

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	Link between tumor promoting fibrous microenvironment and an immunosuppressive microenvironment in stage I lung adenocarcinoma
別タイトル	肺腺癌におけるがん周囲微小環境と免疫環境との相互関係
作成者（著者）	坂井, 貴志
公開者	東邦大学
発行日	2020.03.15
掲載情報	東邦大学大学院医学研究科 博士論文 内容の要旨及び審査結果の要旨.
資料種別	学位論文
内容記述	主査：海老原覚 / タイトル：Link between tumor promoting fibrous microenvironment and an immunosuppressive microenvironment in stage I lung adenocarcinoma / 著者：Takashi Sakai, Keiju Aokage, Shinya Neri, Hiroshi Nakamura, Shogo Nomura, Kenta Tane, Tomohiro Miyoshi, Masato Sugano, Motohiro Kojima, Satoshi Fujii, Takeshi Kuwata, Atsushi Ochiai, Akira Iyoda, Masahiro Tsuboi, Genichiro Ishii / 掲載誌：Lung Cancer / 巻号・発行年等：126:64 71, 2018
著者版フラグ	none
報告番号	32661 甲第935号
学位記番号	甲第640号
学位授与年月日	2020.03.15
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD93161536

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

坂井貴志より学位申請のため提出した論文の要旨

学位番号甲第 640 号

学位申請者 : 坂 井 貴 志

学位論文 : Link between tumor-promoting fibrous microenvironment and an immunosuppressive microenvironment in stage I lung adenocarcinoma

(肺腺癌におけるがん周囲微小環境と免疫環境との相互関係)

著 者 : Takashi Sakai, Keiju Aokage, Shinya Neri, Hiroshi Nakamura, Shogo Nomura, Kenta Tane, Tomohiro Miyoshi, Masato Sugano, Motohiro Kojima, Satoshi Fujii, Takeshi Kuwata, Atsushi Ochiai, Akira Iyoda, Masahiro Tsuboi, Genichiro Ishii

公表誌 : Lung Cancer 126 : 64-71, 2018

論文内容の要旨 :

がん組織はがん細胞とそれ以外の様々な要素により構成されるが、近年、線維芽細胞、免疫細胞、血管/リンパ内皮細胞、血小板などがん細胞以外の様々な非がん細胞ががん細胞の浸潤、転移能などがんの悪性像に関与し、またその多様性ががん細胞自体の多様性にも影響を与えることが示唆されている。この構成要素が作り出すがん周囲の環境はがん微小環境と呼ばれ、近年の免疫チェックポイント阻害薬などの微小環境の理解と治療開発は、がんの病態生理のさらなる理解と予後改善に寄与すると考えられている。

がん組織における非がん細胞は“がん間質細胞”とも呼ばれ、その主な構成細胞にがん関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblasts: CAFs) が存在する。その中でも、原発性肺癌において、ポドプラニン染色で陽性となる線維芽細胞 (ポドプラニン陽性 CAFs) はがん細胞に接着相互作用やサイトカイン放出など直接、間接的に働き、がんの進行を促進させることが知られている。また、がん細胞と微小環境における免疫細胞には相関関係があることが多く示されている。原発性肺癌においてがんの進行度や予後とがん間質における M2 (制御性) マクロファージや FOXP3 陽性 (制御性) T 細胞との相関関係が示されており、が

人間質において自己免疫抑制環境がつけられることで、がんの進行が促進されることが示唆されている。

近年、乳癌において CAFs が様々なサイトカインを通じてがん組織において免疫抑制性の環境をつくっているという内容の研究結果が発表され、世界で初めて CAFs と微小環境における免疫細胞との間に関係性があることが明らかになった。しかし、原発性肺癌においては CAFs と免疫環境との関係性を示した研究は未だにみられていなかったため、今回我々の研究では、原発性肺癌において、ポドプラニン陽性 CAFs と免疫環境との相関関係について明らかにすることを目的とした。

今回我々は2つの研究を行った。1つめの研究は、病理学的 I 期の肺癌を有する合計 174 人の患者のがん組織の切片を用い、M2 (制御性) マクロファージは CD204、T 細胞は CD8、制御性 T 細胞は FOXP3 を用いて免疫組織化学的染色を施行し、がん間質におけるポドプラニン陽性 CAFs と免疫関連細胞との関係性を評価した。ポドプラニン染色はがん間質において 10%以上が陽性となる症例を陽性と判断し、免疫細胞数は切片内のがん間質の中から 5 高倍視野 (0.0625mm²) をランダムに選択しカウント、その数の中央値とした。CD8 細胞と FOXP3+T 細胞の比率は免疫環境の指標として報告され、比率が低いほど免疫抑制性の環境とされており、CD8 / FOXP3 T 細胞比を併せて算出した。2つ目の研究は、パブリックデータベースにおける肺癌 (n = 442) の RNA 発現プロファイルを分析、全症例をポドプラニンの RNA 高発現群と低発現群の 2 群に分類し、M2 マクロファージと制御性 T 細胞の調節を司るサイトカインの発現レベルを比較した。変数の比較は Fisher の正確検定、クラスカル・ウォリス検定、マン・ホイットニー検定、予後の比較は Kaplan-Meier 法とログランク解析、多変量解析はコックス比例ハザード解析を用い、p < 0.05 を有意とした。

1つめの研究の結果では、まず、I 期の肺癌においてポドプラニン陽性 CAFs は再発予測因子であった (p=0.042)。次に、ポドプラニン陽性 CAFs 肺癌症例の切片において、CD204+マクロファージの数が有意に多く (p<0.001)、CD8 / FOXP3 T 細胞比は有意に低かった (p=0.027)。また、同じ腫瘍内においても、ポドプラニン陽性領域と陰性領域があることに着目し、それぞれにおける免疫細胞数を比較すると、ポドプラニン陽性領域で CD204+マクロファージの数は有意に多く (p<0.001)、CD8 / FOXP3 T 細胞比は低い傾向 (p=0.062) にあった。続いて、2つ目の研究では、ポドプラニン高発現群において、M2 マクロファージの発現を誘導するサイトカイン (M-CSF)、また免疫関連リンパ球を抑制するサイトカイン (IDO, TGFβ1, VEGFA, galectin 1) の遺伝子発現レベルが有意に高いことが明らかになった。これら2つの研究から、ポドプラニン陽性 CAFs はがん組織におけるがん免疫の抑制性環境と相関関係があり、その相関にはサイトカインを通じている可能性が示唆された。

これらの結果から、原発性肺癌において、ポドプラニン陽性 CAFs はがん細胞における悪性像への関与のみならず、生体のがん免疫を抑制させることで間接的にがんの進行を促進させていることを免疫染色、遺伝子プロファイルの解析により初めて証明した。この結果は、ポドプラニン陽性 CAFs が原発性肺癌における予後因子となるだけでなく、CAFs をターゲットとした治療開発によるがん治療の発展の可能性や、免疫治療におけるバイオマーカーとなりうる可能性を示唆した。Study limitation として2つの研究の対象が異なること、単施設後方視研究であることが挙げられるため、今後は他施設での前向き研究による立証が望まれる。

1. 学位審査の要旨および担当者

学位番号甲第 640 号	氏 名	坂 井 貴 志
学位審査担当者	主 査	海 老 原 覚
	副 査	三 上 哲 夫
	副 査	島 田 英 昭
	副 査	岸 一 馬
	副 査	松 瀬 厚 人

学位論文の審査結果の要旨 :

原発性肺癌におけるポドプラニン陽性 CAFs はがん細胞に接着相互作用やサイトカイン放出など直接、間接的に働き、がんの進行を促進させることが知られている。本研究では、原発性肺腺癌において、ポドプラニン陽性 CAFs と免疫環境との相関関係について明らかにすることを目的とした。病理学的 I 期の肺腺癌を有する合計 174 人の患者のがん組織の切片を用い、M2 (制御性) マクロファージは CD204、T 細胞は CD8、制御性 T 細胞は FOXP3 を用いて免疫組織化学的染色を施行し、がん間質におけるポドプラニン陽性 CAFs と免疫関連細胞との関係性を評価した。まず I 期の肺腺癌においてカプランマイヤー解析からポドプラニン陽性 CAFs は再発予測因子であることが示唆された ($p=0.042$)。さらにポドプラニン陽性 CAFs 肺癌症例の切片において、CD204+マクロファージの数が有意に多く ($p<0.001$)、CD8 / FOXP3 T 細胞比は有意に低く ($p=0.027$)、同じ腫瘍内においてもポドプラニン陽性領域で CD 204+マクロファージの数は有意に多く ($p<0.001$)、CD8 / FOXP 3 T 細胞比は低い傾向 ($p=0.062$) にあった。次にパブリックデータベースにおける肺腺癌 ($n = 442$) の M2 マクロファージと制御性 T 細胞の調節を司るサイトカインの RNA 発現プロファイルの分析を行った。ポドプラニン高発現群において、M2 マクロファージの発現を誘導するサイトカイン (M-CSF)、また免疫関連リンパ球を抑制するサイトカイン (IDO, TGF β 1, VEGFA, galectin 1) の遺伝子発現レベルが有意に高いことが明らかになった。以上のことより、ポドプラニン陽性 CAFs はがん組織におけるがん免疫の抑制性環境と相関関係があり、その相関にはサイトカインを通じている可能性が示唆された。

学位審査会は、2019 年 12 月 24 日午後 5 時より審査委員全員の出席により行われた。申請者による論文の内容説明の後、審査委員と質疑応答が行われた。審査委員からはポドプラニン分子の役割やがん悪性度・がん免疫との関係、増加した自己免疫抑制サイトカインの由来、パブリックデータベースで解析した理由やインフォームドコンセントのとり方、さらに免疫チェックポイント阻害薬とポドプラニン陽性 CAFs の関係などさまざまな質問がなされた。申請者はそれらの質問に対して一つ一つの確に丁寧に回答することができ、本研究の背景、結果、意義について十分に理解し考察ができていたことが確認された。さらに本研究を行った申請者は、東邦大学大学院医学研究科在学期間の特例である「優れた研究業績を上げた者」であることも確認された。

以上により、本審査会において本研究は学位に値すると審査委員全員一致で判断した。