



Expression of programmed death-1 in sentinel lymph nodes of breast cancer

Tatara, Takashi

(Degree)

博士（医学）

(Date of Degree)

2018-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第7133号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1007133>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

学位論文の内容要旨

Expression of programmed death-1 in sentinel lymph nodes of breast cancer

乳癌センチネルリンパ節における programmed death-1 発現に関する検討

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻
食道胃腸外科学
(指導教員: 掛地 吉弘 教授)

多田 義

【背景】近年、癌細胞が腫瘍免疫を回避する機構が明らかにされてきている。腫瘍抗原は樹状細胞などの抗原提示細胞によって T リンパ球に提示され、腫瘍特異的な T リンパ球として活性化される。この T リンパ球の活性化は一般に所属リンパ節で行われる。活性化された T リンパ球は血流を介して腫瘍に到達し、癌細胞を認識して殺細胞する。一連の腫瘍免疫機構の中で、抗原提示細胞と T リンパ球との間、および T リンパ球と腫瘍細胞との間には、正負両方のシグナル伝達機構が備わっており、それらを担う分子は、免疫チェックポイント (Immune Check-Point, ICP) 分子と総称される。癌細胞は ICP 分子を介して、自己に特異的な T リンパ球に負のシグナルを励起することにより、免疫を回避すると考えられている。

そのような T リンパ球に対する負のシグナルを抑制し、腫瘍特異的な T リンパ球を活性化すべく開発された薬が、ICP 阻害薬である。その先駆けとなった抗 CTLA-4 抗体は、抗原提示細胞上の B7.1/B7.2 と T リンパ球上の CTLA-4 を介した負のシグナルを抑制する結果、腫瘍免疫を活性化する。また、抗 PD-1 抗体は、腫瘍細胞上の PD-L1 と T リンパ球上の PD-1 を介した負のシグナルを抑制する結果、腫瘍免疫を活性化する。両者とも進行悪性黒色腫で、明らかな生存延長効果を示し、後者はさらに非小細胞肺癌、腎細胞癌、頭頸部扁平上皮癌、胃癌でも生存延長効果を示している。今後、ICP 阻害薬の役割や適応疾患は、次の数年の間に拡大されると予想される。

一方、乳癌では、腫瘍浸潤リンパ球 (Tumor Infiltrating Lymphocyte [TIL]) における ICP 分子の発現や意義に関する研究が立ち遅れているのが現状であり、乳癌においては、TIL における PD-1 および他の ICP 分子の発現と意義を明らかにすることが急務である。

しかし、たとえ乳癌原発巣 TIL から重要な情報が得られる場合でも、腫瘍微小環境の複雑性の問題から、臨床応用に耐えうる量および質の TIL を分離するには困難が予想される。特に、腫瘍の不均一性を考慮すると、再現性を担保するのは、さらに困難が予想される。

そこで、我々は、センチネルリンパ節のリンパ球に注目することとした。その理由は、1) センチネルリンパ節は理論上、原発巣からのリンパ流が最初に到達するリンパ節であるため、癌特異的抗原に濃厚に暴露されていると考えられること、2) 腫瘍全体からリンパ流を受け入れるためにそこに存在するリンパ球は腫瘍全体に対する免疫反応を反映している可能性が高いこと、3) リンパ節は、均一な組織であり、リンパ球をフローサイトメトリーなどで解析することが比較的容易であることである。我々は、「センチネルリンパ節のリンパ球は、TIL と同様の免疫チェックポイント分子発現プロファイルを有する」、との仮説を立て、その仮説をより強固にすべく、乳癌の原発巣、センチネルリンパ節、お

より下流の所属リンパ節に存在するリンパ球における PD-1 とその関連分子の発現状態を検討する研究を計画した。

【目的】「センチネルリンパ節のリンパ球は、TIL と同様の ICP 分子発現プロファイルを有する」との仮説の下、乳癌のセンチネルリンパ節 (SLN)、および下流の所属リンパ節 (non-SLN) に存在するリンパ球の PD-1 の発現状態を検討する。

【方法】当院で乳癌と診断され手術を受けた症例の内、SLN 転移陰性群 40 例 (luminal A 10 例、luminal B 10 例、HER2 10 例、triple negative breast cancer [TNBC] 10 例) と、SLN 転移陽性群 25 例 (luminal A 10 例、luminal B 10 例、TNBC 5 例) に対し、SLN、および non-SLN の PD-1 発現状態を免疫組織学的染色により比較検討した。評価方法としては、intensity とリンパ球の PD-1 陽性率に基づいて評価した。リンパ節の胚中心を PD-1 の positive control とし、これと比較して intensity を 3 段階に分けた。また cell count を行う領域を病理医が決定し、ランダムに 1000 個のリンパ球をカウントした後、PD-1 陽性リンパ球数をカウントし、リンパ球の PD-1 陽性率を計算した。

【結果】SLN 転移陰性群では、TNBC が最も SLN のリンパ球の intensity が強く、また PD-1 発現率も高かった。SLN 転移陽性群では、SLN の PD-1 陽性リンパ球数の中央値が non-SLN と比較し有意に多く (71/1000 vs 23/1000, $p<0.0001$)、ほとんどの症例で、SLN の方が non-SLN より PD-1 陽性リンパ球数が多かった。

【結論】TNBC は、他のサブタイプと比較し、最も SLN の PD-1 発現率が高く、この結果は、先の乳癌 TIL の PD-1 発現の報告と一致する。転移陽性の SLN は、他の下流の所属リンパ節に比べて、PD-1 陽性リンパ球数が多かつた。SLN のリンパ球は、より多くの抗原提示を受け、腫瘍特異的である可能性が示唆された。

本研究の結果を基に、仮説がさらに強固なものとなれば、センチネルリンパ節のリンパ球をフローサイトメトリー等でさらに詳細な評価する理論的基盤を築ける可能性がある。将来的に、センチネルリンパ節のリンパ球が ICP 阻害薬の効果予測バイオマーカーを提供できるようになれば、患者の大きな恩恵を提供できると考える。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲第 2756 号	氏名	多田 義 敬
論文題目 Title of Dissertation	<p>Expression of programmed death-1 in sentinel lymph nodes of breast cancer</p> <p>乳癌センチネルリンパ節における programmed death-1 発現に関する検討</p>		
審査委員 Examiner	<p>主査 Chief Examiner 福本 巧</p> <p>副査 Vice-examiner 錦織 千佳子</p> <p>副査 Vice-examiner 横井 大</p>		

(要旨は 1,000 字～2,000 字程度)

[背景]

近年、癌細胞が免疫チェックポイント (Immune Check-Point, ICP) 分子によって、腫瘍免疫を回避する機構が明らかにされてきている。ICP 分子の中でも、T リンパ球上の Programmed cell death-1(PD-1) は、リガンドである腫瘍細胞上の PD-L1 と結合し、負のシグナルを介して腫瘍免疫を回避するが、抗 PD-1 抗体はこれらの負のシグナルを抑制する結果、腫瘍免疫を活性化する。抗 PD-1 抗体は、進行悪性黒色腫、非小細胞肺癌、腎細胞癌、頭頸部扁平上皮癌、胃癌などで生存延長効果を示しており、今後、抗 PD-1 抗体などの ICP 阻害薬の役割や適応疾患は、次の数年の間に拡大されると予想される。

乳癌では、腫瘍浸潤リンパ球 (Tumor Infiltrating Lymphocyte [TIL])における ICP 分子の発現や意義に関する研究が立ち遅れているのが現状であり、乳癌においては、TIL における PD-1 および他の ICP 分子の発現と意義を明らかにすることが急務であるが、たとえ乳癌原発巣 TIL から重要な情報が得られる場合でも、腫瘍微小環境の複雑性の問題から、臨床応用に耐えうる量および質の TIL を分離するには困難が予想される。

そこで、我々は、センチネルリンパ節 (SLN)のリンパ球に注目することとした。その理由は、1) (SLN)は理論上、原発巣からのリンパ流が最初に到達するリンパ節であるため、癌特異的抗原に濃厚に暴露されていると考えられること、2) 肿瘍全体からリンパ流を受け入れるために存在するリンパ球は腫瘍全体に対する免疫反応を反映している可能性が高いこと、3) リンパ節は、均一な組織であり、リンパ球をフローサイトメトリーなどで解析することが比較的容易であることである。我々は、「SLN のリンパ球は、TIL と同様の免疫チェックポイント分子発現プロファイルを有する」との仮説を立て、その仮説をより強固にすべく、乳癌の原発巣、SLN、および下流の所属リンパ節 (non-SLN)に存在するリンパ球における PD-1 とその関連分子の発現状態を検討する研究を計画した。

[目的]

「SLN のリンパ球は、TIL と同様の ICP 分子発現プロファイルを有する」との仮説の下、SLN および non-SLN に存在するリンパ球の PD-1 の発現状態を検討する。

[方法]

当院で乳癌と診断され手術を受けた症例の内、SLN 転移陰性群 40 例 (luminal A 10 例、luminal B 10 例、HER2 10 例、triple negative breast cancer [TNBC] 10 例) と、SLN 転移陽性群 25 例 (luminal A 10 例、luminal B 10 例、TNBC 5 例) に対し、SLN、および non-SLN の PD-1 発現状態を免疫組織学的染色により比較検討した。評価方法としては、intensity とリンパ球の PD-1 陽性率に基づいて評価した。リンパ節の胚中心を PD-1 の positive control とし、これと比較して intensity を 3 段階に分けた。また cell count を行う領域を病理医が決定し、ランダムに 1000 個のリンパ球をカウントした後、PD-1 陽性リンパ球数をカウントし、リンパ球の PD-1 陽性率を計算した。

〔結果〕

SLN 転移陰性群では、TNBC が最も SLN のリンパ球の intensity が強く、また PD-1 発現率も高かつた。SLN 転移陽性群では、SLN の PD-1 陽性リンパ球数の中央値が non-SLN と比較し有意に多く (71/1000 vs 23/1000, $p<0.0001$) 、ほとんどの症例で、SLN の方が non-SLN より PD-1 陽性リンパ球数が多かった。

〔結論〕

TNBC は、他のサブタイプと比較し、最も SLN の PD-1 発現率が高く、この結果は、先の乳癌 TIL の PD-1 発現の報告と一致する。転移陽性の SLN は、他の下流の所属リンパ節に比べて、PD-1 陽性リンパ球数が多かった。SLN のリンパ球は、より多くの抗原提示を受け、腫瘍特異的である可能性が示唆された。

本研究の結果を基に、仮説がさらに強固なものとなれば、SLN のリンパ球をフローサイトメトリー等でさらに詳細な評価する理論的基盤を築ける可能性がある。将来的に、SLN のリンパ球が ICP 阻害薬の効果予測バイオマーカーを提供できるようになれば、患者の大きな恩恵を提供できると考える。

本研究は、近年注目される PD-1 とその関連分子の SLN、および下流の non-SLN に存在するリンパ球における発現を検討したものであるが、SLN のリンパ球は、TNBC でより多くの PD-1 抗原提示を受け、腫瘍特異的である可能性を示した点で価値ある業績と認める。よって、本研究者は、博士（医学）の学位を得る資格があると認める。