

氏 名 糸井 尚子

学位の種類 博士 (医学)

学位記番号 博士乙 459

学位授与の要件 学位規則第4条第2項

学位授与年月日 令和3年3月9日

学位論文題目 Infiltration of CD4, CD8, CD56, and Fox-P3-positive lymphocytes in breast carcinoma tissue after neoadjuvant chemotherapy with or without trastuzumab

審査委員 (抗 HER2 抗体 trastuzumab 治療による乳癌局所への CD4, CD8, CD56, Fox-P3 陽性リンパ球浸潤)
主査 教授 縣 保年

副査 教授 村上 節

副査 教授 安藤 朗

論文内容要旨

※整理番号	463	(ふりがな) 氏名	(いとい なおこ) 糸井 尚子
学位論文題目	Infiltration of CD4, CD8, CD56, and Fox-P3-positive lymphocytes in breast carcinoma tissue after neoadjuvant chemotherapy with or without trastuzumab. (抗HER2抗体 trastuzumab 治療による乳癌局所へのCD4, CD8, CD56, Fox-P3陽性リンパ球浸潤)		
<p>【研究の目的】 HER2陽性乳癌の標準治療薬であるトラスツズマブ(以下Tz)はHER2陽性乳癌患者の予後を劇的に改善する。Tzの主な作用機序はAntibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)と考えられているが、近年獲得細胞性免疫も重要なことがわかってきた。しかし、Tzによるヒト腫瘍局所へのT細胞浸潤に関しては不明である。本研究ではTzによる乳癌局所への細胞性免疫誘導を明らかにするために、Tz療法により乳癌組織へ浸潤するリンパ球サブタイプの詳細な検討を行った。</p> <p>【方法】 2011年1月から2014年12月までに、滋賀医科大学附属病院で術前化学療法後に切除された初発乳癌29例を対象とした。全例、術前化学療法前に針生検で浸潤性乳癌と診断された。治療前生検組織および治療後の切除組織を用いて、それぞれエストロゲン受容体(ER)、プロゲステロン受容体(PgR)、HER2について免疫組織染色を行なった。さらに、CD4、CD8、CD56およびFox-P3の免疫組織染色を行い、International TILs Working Groupの評価法に基づいて、陽性細胞の存在部位別に①腫瘍内部 (intra-tumoral) ②腫瘍隣接部 (adjacent) ③腫瘍辺縁部 (distant) について、強拡大で1視野あたりの陽性細胞数をカウントし、3視野の細胞数の平均値を測定した。 術前化学療法にTzを併用した群(Tz+群15例)と併用していない群(Tz-群14例)とにわけ、臨床病理学的な比較検討を行った。 統計学的解析はχ^2検定、Welch t検定、Mann-Whitney U検定を用いて行った。</p> <p>【結果】 症例は全て女性、平均年齢はTz+群55歳(42-72歳)、Tz-群50歳(35-64歳)で差はなかった。全ての症例に対して術前化学療法後に手術を施行した。最終の術前化学療法から手術までの期間は、両群間で有意差はなかった。臨床病理学的検討では、術前のホルモン受容体、腫瘍径、リンパ節転移、臨床病期、化学療法レジメンに両群で差はなく、化学療法後の病理学的奏功についても差はなかった。Tz+群では3例の腫瘍完全退縮(CR)を認めた。 術前化学療法前の針生検組織において、CD4、CD8、CD56、Fox-P3陽性リンパ球数はTz+群とTz-群間で差がなかった。術前化学療法後の切除組織において、腫瘍隣接部のCD4、CD8、Fox-P3陽性細胞数はTz+群で有意にTz-群より多かった($p<0.005$)。腫瘍辺縁部でのCD4、CD8陽性細胞数もTz+群で有意にTz-群より多かった。腫瘍内部のCD4、CD8、Fox-P3陽性細胞数には両群間で差がなかった。 一方、natural killer (NK) 細胞を示すCD56陽性細胞数には両群間で差を認めなかった。腫瘍隣接部のCD4陽性細胞数とCD8陽性細胞数の間には正の相関が認められた(Tz+群-</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

$r=0.76$ 、Tz-群 $r=0.66$)。腫瘍内部では Tz-群にのみ正の相関が認められた(Tz+群 $r=0.27$ 、Tz-群 $r=0.64$)。さらに、腫瘍辺縁部では CD4 陽性細胞数と CD8 陽性細胞数に相関は認められなかった。

Tz-群では腫瘍内部へ浸潤する CD8 陽性細胞数と腫瘍縮小率との間に相関を認めたが、Tz+群では有意な相関を認めなかった (Tz-群 $r=0.59$ 、Tz+群 $r=0.343$)。両群とも腫瘍浸潤 CD4、CD8 陽性細胞数と病理学的な化学療法効果との間には相関が認められなかった。

【考察】

近年、様々な癌腫において腫瘍組織浸潤リンパ球 (tumor-infiltrating lymphocytes ; TILs) が腫瘍内免疫機能を評価する上で注目され、乳癌においても TILs が予後予測因子や術前化学療法の効果予測因子となる可能性がある。なかでも HER2 陽性乳癌や Triple negative 乳癌では CD8 陽性 TILs や CD8/Fox-P3 比が死亡リスクや術前化学療法の完全奏功と関連していると言われている。しかし、Tz 療法が TILs の誘導に関与しているかについての報告は少ない。

これまで、Tz の主な抗腫瘍効果は ADCC 活性によるものと考えられてきたが、本研究では化学療法後の手術摘出乳癌組織には、ADCC を担っている CD56 陽性 NK 細胞はごく少数しか認めなかった。Tz の最終投与から腫瘍切除までの期間が長い(平均 28.2 日)ために NK 細胞への効果が終結していた為かもしれないが、一方で Tz を投与した群では腫瘍局所への多くの CD8 陽性 T 細胞浸潤が認められた。また、Tz 療法後には CD4 陽性 T 細胞も腫瘍組織内に多数浸潤していた。CD4 陽性 Fox-P3 陽性制御性 T 細胞であるが、Fox-P3 陽性細胞数に比し同部位の CD4 陽性細胞数をはるかに多いため、これらの CD4 陽性 T 細胞の多くはヘルパー T 細胞だと考えられた。Tz の直接の影響がなくなった後もヘルパー T 細胞、細胞傷害性 CD8 陽性 T 細胞(CTL)が腫瘍に隣接して存在しており、Tz 投与により乳癌局所に細胞性免疫が誘導されていると考えられた。

腫瘍組織内の CD8 陽性 T 細胞が多い乳癌は予後が良いと報告されている。一方、Fox-P3 陽性制御性 T 細胞の存在は予後不良との報告と、反対に予後が改善するとの報告がある。これは乳癌のサブタイプによる生物学的な違いや薬物療法の違いなどに起因するのかもしれない。本研究では、Tz 療法群で腫瘍局所の CD8 陽性細胞と Fox-P3 陽性細胞が増加しており、これらには相関が認められた。Tz 療法により細胞性免疫が誘導され CTL が腫瘍局所に増加した結果、腫瘍の免疫逃避作用を担う Fox-P3 陽性制御性 T 細胞が組織内に誘導されたとも考えられる。

Tz-群では腫瘍へ浸潤する CD8 陽性細胞数と腫瘍縮小率との間に相関を認めたが、Tz+群では有意な相関を認めなかった。その理由として、Tz+群では腫瘍消失した CR 例の TIL 解析ができなかったことや、腫瘍退縮が大きく腫瘍組織が少ない症例があったこと等が考えられる。

【結論】

術前化学療法に併用した Tz 療法は、乳癌組織に CD4 陽性ヘルパー T 細胞や CD8 陽性 CTL などの細胞性免疫を誘導した。

この新たな免疫学的エビデンスは、Tz 抗体治療や他の分子を標的とした抗体治療による新しい抗腫瘍免疫療法の開発に貢献できるであろう。

別紙様式9 (課程博士・論文博士共用)

博士論文審査の結果の要旨

整理番号	463	氏名	糸井 尚子
論文審査委員			
<p>(博士論文審査の結果の要旨)</p> <p>抗HER2抗体TrastuzumabはHER2陽性乳癌患者の予後を劇的に改善する。これまでTrastuzumabの免疫学的作用機序はAntibody-dependent cellular cytotoxicity (ADCC)と考えられてきたが、近年獲得細胞性免疫も重要なことが動物実験でわかってきた。本研究ではTrastuzumab投与によるヒト乳癌局所への細胞性免疫誘導を明らかにするために、術前Trastuzumab療法により乳癌組織へ浸潤するリンパ球サブタイプについて乳癌切除標本における免疫組織染色を用いて検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Trastuzumab投与症例では腫瘍内および腫瘍近傍の間質にCD4陽性ヘルパーT細胞およびCD8陽性細胞傷害性T細胞の浸潤を認めた。 2) Trastuzumab投与症例ではFox-P3陽性制御性T細胞の浸潤を認めた。 3) ADCCの中心であるCD56陽性NK細胞の乳癌局所への浸潤は、Trastuzumab投与例でも軽度であった。 4) Trastuzumab投与によりヒト乳癌局所への細胞性免疫が誘導されたと考えられた。 <p>本論文は、Trastuzumabによるヒト乳癌組織への細胞性免疫の誘導について新しい知見を与えたものであり、また最終試験として論文内容に関連した試問を実施したところ合格と判断されたので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(令和3年 1月25日)</p>			