

論文の内容の要旨

論文題目「Comparison of tumor-infiltrating lymphocytes between
primary and metastatic tumors in breast cancer patients」
(乳癌患者における腫瘍浸潤リンパ球の原発巣と再発巣での比較)

学位申請者 扇屋 りん

キーワード：腫瘍浸潤リンパ球、腫瘍免疫、乳癌転移、原発巣、PD-L1

【背景】我々の身体の中で毎日 5000 個の癌細胞が生じているが自己免疫によりこれらを排除している。この腫瘍免疫は 3 相からなる Cancer immunoediting で説明されている。3 相とは排除相・平衡相・逃避相からなり、排除相では癌細胞を排除する。しかし、免疫系の働きによっても完全に排除されず生き残ったがん細胞が存在すると、それらの細胞は平衡相に入る。ここでは免疫細胞とがん細胞との相互作用により、消えもしない、大きくもならないといった状態が続く。次に平衡状態が何らかの理由で破綻すると、より生存に有利な免疫原性の低いがん細胞が選ばれて増殖する、これが逃避相である。癌の診断がついた時点ではほぼこの逃避相にあると考えられている。乳癌転移の過程において転移した腫瘍は自家の免疫からさらに逃避していると予想される。

この腫瘍免疫の中心的役割を果たすのが腫瘍浸潤リンパ球 (Tumor Infiltrating Lymphocytes: TILs) である。過去の早期乳癌の研究からトリプルネガティブ、HER2 陽性乳癌で腫瘍間質の TILs が多い程化学療法に対する感受性が高く、予後良好であるとされている。TILs の研究は早期乳癌で多くなされているが転移性乳癌での研究は少ない。

【目的】乳癌が転移する過程を経ることで原発巣と比較して転移巣では免疫システムから逃避しているという仮説より、原発巣と転移巣のペアサンプルを用いて TILs を評価することで転移巣での免疫状態を明らかにする。

【方法】1990 年から 2009 年の間に東海大学医学部附属病院にてトリプルネガティブ (ER 陰性、PgR 陰性、HER2 陰性) もしくは HER2 陽性早期乳癌と診断され原発巣の手術を行い、その後の経過観察で転移巣を認め生検もしくは手術を施行した 25 例を後方視的に抽出した。

各組織の代表サンプルで HE、CD4、CD8、Foxp3、PD-L1、PD-L2、HLA class I 染色を施行した。HE 染色スライドにて腫瘍間質の TILs を病理医が 10%刻みで判定した。その後、TILs が 10%未満を低 TILs 群、10-60%未満を中間 TILs 群、60%以上をリンパ球優勢乳癌群と 3 群に分けた。CD4、CD8、Foxp3、PD-L1、PD-L2 染色スライドで間質リンパ球の各抗体における陽性割合を判定した。次に腫瘍細胞の染色性を PD-L1、PD-L2、HLA class I 染色スライドで 0(陰性)、1 (弱陽性)、2 (強陽性) を基準にスコア化した。

さらに、過去の文献を元に TILs の多寡、PD-L1 の発現有無をもとに以下の通り 4 カテゴリーに分類した。type I (adaptive immune resistance, TIL 多/PD-L1 陽性), type II (immunological ignorance, TIL 少/PD-L1 陰性), type III (intrinsic induction, TIL 少

/PD-L1 陽性), and type IV (tolerance, TIL 多/PD-L1 陰性)。

【結果】対象となった 25 例のうち、トリプルネガティブが 11 例、HER2 陽性が 14 例でそれぞれ手術もしくは生検を施行した転移巣は皮膚 (n = 7)、脳 (n = 6)、リンパ節 (n = 4)、肺 (n = 3)、骨 (n = 2)、骨髄・肝臓・筋肉 (各 n = 1) であった。

原発巣 TILs の平均値は 34.6%、転移巣の平均値は 15.7% で原発巣と比較して有意に転移巣で TILs は低値であった (paired t-test, $p = 0.004$)。TILs のうち、CD8 陽性細胞割合、CD4 陽性細胞割合とも原発巣と比較して転移巣で有意に低下していた (paired t-test, $p = 0.008$ and $p = 0.026$)。腫瘍細胞の PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現は原発巣-転移巣間で陽転化・陰転化ともに認められた。4 カテゴリー分類では type I の割合が原発巣で 35%、転移巣で 8% と低下していた。

探索的に遠隔転移した 17 例において転移巣の TILs をもとに予後解析したところ、低 TILs 群と比較して中間 TILs 群では転移後の全生存期間が有意に長かった (HR = 3.77, CI 95%: 0.99-14.9; log-rank test, $p = 0.038$)。

【考察】トリプルネガティブ、HER2 陽性乳癌において原発巣と比較し転移巣で有意に TILs が低下していたことは腫瘍の免疫逃避をよく反映していると考えられた。腫瘍細胞の PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現は原発巣と転移巣の間で変化していた。また、原発巣と同様に転移巣においても TILs は予後因子となる可能性が示唆された。

この数年で免疫チェックポイント阻害剤の臨床試験が多くの癌種で進められている。免疫チェックポイント阻害剤は全ての患者で効果を示すことはなく、その副作用・薬価から治療効果予測バイオマーカーの同定が急務である。これまでの PD-1、PD-L1 阻害剤の臨床試験からバイオマーカーの筆頭とされるのが腫瘍細胞の PD-L1 発現であるが現在のところ決定的な予測指標とはなっていない。臨床試験において PD-L1 発現は標的となる新鮮な転移巣の標本ではなく原発巣などで判定されていることがその一因になっていると予想される。なぜなら転移過程、時間経過、治療の介入などにより PD-L1 の発現は原発巣と転移巣の間で変化するからである。今後バイオマーカーの同定の際には治療直前の腫瘍の免疫状態を把握する必要があると考えられた。

乳癌の中でも特に治療標的の定まっていないトリプルネガティブ乳癌に対して免疫チェックポイント阻害剤の効果が期待されるところだが、転移性乳癌の場合免疫チェックポイント阻害した後の攻撃因子である TILs が低下しており、その効果は限定的である可能性が高い。異なる作用機序の免疫チェックポイント阻害剤併用、もしくは免疫チェックポイント阻害剤と化学療法・放射線治療併用など腫瘍へのリンパ球浸潤を賦活化するような治療と併用することでより高い治療効果が望める可能性がある。

【結論】トリプルネガティブ、HER2 陽性乳癌で原発巣と比較し転移巣で TILs が有意に低下しており、腫瘍が転移する過程で免疫逃避している可能性が示唆された。