

【17】

氏 名	西 平 守 道
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	甲第733号
学位授与の日付	平成31年3月6日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項 (呼吸器外科学)
学位論文題目	Impact of tumor infiltrating lymphocytes and lymphoid follicle formation on patient survival following surgery for lung squamous cell carcinoma (肺扁平上皮癌手術症例における腫瘍浸潤リンパ球およびリンパ濾胞形成が予後に与える影響)
論文審査委員	(主査) 教授 福 田 宏 嗣 (副査) 教授 川 又 均 教授 小 端 哲 二

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

この10年で非小細胞肺癌（とりわけ腺癌、非扁平上皮癌）の治療は非常に進歩してきた。その一方で扁平上皮癌の治療にめざましい進展はみられていない。近年、免疫チェックポイント阻害薬（ICI）の出現が扁平上皮癌の治療に大きな変革をもたらしている。

ICIは、免疫寛容機序の一つであるprogrammed death-1（PD-1）とそのリガンド（PD-L1）などに影響することにより腫瘍細胞が免疫逃避することを阻害している。一方、様々な癌種において腫瘍免疫に腫瘍浸潤リンパ球（tumor infiltrating lymphocyte：TIL）が重要な役割を果たしていることが報告されている。また、腫瘍間質におけるリンパ濾胞形成は予後因子と考えられているが一定の見解は得られていない。

【目 的】

扁平上皮癌手術症例のTILに注目し、TIL、リンパ濾胞形成、PD-1/PD-L1、その他病理学的因子を後方視的に解析することで、予後の指標となる因子をみつけることを目的とした。

【対象と方法】

2010年1月～2012年12月までに獨協医科大学病院呼吸器外科で根治切除を施行した扁平上皮癌症例を対象とした。本研究は事前に獨協医科大学生命倫理委員会において承認を受け行った。（#R-5-8）全症例の予後調査は2018年1月に行った。

腫瘍の最大断面を用いhematoxylin and eosin (HE) 染色および免疫組織学的染色 (CD3、CD4、CD8、CD20、CD25) を行った。さらにPD-L1の染色はLSIメディアエンスに委託して行った。TILは分布と強度で3段階に分類した。リンパ濾胞は胚中心を伴ったCD20陽性のBリンパ球の集簇で確認した。TILにおけるTリンパ球とBリンパ球の比率をCD3/CD20比で評価した。CD4とCD25の両者が陽性のリンパ球を制御性Tリンパ球とした。

群間の統計学的分析はカイ2乗検定またはFisherの正確検定を用いて解析した。全生存期間の検討はKaplan-Meier法を用いて行い、群間比較はlog-rank検定で行った。全生存期間の危険因子はCox比例ハザード生存モデルを用いた単変量解析と多変量解析を行い検討した。p<0.05を有意とした。

【結 果】

72例の検討を行い、TILグレード0が29例、グレード1が18例、グレード2が25例であった。リンパ濾胞は72例中13例 (18.1%) に認めた。制御性Tリンパ球は8例に認め、それらはすべてリンパ濾胞形成例であった (p<0.001)。リンパ濾胞とPD-L1の間には統計学的有意差は認めなかった (p=0.16)。

単変量解析では病理病期、胸膜浸潤の有無、血管浸潤の有無、リンパ濾胞の有無が術後の全生存期間に関連する因子であった。術前導入療法の有無や術後合併症の有無、腫瘍浸潤リンパ球グレード、PD-L1の発現強度は統計学的に有意差を認めなかった。単変量解析で有意差が認められた因子に対して多変量解析を行ったところ、胸膜浸潤の有無とリンパ濾胞の有無が独立した予後不良因子であった。胸膜浸潤、リンパ濾胞、制御性Tリンパ球の有無による5年生存率は、それぞれ (42.3% vs 57.8%, p=0.008)、(19.2% vs 60.5%, p=0.002)、(18.8% vs 58.3%, p=0.003) であった。

【考 察】

本研究ではTIL密度とリンパ濾胞が肺扁平上皮癌手術症例の予後因子として有用かを検討した。その結果、リンパ濾胞形成、制御性Tリンパ球の存在、病理病期、胸膜浸潤が独立した予後因子であった。TIL密度やPD-L1の発現は予後に影響していなかった。今回の検討では、制御性Tリンパ球はリンパ濾胞形成のある集団に偏って観察された。

TILは腫瘍免疫において重要な役割を担っていると考えられており、近年はそのサブセットが注目されている。非小細胞肺癌において制御性Tリンパ球が予後因子という報告がある。我々の研究では、制御性Tリンパ球の存在がTILにおけるTリンパ球/Bリンパ球比率といった定量的な条件よりも予後因子として重要であると考えられた。

大腸癌における腫瘍周囲のリンパ濾胞形成をcrohn's-like lymphoid reactionと呼び、その存在はTILや病期とは独立した予後因子と報告されている。我々は胚中心を伴うCD20陽性のBリンパ球の集簇をリンパ濾胞とし、リンパ濾胞の存在を分析したところリンパ濾胞の存在は予後不良と関連していた。解析症例において制御性Tリンパ球陽性群は全てリンパ濾胞形成陽性であった。リンパ濾胞の周囲に制御性Tリンパ球が存在することが予後に関連する可能性が示唆された。

近年、肺扁平上皮癌の治療オプションとして挙げられるICIではPD-L1の発現が、その有効性に影響すると考えられている。これまでの報告では膀胱癌や卵巣癌においてPD-L1の発現は予後不良とされており、非小細胞肺癌におけるPD-1の発現も予後不良であるという報告がある。今回の検討症例

では、ICIは使用されておらず、PD-L1の発現そのものが予後と関連するかを評価したところ、今回の検討では肺扁平上皮癌手術症例におけるPD-L1の発現自体は予後因子とはいえ、リンパ濾胞形成との関連も認められなかった。

【結 論】

リンパ濾胞の出現、制御性Tリンパ球の存在と胸膜浸潤は、肺扁平上皮癌手術症例において独立した予後不良因子であった。その一方でTIL密度やPD-L1発現は予後因子ではなかった。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

申請論文は、肺扁平上皮癌手術症例に対し手術検体において腫瘍浸潤リンパ球（tumor infiltrating lymphocyte：TIL）とリンパ濾胞の形成について予後との関連を後方視的に検討したものである。さらにTILのサブセットを解析するために免疫組織学的染色（CD3、CD4、CD8、CD20、CD25、PD-L1）を行った。TILの密度を3段階に分類し、TILにおけるT/Bリンパ球比をCD3/CD20比で評価した。リンパ濾胞は胚中心を伴うCD20+リンパ球の集簇で確認した。全生存期間において単変量解析でリンパ濾胞形成、脈管浸潤、胸膜浸潤、病理病期が予後因子であった。TIL密度、T/Bリンパ球比、PD-L1発現は予後因子ではなかった。CD4⁺CD25⁺リンパ球はすべてリンパ濾胞を伴っていた。多変量解析では胸膜浸潤あり、リンパ濾胞形成症例が独立した予後不良因子であった。肺扁平上皮癌手術症例における胸膜浸潤、リンパ濾胞形成とCD4⁺CD25⁺リンパ球の存在は予後不良因子であると結論づけている。

【研究方法の妥当性】

申請論文は、獨協医科大学病院呼吸器外科において2010年1月から2012年12月に根治切除を施行した肺扁平上皮癌症例72例を対象とし、腫瘍の手術検体をパラフィン包埋してhematoxylin and eosin（H.E.）染色および免疫組織学的染色（CD3、CD4、CD8、CD20、CD25、PD-L1）を行った。TILの密度や濾胞形成の有無について検討している。組織分類についてはWorld Health Organization（WHO）病理組織分類に沿って検討し、病期分類はTNM分類第7版を使用している。予後解析は全生存期間を用いている。研究方法としては、当該分野の過去の知見から考えても妥当であると考えられる。

【研究結果の新奇性・独創性】

これまでの報告でTILは様々な癌腫（メラノーマ、大腸癌、卵巣癌、乳癌、膵臓癌）において腫瘍免疫に重要な役割を果たしているとされている。しかし肺扁平上皮癌におけるTILの予後との関連についての報告は認めない。またTILによるリンパ濾胞の形成と予後の関連については大腸癌において予後良好とする報告はあるが、肺扁平上皮癌では認めない。本研究は手術症例を対象とした研究で、全生存期間に注目し、肺扁平上皮癌におけるリンパ濾胞形成が予後不良であるとしている。そしてその理由の一つとしてTILにおけるリンパ濾胞周囲に存在する制御性T細胞（regulatory T cell：Treg）を含めたCD4⁺CD25⁺リンパ球が腫瘍免疫の抑制に関与した可能性が考えられるとしており、

新奇性、独創性があると評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文では肺扁平上皮癌手術症例においてリンパ濾胞形成が予後不良因子であると結論している。これは腫瘍免疫における液性免疫関与の可能性を示唆する大変意義深い研究と評価できる。

【当該分野における位置付け】

申請論文は腫瘍免疫における液性免疫の関与を示唆しており、現在明確な機構が解明できていないこの領域において機序の解明に意義のある研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は呼吸器外科専門医の資格を有しており、呼吸器外科の実践を学びつつ本研究の立案・遂行し貴重な知見を得ている。その成果はインパクトファクターを有するThoracic Cancerに掲載されており、申請者の研究能力は高いと評価する。

【学位授与の可否】

本論文は、独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野に対する貢献度も高い。よって、博士（医学）の学位授与に相応しいと判定した。

（主論文公表誌）

Thoracic Cancer

(10 : 219-225, 2019)