

氏名	高倉 裕明
授与した学位	博士
専攻分野の名称	歯学
学位授与番号	博甲第5488号
学位授与の日付	平成29年3月24日
学位授与の要件	医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)
学位論文の題目	The Immunological Impact of Chemotherapy on the Tumor Microenvironment of Oral Squamous Cell Carcinoma (口腔扁平上皮癌に対する術前化学療法のがん微小環境に及ぼす免疫学的変化)
論文審査委員	長塚 仁 教授 西田 崇 准教授 佐々木 朗 教授

学位論文内容の要旨

【背景と目的】

口腔扁平上皮癌の主な治療法は外科療法・化学療法・化学放射線療法であるが、最近、免疫チェックポイント療法をはじめとする免疫療法が大きく着目されている。その中で、腫瘍組織の免疫環境が免疫療法の効果のみならず化学療法などの治療成績に影響を与えていることが示されており、腫瘍組織の免疫環境を改善することの重要性が認識されている。既存の抗がん薬などが、がん微小環境に対して何らかの影響を示すことも明らかとなっており、がん化学療法と免疫療法を併用した複合的がん免疫療法も注目されている。また、様々な悪性腫瘍においてPD-L1の発現が予後判定や抗PD-1抗体の治療効果に影響を及ぼしていることが示されているものの、口腔扁平上皮癌では明らかでない。

そこで、本研究では、口腔扁平上皮癌における術前化学療法のがん微小環境の免疫病態に及ぼす影響を明らかにするとともに、免疫チェックポイント分子の発現と予後との関連を明らかにすることを目的とした。

【対象】

対象は2004年から2007年に岡山大学病院口腔外科（病態系）で根治手術を施行した口腔扁平上皮癌患者で、術前化学療法非施行群（nNAC群）10例と術前化学療法施行群（NAC群）8例の2群に分類した。なお、対象患者の年齢・性別・臨床ステージおよび術前末梢血リンパ球数に関して両群で差を認めなかった。

【方法】

口腔扁平上皮癌切除標本を用いて、T細胞についてはCD4・CD8, NK細胞マーカーであるCD56, 制御性T細胞マーカーであるFOXP3・CCR4, その発現の低下が免疫逃避の主要な原因となるHLA Class I, 新しい標的分子として期待されるがん・精巣（Cancer/Testis; CT）抗原, および免疫チェックポイント分子の発現について、免疫組織化学染色を行い観察した。2群間での腫瘍浸潤リンパ球数や発現率の変化を比較し、抗がん薬のがん微小環境の免疫病態に及ぼす影響について解析した。

また、 Kaplan-Meier法にて生存曲線を作成し、両群の生存率を log-rank 検定を用いて比較することで、口腔扁平上皮癌における免疫チェックポイント分子の発現と予後との関連について検証した。

【結果】

1) 腫瘍局所における免疫細胞の浸潤度

NAC 群において腫瘍周囲間質への CD56 陽性細胞数が有意に多かったが、CD4・CD8・FOXP3・CCR4 陽性細胞数に関しては両群で有意差を認めなかった。腫瘍周囲および腫瘍蜂巣内へ浸潤している CD8 陽性細胞数は化学療法施行後も維持されていた。

2) HLA Class I の発現

腫瘍細胞での HLA Class I 発現が弱い症例は 2 例であったが、いずれも化学療法非施行の症例であり、NAC 群における HLA Class I 発現の down regulation はみられなかった。

3) CT 抗原の発現

腫瘍細胞での CCDC62-2 の発現は両群で有意差を認めなかったが、NAC 群において MAGE-A の高発現がみられた。

4) 免疫チェックポイント分子の発現

NAC 群において腫瘍巣内へ浸潤する PD-1 陽性細胞数は低下傾向を示し、腫瘍細胞の PD-L1 の発現も低下している症例を多く認めた。

5) PD-L1 発現と予後

NAC (PD-L1 弱発現) / nNAC (PD-L1 中～高発現) 群間での 5 年無病生存率において有意差を認めなかった。

【考察】

一般に多くの抗がん薬は免疫抑制作用があり、免疫療法の組み合わせとして好ましくないと考えられてきた。しかし薬剤、投与量、投与のタイミングによっては免疫増強、免疫抑制解除を目的として使用できることが近年報告され、化学療法による多くの免疫学的利点が再認識されようとしている。本研究において、術前化学療法が腫瘍局所における腫瘍浸潤リンパ球数を増加あるいは維持すると同時に、腫瘍抗原の発現を亢進、HLA Class I などの癌免疫応答の感受性を規定する因子にも影響を及ぼすことで、免疫応答増強に作用して可能性が示唆された。このことは、病期や治療内容などの詳細な検討が必要ではあるものの、ある種の抗がん薬が、標的となる腫瘍に炎症を惹起させ、免疫応答を起しやすいがん微小環境を整える効果を有する可能性を示しており、今後の複合的がん免疫療法の有用性を感じさせるものであった。

一方、免疫チェックポイント分子は抗腫瘍免疫の制御に関与し、PD-L1 の腫瘍での発現と予後との相関が、肺がん・大腸がんなどさまざまな悪性腫瘍にて報告されている。本研究において、口腔扁平上皮癌に対する術前化学療法により PD-L1 の発現が低下する傾向にあることが明らかとなったが、NAC(PD-L1 弱発現)群と nNAC(PD-L1 中～高発現)群において 5 年無病生存率に有意差はなく、PD-L1 の発現と予後との関連は明らかとならなかった。口腔扁平上皮癌においても PD-L1 は予後予測因子として有力な候補のひとつとして考えられるが、本研究において比較対象となった症例数が少なく十分ではないことから、今後様々な臨床病理学的特徴を有する、より多くの症例を対象に検討を行う必要があると考えられた。

論文審査結果の要旨

悪性腫瘍の治療法において、最近、免疫チェックポイント療法をはじめとする免疫療法が大きく着目されている。その中で、腫瘍組織の免疫環境が免疫療法の効果のみならず化学療法などの治療成績に影響を与えていることが示されており、腫瘍組織の免疫環境を改善することの重要性が認識されている。既存の抗がん薬などが、がん微小環境に対して何らかの影響を示すことも明らかとなってきたおり、がん化学療法と免疫療法を併用した複合的がん免疫療法も注目されている。また、様々な悪性腫瘍においてPD-L1の発現が予後判定や抗PD-1抗体の治療効果に影響を及ぼしていることが示されているが、口腔扁平上皮癌では明らかでない。そこで、本研究では、口腔扁平上皮癌における術前化学療法のがん微小環境の免疫病態に及ぼす影響を明らかにするとともに、免疫チェックポイント分子の発現と予後との関連をも明らかにすることを目的とした。

本研究の対象は、口腔扁平上皮癌患者 18 例で、術前化学療法非施行群（nNAC 群）10 例と術前化学療法施行群（NAC 群）8 例の 2 群に分類した。口腔扁平上皮癌切除標本を用いて、免疫組織化学染色を行い、術前化学療法による両群の免疫担当細胞の陽性細胞数や免疫関連因子の発現率の変化を比較し、抗がん薬のがん微小環境の免疫病態に及ぼす影響について解析した。また両群の生存率を比較し、口腔扁平上皮癌における免疫チェックポイント分子の発現と予後との関連について検証した。

結果は以下の通りであった。

1. NAC群では、腫瘍周囲間質へ浸潤しているCD56陽性細胞数が有意に多かったが、CD4、CD8、FOXP3、CCR4陽性細胞数に関しては両群で有意差を認めなかった。腫瘍細胞内に浸潤しているCD8陽性細胞数は化学療法施行後も維持されていた。また、NAC群における腫瘍細胞でのHLA Class I 発現のdown regulationはみられなかった。さらに腫瘍細胞における腫瘍抗原の発現に関して、CCDC62-2の発現には両群で差はなかったが、NAC群においてMAGE-Aの高発現がみられた。
2. NAC群において腫瘍胞巣内へ浸潤するPD-1陽性細胞数は低下傾向を示し、腫瘍細胞のPD-L1の発現も低下している症例を多く認めた。nNAC（PD-L1中～高発現）/NAC（PD-L1低発現）群間での5年無病生存率において有意差を認めなかった。

術前化学療法が、腫瘍局所における腫瘍浸潤リンパ球数を増加あるいは維持すると同時に、腫瘍抗原の発現を亢進、HLA Class I などのがん免疫応答の感受性を規定する因子にも影響を及ぼすことで、免疫応答増強に作用していることが明らかとなった。本研究結果は、ある種の抗がん薬が免疫応答を起こしやすいがん微小環境を整える効果を有する可能性を示すものであり、今後の複合的がん免疫療法に向けた重要な知見であると考えられる。また本研究では予後との関連は明らかとならなかったが、免疫チェックポイント分子の発現について検討することは、口腔癌の免疫治療の有用性を検討するうえで有意義であると考えられる。

よって、審査委員会は本論文に博士（歯学）の学位論文として価値があると認めた。