンパ球減少の程度だけではなく、PL もがん免疫抑制のバイオマーカーとなりうることが示唆される。PL を回避してリンパ球を温存することは、中長期的な抗腫瘍効果を維持することが期待でき、本章の結果でも CRT 開始時点および nadir 時点におけるリンパ球減少と比較し

て CRT 終了 1 ヶ月後時点でのリンパ球減少がより支配的な予後因子であったことから、有望かつ合理的な治療戦略と言えるかもしれない。

しかしながら PL が再発と関連する生物学的メカニズムは依然として明確でない部分もあり、さらなる知見が必要である。また BL - PFS 間の p 値は 0.06 であり有意水準に近く、BL が PFS と相関している可能性は否定できないことに注意すべきである。PL が予後因子であれば、PL の有無は CRT 終了後に評価されるため、放射線治療の方法を変えることで PL を回避することが可能かもしれない。しかしながら PL が予後因子ではなく BL のみが真の予後因子であった場合、BL の有無は CRT 開始前にすでに決定しているため、BL の回避を可能とするのは CRT 開始前の介入のみであり、放射線治療の方法を変えても BL を回避することは時系列より不可能である。つまり PL と BL のどちらが真の予後因子であるかによって治療アプローチは変わることになるが、どちらが真の因子であるかを判断することは困難であり、両方とも予後因子である可能性もある。また年齢と GTR も予後に関連しており、他にも未知の因子が存在する可能性がある。従って PL は唯一の予後因子ではなく、あくまでも予後因子の一つに過ぎないと考えべきである。

その他、本章の結果の解釈において、後ろ向き観察であり症例数が少ないという制約がある点には注意する必要がある。実際、PL の有無について PFS では有意差が見られた一方で OS では有意差は認められず、BL や NL も有意な予後因子でなかったため、それらの点で先行研究の結果は再現されなかった。これは第一にサンプル数が限られており、統計的検出力が低かったことに起因すると考えられる。さらに CRT 終了日から 8 週時点の予後が不明である症例、必要な採血データに欠損がある症例を解析から除外していることから、ホスピスなどへ転院して観察が CRT 終了時点で打ち切りとなるような症例は除外されることとなるが、このような症例群は解析から除外されなかった症例と比べて最も早期に再発および死亡イベントが起こるような最重症例が含まれている可能性が高いことが推測される。そして重症例でリンパ球減少が起こっているという仮説が正しいとすれば、最重症例が解析から除外されることで、リンパ球減少を有する群で生存期間が過大に長く評価されている可能性がある。これらの問題点について、症例数を増やして前向き観察研究を行うことができれば統計的検出力の向上、早期の再発および死亡イベントやリンパ球減少に関するデータ収集率の向上が期待でき、先行研究と同様な結果が再現される可能性があると考えられる。

また MGMT 発現の評価について、全症例では発現を評価できていないことや、理想的には MGMT プロモーター領域のメチル化ステータスを評価すべき

であるものの、費用と装置の制約からメチル化ステータスを評価できた患者は少数であったことも留意すべきである。

第3章

遷延性リンパ球減少の予測モデルの構築、 およびモデルを活用した新規放射線治療計画の検討

緒言

第2章の結果から、リンパ球減少の中でも PL (Prolonged Lymphopenia)、すなわち CRT 終了1ヶ月後時点で遷延しているリンパ球減少が PFS 短縮因子であることが示唆され、遷延性リンパ球減少 (PL) を回避してリンパ球を温存することが予後改善のアプローチの一つとして考えられる。

PL を回避するためには、そのリスク因子の把握が重要である。先行研究では、CRT 中のリンパ球減少は循環血液が放射線照射を受けることで引き起こされることが示唆されており、脳の DVH パラメータや PTV の体積がリンパ球減少と関連していると報告されている。一方でリンパ球減少は性別や年齢など患者背景とも関連しているという報告もあり、放射線治療がリンパ球減少に対してどの程度寄与しているか、その定量的評価については知見に乏しい。しかしながらリンパ球減少に注目して新たな治療アプローチを開発するにあたり、具体的な評価指標があることが望ましい。

本章では PL のリスク因子を解析して、PL の発生リスクを予測する数理モデルを構築した。さらに予測モデルを活用することで放射線治療パラメータの改善が PL の発生リスクにどの程度寄与するか定量的な評価を試み、免疫機能への影響、特にリンパ球の温存を考慮した放射線治療計画法について考察、検討した。

方法

1. 対象および治療内容

対象は第2章の方法「1. 対象」、治療内容は第1章の方法「2. 放射線治療および併用療法」で述べた内容と同一とする。

臨床研究の承認については、第1章に記載した内容と同一である。

2. 遷延性リンパ球減少のリスク因子解析およびリスク予測モデル構築

遷延性リンパ球減少 (PL) のリスク因子探索について、患者因子、DVHパラメータについて PL の有無による群間差を調べ、Fisher の正確検定または Welch の t 検定を行い解析した。これらに加えて、PL に影響する可能性のある TMZ の途中休止の有無についても同様に解析対象とした。また PL と BL および NL との関連も Fisher の正確検定を用いて評価した。PL リスクを予測するためのモデリングでは、年齢、摘出度、術前 KPS、性別、術前腫瘍サイズ指標、脳 V20 を変数の候補として選択し Elastic Net を用いた正則化により多変量ロジスティック回帰モデルを構築し、leave-one-out 法による内的検証を通してモデルの予測性能を評価した。モデルの予測性能は受信者動作特性 (receiver operating characteristic : ROC) 曲線の曲線下面積 (area under the curve ; AUC) による評価を行った。モデル構築および評価については補足 5 で述べる。

第1章、第2章と同様に有意水準は p 値 < 0.05 とした。統計解析ソフトは JMP pro 17.2.0 (JMP Statistical Discovery LLC, Cary NC USA) を使用した。

補足 5 : 多変量回帰モデル構築の詳細

ある事象が起こるリスクを予測するにあたり、様々な手法で数理モデルの構築が行われる。リンパ球減少をはじめとする有害事象は複数の因子が関与していると考えられ、そのような事象の予測には多変量回帰の手法がよく用いられる。特に目的とする事象が 0 か 1 で表されるカテゴリカル変数であるときは、予測リスクが以下で示すようなロジスティック関数に従うことを仮定するモデルがよく用いられる。なお一般的には説明変数ごとに予測リスクへの寄与度は異なり、各変数に回帰係数を乗じることで重み付けが表現される。

式 1 : ロジスティック関数による回帰

$$y = \frac{1}{1 + \exp(k_1 x_1 + k_2 x_2 + \dots)}$$

$\exp(x) = e^x$ y ; 目的変数の予測リスク $x_1, x_2 \dots$; 説明変数 $k_1, k_2 \dots$; 回帰係数

予測モデルはモデル構築に用いたデータ（学習用データセット）と得られる予測値との差の平方和により表される誤差関数を最小化するように回帰係数を調整することで構築される。ただし説明変数が多ければ多いほど精密な予測モデルが構築できるとは限らない。説明変数を増やすとモデルが複雑になり、学習データに対しては完全に適合しても未知のデータに対する予測精度が低下することがある。これは過学習（overfitting）と呼ばれ、予測モデル構築において回避すべき問題である。過学習の回避にはいくつか方法があり、第2章で述べたように強い相関が予想される類似した変数がある場合に、事前に投入する変数を代表的なものに限定しておくという方法が最も簡潔である。本章でもモデリングに投入する変数は背景因子や放射線治療パラメータを代表するものに限定している。他には正則化という手法が用いられ、具体的にはモデルが複雑化することに対してペナルティを与えるような項（正則化項）を誤差関数に組み込むことで過剰な複雑化が抑制され、正則化を通して回帰係数などの調整と変数の取捨選択が同時に行われることとなる。正則化の手法として、本解析ではElastic Netを用いた（Zou & Hastie, 2005）。

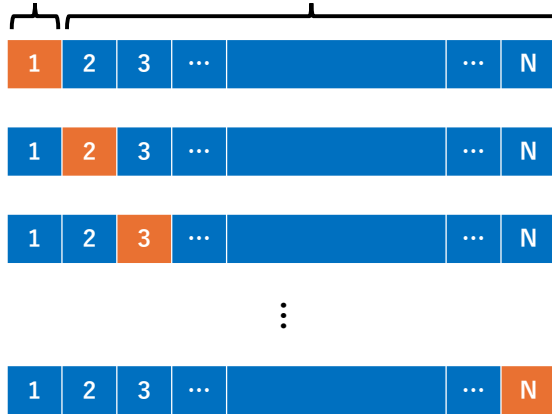
一方で上記の手法を用いてモデリングを行ったとしても、構築したモデルが母集団全体にどの程度適合するのか、モデルの性能や妥当性は評価されるべきであり、そのためには検証（validation）と呼ばれる工程を行うことが望ましい。本解析では症例数が少ないため、leave-one-out法という手法を用いてモデルの検証を行った。全症例（症例数を N とする）のうち1症例（症例 m とする）を検証用データとして取り出しておき、まずはその他の症例（ $N-1$ 例）を学習用データとしてモデル学習を行い、学習されたモデルを用いて症例 i の目的変数の予測リスク（式1における y ）を評価する。この操作を $i=1$ から $i=N$ まで症例数の分だけ行い、各々の予測リスクを評価し、それらと実際の事象発生の有無から最終的なROCやAUCなどのモデル性能を評価する。Leave-one-out法による検証の概念は図9で補足する。

構築したモデルの予測性能について、感度を縦軸、[1 - 特異度]を横軸にとって各データをプロットすることで受信者動作特性（ROC）曲線を得て、その曲線下面積（AUC）を性能の評価指標とする方法が広く用いられている。図10に例を示すが、AUCは0以上1以下の値をとり、AUCが1に近いほど予測性能が高いとされる。なおAUCが0.5未満となる場合、目的とする事象の判定を逆にすればAUCは0.5以上となるので、実質的にAUCは0.5以上1以下の範囲の値で評価される。

モデルAの性能評価 (検証)

テストデータ (橙)

学習用データ (青)



モデル A_1
データ1以外を用いて構築
→データ1の予測

モデル A_2
データ2以外を用いて構築
→データ2の予測

モデル A_N
データN以外を用いて構築
→データNの予測

それぞれモデルA
と同じ方法で構築

→ N個の予測値と真の値を照合し、モデルAの予測性能 (ROC, AUC等)を評価

図 9 : leave-one-out 法による検証の概念

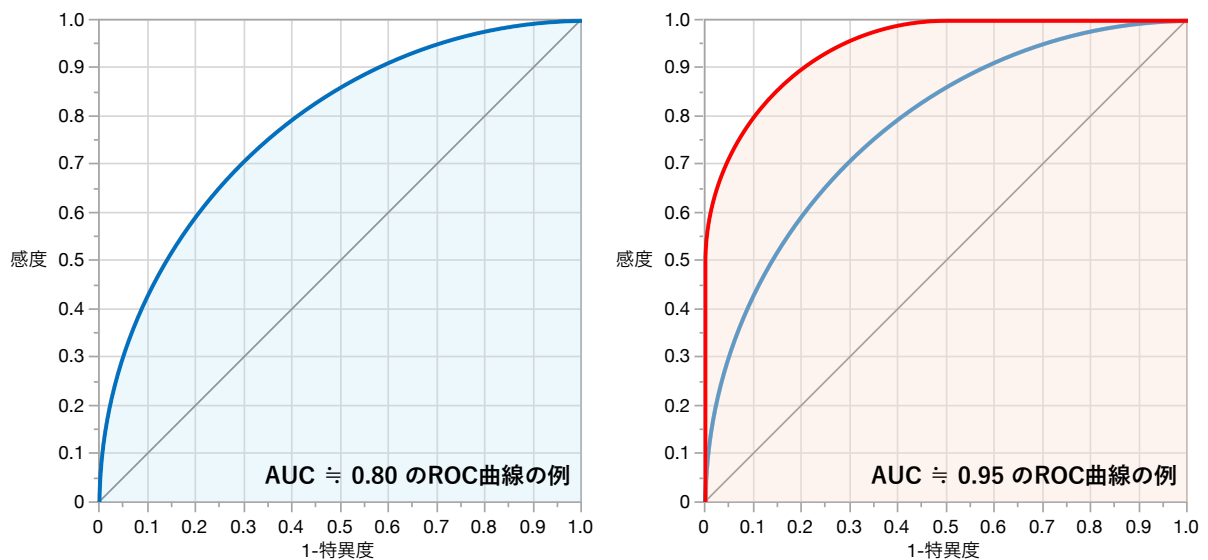


図 10 : ROC 曲線と AUC の例 (右図の赤い ROC 曲線の方が AUC 高値)

結果

1. 遷延性リンパ球減少のリスク因子解析

PL (+)、PL (-) の各群について、背景因子および BL、NL の有無を比較した解析結果を表 11 に示す。非 GTR ($p = 0.042$)、術前 KPS 90 %未満 ($p = 0.009$) および脳 V20 高値 ($p = 0.004$) が PL の有意なリスク因子として同定された。さらに BL ($p < 0.001$)、NL ($p < 0.001$) にも PL との強い相関が認められた。一方で年齢、性別、MGMT 発現、術前腫瘍サイズ、同時併用 TMZ 休止の有無については PL の有無による有意差は認められなかった。

表 11 : PL の有無と背景因子、BL および NL (次ページに続く)

	計 87 症例	PL (+) 41 症例	PL (-) 46 症例	p 値
性別 †				0.394
男性	n = 49	n = 21	n = 28	
女性	n = 38	n = 20	n = 18	
年齢 †				0.084
60 歳未満	n = 39	n = 14	n = 25	
60 歳以上	n = 48	n = 27	n = 21	
摘出度 †				0.042*
GTR	n = 57	n = 22	n = 35	
非 GTR	n = 30	n = 19	n = 11	
術前 KPS †				0.009*
90 %以上	n = 37	n = 11	n = 26	
90 %未満	n = 50	n = 30	n = 20	
MGMT 発現 †				0.629
陰性	n = 26	n = 12	n = 14	
陽性	n = 38	n = 20	n = 18	
不明	n = 23	n = 9	n = 14	
術前腫瘍サイズ指標 ‡				0.646
(平均値)	1630 [mm ²]	1583 [mm ²]	1683 [mm ²]	
脳 V20 ‡				0.004*
(平均値)	60.7 [%]	65.7 [%]	56.2 [%]	

同時併用 TMZ †				0.749
休薬 (-)	n = 76	n = 35	n = 41	
休薬 (+)	n = 11	n = 6	n = 5	
Baseline Lymphopenia †				< 0.001*
BL (+)	n = 53	n = 34	n = 19	
BL (-)	n = 34	n = 7	n = 27	
Nadir Lymphopenia †				< 0.001*
NL (+)	n = 51	n = 33	n = 18	
NL (-)	n = 36	n = 8	n = 28	

† Fisher の正確検定による、‡ Welch の t 検定による

なお CRT 後の維持 TMZ は 51 例で 6 コース以上投与され、19 例で 6 コース前に再発により中止され、17 例で 6 コース前に有害事象により中止された。しかし PL の判断に用いられた採血データは全例で維持 TMZ を開始する前のものであったため、維持 TMZ の中止の有無は PL のリスク因子解析の変数には含まなかった。また同時併用、維持療法ともにリンパ球減少に起因した TMZ の休薬、中止は見られなかった。

2. 遷延性リンパ球減少の予測モデル

続いて遷延性リンパ球減少の予測モデル構築を行ったところ、PL すなわち遷延性リンパ球減少リスクの予測式は式 2 に表される通り脳 V20、性別、年齢、摘出度、術前 KPS の 5 つの変数を用いて表され、術前腫瘍サイズは予測モデルの変数から除外された。表 12 には各変数のオッズ比およびその値を示す。ROC 曲線は図 11 に表す通りで、AUC 値は 0.773 であった。

式 2 : PL リスクの予測式

Predicted PL Risk

$$= \frac{1}{1 + \exp(2.63 - 0.032 \times \text{脳 V20}[\%] - 0.390 \times k_{\text{Sex}} - 0.464 \times k_{\text{Age}} - 0.601 \times k_{\text{GTR}} - 0.782 \times k_{\text{KPS}})}$$

$$\left(k_{\text{Sex}} = \begin{cases} 0 & (\text{男性}) \\ 1 & (\text{女性}) \end{cases} \quad k_{\text{Age}} = \begin{cases} 0 & (60 \text{ 歳未満}) \\ 1 & (60 \text{ 歳以上}) \end{cases} \quad k_{\text{GTR}} = \begin{cases} 0 & (\text{GTR}) \\ 1 & (\text{非 GTR}) \end{cases} \quad k_{\text{KPS}} = \begin{cases} 0 & (\text{術前 KPS 90\%以上}) \\ 1 & (\text{術前 KPS 90\%未満}) \end{cases} \right)$$

表 12：PL の予測モデルにおいて選択された変数およびオッズ比、p 値

	オッズ比 (95% CI)	p 値
脳 V20 1 %増加毎	1.032 (1.002–1.063)	0.036*
性別 男性 – 女性	0.677 (0.271–1.695)	0.405
年齢 60 歳以上 – 未満	1.591 (0.642–3.944)	0.316
摘出度 非 GTR – GTR	1.824 (0.703–4.733)	0.105
術前 KPS 90 %未満 – 以上	2.185 (0.850–5.623)	0.212
術前腫瘍サイズ指標 10 ³ mm ² 増加毎	変数から除外	-

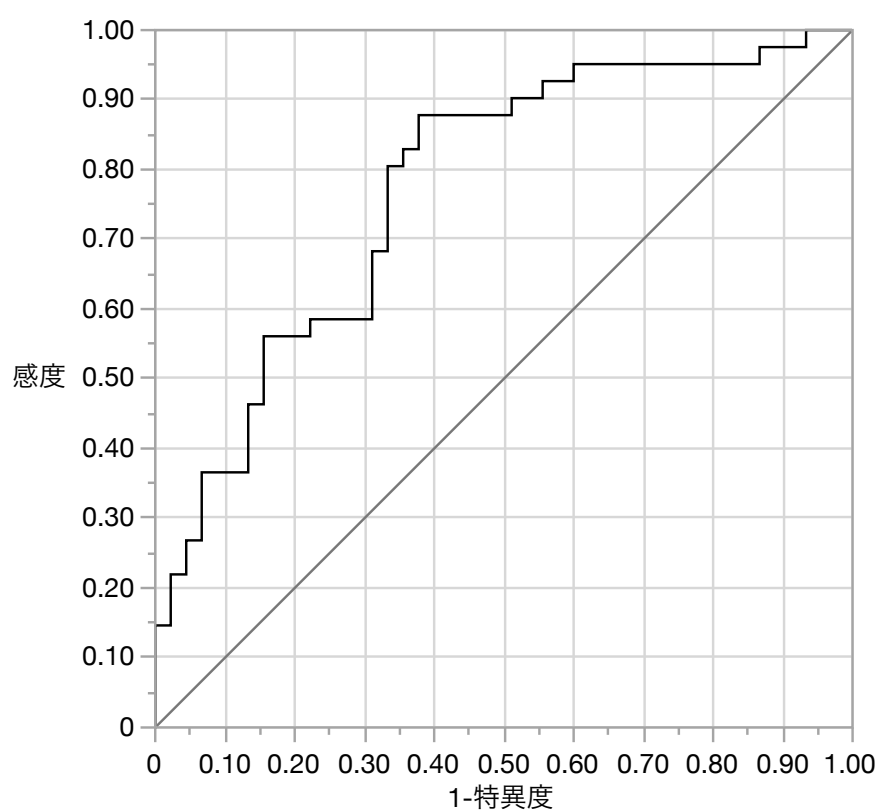


図 11：予測モデルの ROC 曲線 (AUC 値 0.773)

考察

本章の解析結果において、摘出度や術前 KPS に加えて脳 V20 が遷延性リンパ球減少 (PL) の有意なリスク因子であることが判明し、脳 V20 は構築された PL リスクの予測モデルにおいても有意なリスク上昇因子であった。これより放射線治療において脳 V20 を含む DVH パラメータを下げることで PL リスクも低下し、中長期的な腫瘍制御が向上する可能性が示唆された。本章では考察の内容が多岐にわたるため、以下 5 つのセクションに分けて考察を示す。

1. PL の発症リスクおよび機序について

先行研究では脳 V20 を含む脳の DVH パラメータや PTV 体積が GBM においてリンパ球減少と関連し (Huang et al, 2015)、CRT 時のリンパ球減少は循環血液の放射線照射によって引き起こされることが示唆されており (Yovino et al, 2013)、本研究でも脳 V20 は PL と関連する重要な変数であった。一方で術前腫瘍サイズは PL の発症および PL リスクの予測モデルに対して有意に寄与しなかった。脳 V20 を含む DVH パラメータは術前腫瘍サイズと正の相関を示すことが多いが、DVH パラメータは標的体積のみではなく病変の位置、病変周囲の FLAIR high 領域の範囲、放射線治療計画法や用いる放射線の種類といった因子にも影響される。もしリンパ球減少が腫瘍サイズの大小ではなく循環血液の放射線照射に起因するのであれば、DVH パラメータは術前腫瘍サイズよりもリンパ球減少の予測に大きく影響するはずである。実際に本研究で脳 V20 は術前腫瘍サイズよりも支配的な PL リスク因子であり、これはリンパ球減少が循環血液の照射によって引き起こされるという仮説を支持するものであった。

2. PL 予測モデルの活用例：IMRT による PL 予測リスクの低減効果について

続いて本研究で構築した予測モデルを活用することで放射線治療パラメータの改善が PL の発生リスクにどの程度寄与するか定量的な評価を試み、免疫機能への影響、特にリンパ球の温存を考慮した放射線治療計画法について考察および検討を行う。ここでは本モデルの実用例として、他の背景因子が均一であると仮定して、IMRT と 3D-CRT の PL 予測リスクを比較した。表 13 は、いくつかの計画研究 (Tanabe et al, 2019; Lorentini et al, 2013; Back et al, 2013) について、脳 V20 の平均値または中央値、および IMRT と 3D-CRT のサブグループ間の PL 予測リスクの差 (Δ Risk) を示している。各研究では同一患者に対して 3D-CRT と IMRT を用い、60 Gy / 30 分割での放射線治療計画シミュレーションが行われた。研究によってマージン設定にばらつきがあるものの、IMRT は一貫して 3D-CRT と比較して脳 V20 が低く、これを本モデルに代入すると、

IMRT を用いた V20 の低減は約 5.90～10.53% の PL リスク減少に相当した。本考察はあくまでもナラティブレビューによるものではあるが、治療アプローチの違いによる放射線治療パラメータの差が PL リスクにどのように影響するかを定量的に評価することができた。なお本研究では脳 V20 の平均値は IMRT 群 (n = 19) で 52.3%、3D-CRT 群 (n = 68) で 63.0% であり、有意に IMRT 群で低値があり (p = 0.009)、IMRT による線量低減が期待されることを示している。しかし同一患者について計画比較が行われていないため、本研究では ΔRisk の値は評価しなかった。

表 13 : IMRT/3D-CRT での脳 V20、各計画法での予測 PL リスク差の例

	Tanabe et al. (2019)	Lolentini et al. (2013)	Back et al. (2013)	参考：本研究 (2024)
症例数	20	17	10	87 うち IMRT 19 3D-CRT 68
標的設定	CTV1: 残存腫瘍 + 摘出腔 + FLAIR/T2 high* + 15 mm CTV2: 残存腫瘍 + 摘出腔 + 15 mm PTV: 各 CTV + 3 mm	CTV**: 残存腫瘍 + 摘出腔 + 20 mm PTV: CTV + 5 mm	CTV**: 残存腫瘍 + 摘出腔 + 15 mm PTV: CTV + 5 mm	CTV1: 残存腫瘍 + 摘出腔 + FLAIR/T2 high* + 15 mm CTV2: 残存腫瘍 + 摘出腔 + 15 mm PTV: 各 CTV + 3 mm
脳 V20 (IMRT)	平均値：記載なし 中央値：63.7 % 範囲：36.2 - 87.1 %	平均値：36.6 % 中央値：記載なし 範囲：記載なし	平均値：47.3% 中央値：記載なし 範囲：31.3 - 70.2 %	平均値：52.3 % 中央値：54.3 % 範囲：27.9 - 84.1 %
脳 V20 (3D-CRT)	平均値：記載なし 中央値：74.6 % 範囲：45.9 - 96.0 %	平均値：50.9 % 中央値：記載なし 範囲：記載なし	平均値：55.3% 中央値：記載なし 範囲：39.6 - 75.9 %	平均値：63.0 % 中央値：62.3 % 範囲：25.1 - 90.6 %
ΔRisk [%]**	7.31 %	10.53 %	5.90%	評価なし

* FLAIR/T2 high : FLAIR 画像または T2 強調像での高信号領域

** 途中で標的を変更せず、すべて同一の CTV/PTV 設定で照射

*** ΔRisk [%] = [3D-CRT 群の PL リスク予測値] - [IMRT 群の PL リスク予測値]

3. 免疫機能への影響を考慮した GBM の新規放射線治療計画法について

前セクションでの考察において、IMRT を利用することにより脳 V20 の低減が期待でき、予測 PL リスクも低下する可能性が示唆された。ここで、IMRT 以外にも脳への線量を減らすアプローチはいくつかあり、まず陽子線治療

(PBT) について考察する。PBT と IMRT を比較した前向きランダム化比較試験 (Mohan et al, 2021) では、PBT と IMRT の脳 V20 平均値はそれぞれ 37.4 % と 53.6 % であった。このことは PBT が PL 発症リスクを低下させる可能性を示唆している。構築したモデルによる考察も含めて、IMRT や PBT など高精度放射線治療による DVH パラメータの改善は遷延性リンパ球減少の発症リスクを下げる事が予測され、ひいては GBM の予後改善へのアプローチの一つとなりうると考える。

またリンパ球減少に関する記載はないものの、本邦の後ろ向き研究では PBT により 96.6 Gy まで線量増加が行われた症例群が通常 CRT 群 (60 Gy) よりも OS が良好であったという報告 (Matsuda et al, 2023) もある。あくまで仮説ではあるが、通常の X 線治療では線量増加によりリンパ球減少が重度になりうるので、線量増加による治療強度の向上がリンパ球減少による腫瘍制御の低下により打ち消される可能性が考えられる。この仮説が正しいとすれば、第 1 章で述べた第 3 相ランダム化比較試験 (Chang et al, 1983; Souhami et al, 2004) で生存期間の延長が得られなかったのは現代の高精度放射線治療よりは精度の劣る 2 次元放射線治療や 3D-CRT といった X 線治療を用いていたことが原因の一つと言えるかもしれない。一方で IMRT や PBT ではより効率的にリンパ球を温存でき、線量増加による恩恵を受けられる可能性がある。線量増加による脳壊死など晩期有害事象の問題は残るものの、高精度放射線治療が可能となった現代においてはリンパ球を温存しつつ線量増加を行うというアプローチも検討に値すると考えられる。

また病変からの標的マージンを狭くして照射範囲を小さくしたり (limited field 照射)、照射の 1 回線量を増やして分割回数を減らしたり (寡分割照射) することでも、照射の影響を受ける循環血液量は減少すると想定されている (Yovino et al, 2013)。通常照射と limited field 照射を比較した先行研究 (Rudra et al, 2018) では、limited field 照射での OS の非劣性とリンパ球減少率の低下が示されている。寡分割照射 (25 分割で 58.5 Gy/ 25 分割、1 回線量 2.34 Gy) と通常分割照射 (60 Gy/ 30 分割、1 回線量 2 Gy) を比較した研究 (Kim et al, 2023) では、寡分割照射を受けた患者群でリンパ球減少症の重症度が低かったと報告されている。リンパ球を温存するためには照射技術の向上のみでなく標的設定や線量分割の最適化を行うことが望ましいが、limited field 照射は病変周囲の微小な浸潤病変が十分にカバーされなくなる可能性があり、寡分割照射は

正常組織への生物学的実効線量が高くなる傾向があり有害事象を増加させる可能性があることに注意すべきである。

4. リンパ球温存が放射線治療以外に与える恩恵について

ここでリンパ球温存が放射線治療による直接的な腫瘍制御以外に及ぼしうる効果についても検討する。第2章の考察で示した通り ICI の追加による生存期間延長は GBM では証明されていないが、その原因として ICI 自体が無効である可能性の他に、ICI によるがん免疫の賦活化で得られる恩恵がリンパ球減少によって打ち消されている可能性も考えられる。GBM では ICI とリンパ球減少の関連についての報告はないが、肺癌では ICI 投与を受けた患者においてリンパ球減少が OS や PFS の短縮と関係していたというメタアナリシスの結果がある (Zhang et al, 2023)。リンパ球減少自体が治療成績の悪化に直接影響を及ぼしている可能性もあるので、ただちにリンパ球減少により ICI の効果が減弱していると結論づけることはできないが、がん免疫を担うリンパ球の温存を重視した放射線治療が行われるようになれば ICI の効果を高め、間接的にも治療成績を向上させることができるかもしれない。

5. 本章での研究の制約、limitation について

本章の内容の limitation として、当院で GBM に対する IMRT が本格的に導入されたのは 2021 年以降であり、リンパ球をより有効に温存できることが期待される IMRT 群の観察期間が 3D-CRT 群に比べて短かったことには留意すべきである。また解析対象症例は全員 TMZ による治療を受けており、治療レジメンはほぼ均一であるため、薬物療法による影響は PL (+) 群と PL (-) 群で同等であると考えられるが、PL が放射線治療と TMZ のどちらに起因するのかを厳密に区別することはできない。サンプル数が少ないためモデル検証において学習用データと検証用データを完全に独立させることはできず、また別の時期や別の施設のデータを用いた外的検証 (external validation) による妥当性評価も行えておらず、最低限行われることが望ましい内的検証 (internal validation) にとどまっていることも制約の一つである。また 60 Gy/ 30 分割の通常 CRT の症例のみでモデル構築を行っているので、TMZ 非使用例、陽子線治療や別の線量分割などを用いた症例にモデルの適用範囲を広げるためには、それらの治療を行った症例を学習用データとして取り入れる必要がある。

結果

1. 本研究全体から得られた新知見

- ・遷延性リンパ球減少 (PL)、すなわちリンパ球減少の中でも CRT 終了 1 ヶ月後時点で **Grade 2** 以上のリンパ球減少が遷延していることが有意な PFS 短縮因子であった。
- ・脳 V20 は PL の有意なリスク因子であることが判明し、脳 V20 は構築された PL リスクの予測モデルにおいても有意なリスク上昇因子であった。
- ・文献考察および構築したモデルの活用により、IMRT による脳 V20 を含めた DVH パラメータの改善が PL リスクの低減につながる可能性が示唆された。

2. 新知見の意義

これまで放射線誘発性リンパ球減少は記録した最低値で評価されることが多く、そのカットオフは **Grade 3** 以上とされていたが、本研究では CRT 終了後 1 ヶ月の時点の、より軽度な **Grade 2** 以上のリンパ球減少 (PL) であっても PFS を短縮させ、回避すべき有害事象であることを示唆している。

IMRT など高精度放射線治療による DVH パラメータの改善は PL の発症リスクを下げることで予測されるため、GBM の予後改善へのアプローチの一つとなりうると考える。また免疫療法が注目される近年において、リンパ球温存を念頭に置いた放射線治療という視点を提供する知見であると考えられる。

3. 今後の展開

粒子線治療や寡分割照射、**limited field** など IMRT 以外のアプローチで治療が行われた症例でも同様の検討を行ってモデルを拡張することで、次世代の治療アプローチをがん免疫の観点から定量的に評価していくことが展望として挙げられる。

また有効なリンパ球温存放射線治療が可能となった際には、高精度放射線治療による線量増加や ICI を含む薬物療法の上乗せ効果について臨床試験で再評価することも検討に値すると考えられる。

4. 今後の課題

モデルの実用化を目指すにあたり、症例蓄積や外的検証による妥当性や予測精度の向上が望まれる。またリンパ球減少の最適な評価タイミングについても引き続き模索すべきであり、ALC の経時的変化をより詳細に評価することが必要である。

謝辞

本研究全体において、ご指導を賜りました北海道大学大学院医学研究院 放射線治療学教室 青山英史教授に深く感謝を申し上げます。

ならびに、本研究の実施および本論文の作成においてご協力・ご指導を賜りました北海道大学大学院医学研究院 医理工学グローバルセンター 西岡健太郎助教、北海道大学病院 放射線部 森崇助教、数理モデル作成においてご協力を賜りました北海道大学大学院医学研究院 医理工学グローバルセンター 小橋啓司講師、臨床症例の集積においてご協力を賜りました北海道大学大学院医学研究院 脳神経外科 伊師雪友助教、北海道大学大学院医学研究院 脳神経外科 山口秀講師、統計解析においてご協力を賜りました北海道大学病院 医療・ヘルスサイエンス研究開発機構 データサイエンスセンター 伊藤 陽一教授、病理学的解析においてご協力を賜りました北海道大学病院 病理部/病理診断科 岡田 宏美助教、北海道大学病院 病理診断科 種井 善一講師、北海道大学大学院医学研究院・医学院 腫瘍病理学教室 田中 伸哉教授に深く感謝を申し上げます。

利益相反

本研究に関して、開示すべき利益相反状態はない。

引用文献

Back M, Clifford S, Wheeler H and Eade T (2013) Dosimetric Improvements Utilising Intensity Modulated Radiation Therapy for Patients with Glioblastoma Multiforme. *J Cancer Ther* 04, 18–24.

Chang CH, Horton J, Schoenfeld D, Salazer O, Perez-Tamayo R, Kramer S, Weinstein A, Nelson JS and Tsukada Y (1983) Comparison of postoperative radiotherapy and combined postoperative radiotherapy and chemotherapy in the multidisciplinary management of malignant gliomas. A joint radiation therapy oncology group and eastern cooperative oncology group study. *Cancer* 52, 997–1007.

Cloughesy TF, Mochizuki AY, Orpilla JR, Hugo W, Lee AH, Davidson TB, Wang AC, Ellingson BM, Rytlewski JA, Sanders CM, et al (2019) Neoadjuvant anti-PD-1 immunotherapy promotes a survival benefit with intratumoral and systemic immune responses in recurrent glioblastoma. *Nat Med* 25, 477–486.

Ellsworth SG, van Rossum PSN, Mohan R, Lin SH, Grassberger C and Hobbs B (2023) Declarations of Independence: How Embedded Multicollinearity Errors Affect Dosimetric and Other Complex Analyses in Radiation Oncology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 117, 1054–1062.

Ghosh S, Huang J, Inkman M, Zhang J, Thotala S, Tikhonova E, Mihecheva N, Frenkel F, Ataullakhanov R, Wang X, et al (2023) Radiation-induced circulating myeloid-derived suppressor cells induce systemic lymphopenia after chemoradiotherapy in patients with glioblastoma. *Sci Transl Med* 15, eabn6758.

Gutenberg A, Lumenta CB, Braunsdorf WEK, Sabel M, Mehdorn HM, Westphal M and Giese A (2013) The combination of carmustine wafers and temozolomide for the treatment of malignant gliomas. A comprehensive review of the rationale and clinical experience. *J Neurooncol* 113, 163–174.

Heier HE, Christensen I, Froland SS and Engeset A (1975) Early and Late Effects of Irradiation for Seminoma Testis on the Number of Blood Lymphocytes and their B and T Subpopulations. *Lymphology* 8, 69-74.

Hogan B V., Peter MB, Shenoy HG, Horgan K and Hughes TA (2011) Surgery induced immunosuppression. *Surgeon* 9, 38–43.

Huang J, Dewees TA, Badiyan SN, Speirs CK, Mullen DF, Fergus S, Tran DD, Linette G, Campian JL, Chicoine MR, et al (2015) Clinical and Dosimetric Predictors of Acute Severe Lymphopenia during Radiation Therapy and Concurrent Temozolomide for High-Grade Glioma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 92, 1000–1007.

Johansen ML, Stetson LC, Vadmal V, Waite K, Berens ME, Connor JR, Lathia, J, Rubin JB and Barnholtz-Sloan JS (2021) Gliomas display distinct sex-based differential methylation patterns based on molecular subtype. *Neurooncol Adv* 2, 1–12.

Kim N, Lim DH, Choi JW, Lee J Il, Kong DS, Seol HJ and Nam DH (2023) Clinical Outcomes of Moderately Hypofractionated Concurrent Chemoradiotherapy for Newly Diagnosed Glioblastoma. *Yonsei Med J* 64, 94–103.

Kim WJ, Dho YS, Ock CY, Kim JW, Choi SH, Lee ST, Kim IH, Kim TM and Park CK (2019) Clinical observation of lymphopenia in patients with newly diagnosed glioblastoma. *J Neurooncol* 143, 321–328.

Lee BM, Byun HK and Seong J (2020) Significance of lymphocyte recovery from treatment-related lymphopenia in locally advanced pancreatic cancer. *Radiotherapy and Oncology* 151, 82–87.

Lee J, Nicosia M, Hong ES, Silver DJ, Li C, Bayik D, Watson DC, Lauko A, Kay KE, Wang SZ, et al (2023) Sex-Biased T-cell Exhaustion Drives Differential Immune Responses in Glioblastoma. *Cancer Discov* 13, 2090–2105.

Lim M, Weller M, Idhah A, Steinbach J, Finocchiaro G, Raval RR, Ansstas G, Baehring J, Taylor JW, Honnorat J, et al (2022) Phase III trial of chemoradiotherapy with temozolomide plus nivolumab or placebo for newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter. *Neuro Oncol* 24,1935–1949.

Lorentini S, Amelio D, Giri MG, Fellin F, Meliador G, Rizzotti A, Amichetti M and Schwarz M (2013) IMRT or 3D-CRT in glioblastoma? A dosimetric criterion for patient selection. *Technol Cancer Res Treat* 12, 411–420.

- Majchrzak-Celińska A, Dybska E and Barciszewska AM (2020) DNA methylation analysis with methylation-sensitive high-resolution melting (MS-HRM) reveals gene panel for glioma characteristics. *CNS Neurosci Ther* 26, 1303–1314.
- Matiello J, Dal Pra A, Zardo L, Silva R and Berton DC (2020) Impacts of post-radiotherapy lymphocyte count on progression-free and overall survival in patients with stage III lung cancer. *Thorac Cancer* 11, 3139–3144.
- Matsuda M, Mizumoto M, Kohzuki H, Sugii N, Sakurai H and Ishikawa E (2023) High-dose proton beam therapy versus conventional fractionated radiation therapy for newly diagnosed glioblastoma: a propensity score matching analysis. *Radiation Oncology* 18, 38.
- Miyazaki M, Nishihara H, Terasaka S, Kobayashi H, Yamaguchi S, Ito T, Kamoshima Y, Fujimoto S, Kaneko S, Katoh M, et al (2014) Immunohistochemical evaluation of O6-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) expression in 117 cases of glioblastoma. *Neuropathology* 34, 268–276.
- Mohan R, Liu AY, Brown PD, Mahajan A, Dinh J, Chung C, Mcavoy S, Mcaleer MF, Lin SH, Li J, et al. (2021) Proton therapy reduces the likelihood of high-grade radiation-induced lymphopenia in glioblastoma patients: phase II randomized study of protons vs photons. *Neuro Oncol* 23, 284–294.
- Nakamura N, Kusunoki Y and Akiyama M (1990) Radiosensitivity of CD4 or CD8 positive human T-lymphocytes by an in vitro colony formation assay. *Radiat Res* 123, 224–227.
- Omuro A, Brandes AA, Carpentier AF, Idbaih A, Reardon DA, Cloughesy T, Sumrall A, Baehring J, van den Bent M, Bähr O, et al (2023) Radiotherapy combined with nivolumab or temozolomide for newly diagnosed glioblastoma with unmethylated MGMT promoter: An international randomized phase III trial. *Neuro Oncol* 25, 123–134.

Patil N, Somasundaram E, Waite KA, Lathia JD, Machtay M, Gilbert MR, Connor JR, Rubin JB, Berens ME, Buerki RA, et al (2021) Independently validated sex-specific nomograms for predicting survival in patients with newly diagnosed glioblastoma: NRG Oncology RTOG 0525 and 0825. *J Neurooncol* 155, 363–372.

Rudra S, Hui C, Rao YJ, Samson P, Lin AJ, Chang X, Tsien C, Fergus S, Mullen D, Yang D, et al (2018) Effect of Radiation Treatment Volume Reduction on Lymphopenia in Patients Receiving Chemoradiotherapy for Glioblastoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 101, 217–225.

Song AJ, Ding K, Alnahhas I, Laperriere NJ, Perry J, Mason WP, Winch C, O'callaghan CJ, Menten JJ, Brandes AA, et al (2021) Impact of lymphopenia on survival for elderly patients with glioblastoma: A secondary analysis of the CCTG CE.6 (EORTC 26062-22061, TROG03.01) randomized clinical trial. *Neurooncol Adv* 3, vdab153.

Souhami L, Seiferheld W, Brachman D, Podgorsak EB, Werner-Wasik M, Lustig R, Schultz CJ, Sause W, Okunieff P, Buckner J, et al (2004) Randomized comparison of stereotactic radiosurgery followed by conventional radiotherapy with carmustine to conventional radiotherapy with carmustine for patients with glioblastoma multiforme: Report of Radiation Therapy Oncology Group 93-05 protocol. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 60, 853–860.

Stummer W, Pichlmeier U, Meinel T, Wiestler OD, Zanella F and Reulen H-J (2006) Fluorescence-guided surgery with 5-aminolevulinic acid for resection of malignant glioma: a randomised controlled multicentre phase III trial. *Lancet Oncol* 7, 392–401.

Stupp R, Mason WP, van den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJB, Belanger K, Brandes AA, Marosi C, Bogdahn U, et al (2005) Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma. *New England Journal of Medicine* 352, 987–996.

Stupp R, Taillibert S, Kanner AA, Kesari S, Steinberg DM, Toms SA, Taylor LP, Lieberman F, Silvani A, Fink KL, et al (2015) Maintenance therapy with tumor-Treating fields plus temozolomide vs temozolomide alone for glioblastoma a randomized clinical trial. *JAMA* 314, 2535–2543.

Tanabe S, Takahashi H, Saito H, Ohta A, Nakano T, Sasamoto R, Shioi M, Utsunomiya S, Abe E, Kaidu M, et al (2019) Selection criteria for 3D conformal radiotherapy versus volumetric-modulated arc therapy in high-grade glioma based on normal tissue complication probability of brain. *J Radiat Res* 60, 249–256.

Tanaka M, Ino Y, Nakagawa K, Tago M and Todo T (2005) High-dose conformal radiotherapy for supratentorial malignant glioma: a historical comparison. *Lancet Oncol* 6, 953–960.

The committee of Brain Tumor Registry of Japan (2017). Brain Tumor Registry of Japan (2005-2008). *Neurol Med Chir (Tokyo)* 57 (Suppl 1), 9–102.

Tseng I, Ai D, Chen Y, Zhu H, Li F, Xu Y, Yu L, Liu Q, Deng J, Hao S, et al (2023) Lymphocyte recovery from radiation-induced lymphopenia in locally advanced esophageal squamous cell carcinoma: correlations with prognosis and lymphocyte-related organs. *Radiation Oncology* 18, 172.

Velardi E, Tsai JJ and van den Brink MRM (2021) T cell regeneration after immunological injury. *Nat Rev Immunol* 21, 277–291.

Wen PY, Van Den Bent M, Youssef G, Cloughesy TF, Ellingson BM, Weller M, Galanis E, Barboriak DP, De Groot J, Gilbert MR, et al (2023) RANO 2.0: Update to the Response Assessment in Neuro-Oncology Criteria for High- and Low-Grade Gliomas in Adults. *Journal of Clinical Oncology* 41, 5187–5199.

Yovino S, Kleinberg L, Grossman SA, Narayanan M and Ford E (2013) The etiology of treatment-related lymphopenia in patients with malignant gliomas: Modeling radiation dose to circulating lymphocytes explains clinical observations and suggests methods of modifying the impact of radiation on immune cells. *Cancer Invest* 31, 140–144.

Yu Y, Fu P, Jin JY, Gao S, Wang W, Machtay M, Wang L, Kong FM and Yu J (2021) Impact of effective dose to immune cells (EDIC) on lymphocyte nadir and survival in limited-stage SCLC. *Radiotherapy and Oncology* 162, 26–33.

Zhang Y, Huang C and Li S (2023) Influence of treatment-related lymphopenia on the efficacy of immune checkpoint inhibitors in lung cancer: a meta-analysis. *Front Oncol* 13.

Zheng L, Zhou ZR, Yu QQ, Shi M, Yang Y, Zhou X, Li C and Wei Q (2021) The Definition and Delineation of the Target Area of Radiotherapy Based on the Recurrence Pattern of Glioblastoma After Temozolomide Chemoradiotherapy. *Front Oncol* 10, 615368.

Zou H and Hastie T (2005) Regularization and variable selection via the elastic net. *J R Statist Soc B* 67, 301-320.