



Title	神経内分泌腫瘍に対する抗Survivin治療の有用性に関する検討
Author(s)	羽根, 佑真
Description	配架番号 : 2961
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16651号
Issue Date	2025-09-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16651
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/98261
Type	doctoral thesis
File Information	HANE_Yuma_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



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 羽根 佑真

学 位 論 文 題 名

神経内分泌腫瘍に対する抗 Survivin 治療の有用性に関する検討 (Study for Survivin as a therapeutic target for neuroendocrine neoplasms)

【背景と目的】

神経内分泌腫瘍（neuroendocrine neoplasm : NEN）は enterochromaffin 細胞由来の稀な腫瘍で、発生率は 10 万人あたり 3.56 人とされ、増加傾向にある。発育は緩徐であるが、最新の報告では 5 年生存率が 39.4%とされており、特に肝転移がある場合 5 年生存率は 13-54%と低い。転移に対し手術、分子標的薬、経動脈的化学塞栓療法といった集学的治療が推奨されているが、既存の治療法の効果は限られており、新しい治療法の開発が急務とされている。

免疫療法は神経内分泌腫瘍治療において着目されており、特にソマトスタチン受容体や Cadherin (CDH) 17 が神経内分泌腫瘍のキメラ抗原受容体-T 細胞（Chimeric Antigen Receptor-T : CAR-T）療法のターゲットとなる可能性があり、抗 CDH17 CAR-T 療法の第 1 相試験が進行中である。一方、腫瘍関連抗原が細胞障害性 T 細胞（CTL : Cytotoxic T lymphocyte）に認識され、癌特異的な免疫応答を誘導することは広く知られている。腫瘍関連抗原の 1 つである Survivin はアポトーシス阻害蛋白であり、過剰発現は多くの癌腫で予後不良因子とされている。特に Survivin-2B のスプライシングバリエントである Survivin-2B 80-88 は日本人の Human Leukocyte Antigen (HLA) -A24 によって認識され、このペプチドによって誘導された Survivin-2B 80-88 CTL は Survivin 陽性腫瘍細胞を認識することができると報告されている。また、様々な癌腫の血液より誘導された Survivin-2B 80-88 CTL clone は細胞株に対し HLA-A24 拘束性に細胞障害活性を示したため、Survivin ペプチドワクチン療法が複数の癌に有用な可能性が示唆されている。しかしながら NEN 患者に対する Survivin 抗原ペプチドが誘導する免疫学的効果の報告は少ない。本研究では NEN における Survivin 抗原の臨床的重要性について評価し、新規治療候補となりうるか検討した。

【材料と方法】

第 1 に NEN 細胞株の Survivin 発現をフローサイトメトリーで、Survivin のスプライシングバリエントである Survivin-2B の発現をリアルタイム reverse transcription-quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) で評価した。また NEN 細胞株の HLA-A24 発現を半定量 RT-PCR で評価した。

第 2 にクローニングした Survivin-2B 80-88 CTL の NEN 細胞株に対する IFN- γ 発現を Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISPOT) 法、細胞機能アッセイで評価した。

続いて NEN 患者血清中の Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞の頻度を Tetramer 染色で評価した。また手術前後での NEN 患者血清中の Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞の頻度の変化を評価した。さらに上記細胞性免疫だけでなく液性免疫の観点から NEN 患者血清 Survivin 濃度を Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) 法で評価した。

最後に NEN 組織標本の Survivin 免疫組織化学染色を行い、Survivin 発現と臨床病理学的特徴や予後との関連を解析した。

【結果】

入手できた NEN 細胞株 2 種類のうち、膵 NEN 由来の QGP-1 は HLA-A24 陽性、肺 NEN 由来の H727 は HLA-A24 陰性であった。Survivin のスプライシングバリエーションである Survivin-2B の mRNA レベルの発現は H727 では十分であったが、QGP-1 ではネガティブコントロールと同程度であった。

細胞障害活性については、Survivin-2B 80-88 CTL clone は HLA-A24 陽性の QGP-1、HLA-A24 陰性の H727 に対し ELISPOT 法、細胞内 Interferon- γ 染色いずれにおいても細胞障害活性を示さなかったが、Survivin ペプチドと共培養した QGP-1 に対しては細胞障害活性を示した。

Tetramer 染色を施行した計 10 例のうち、NEN 患者 3 例のみ Tetramer 染色陽性であった。Tetramer 染色陽性であった 3 例のうち 2 例で手術後に Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞が減少し、2 例とも 3 年無再発生存中である。手術前後で Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞の頻度の変化が認められなかった残り 1 例は肝転移再発を認めた。

NEN 患者と健常者の血清 Survivin 濃度を ELISA 法で比較した結果、NEN 患者の血清 Survivin 濃度は、健常者と比較し有意に低値であった ($P = 0.0045$)。

免疫組織化学染色では、全生存率に関しては Survivin 発現との関連は認められなかったが、無増悪生存期間に関しては核内 Survivin 発現が高いほど有意に予後が不良であった ($P = 0.0371$)。細胞質内 Survivin と予後の関連は認められなかった。核内 Survivin と臨床病理学的特徴の関連については、核内 Survivin 発現は腫瘍径 $> 2\text{cm}$ 、リンパ節転移、肝転移、機能性との有意な相関を認めた。

【考察】

Survivin-2B 80-88 CTL は QGP-1 単独に対して IFN- γ を発現しなかったが、Survivin ペプチドと共培養した QGP-1 に対して IFN- γ を発現した。RT-PCR で QGP-1 の Survivin-2B mRNA の発現が低値であることが示されており、QGP-1 の Survivin 発現が IFN- γ 発現を誘導するには不十分であったためと推測した。

Tetramer 染色により NEN 患者 7 人中 3 人に Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞が確認された。さらには Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞陽性であった 3 人のうち 2 人は手術により Survivin-2B 80-88 CTL 前駆細胞が陰性化した。これらの知見により、NEN に発現する Survivin は抗原性を有しており、Survivin-2B 80-88 ペプチドは HLA-A24 陽性 NEN 患者の T 細胞に認識され得ることが示唆された。

様々な癌腫で Survivin 発現と腫瘍浸潤、転移との相関が示唆されているのと同様、本研究においても核内 Survivin 高発現群で有意に無増悪生存期間が短く、さらには Survivin 発現がリンパ節転移や肝転移と相関していた。Survivin は上皮間葉転換を促進することが知られており、Survivin が NEN において転移のマーカーである可能性が考えられた。リキッドバイオプシーとしての血清 Survivin 測定の有用性については証明できなかった。

【結論】

NEN 中の Survivin には抗原性があり、NEN は Survivin-2B 80-88 CTL 前駆体を介して細胞性免疫を誘導する可能性がある。Survivin を標的とした免疫療法は特に Survivin が高発現している NEN の治療に有用である可能性が示唆された。