

腫瘍および宿主両面からみた複合バイオマーカー探索にもとづく 膵癌個別化治療への展開

山口大学大学院医学系研究科 消化器・腫瘍外科学
中島 正夫

1. 諸言

膵癌は、仮に肉眼的に根治切除を施行しても早期より遠隔転移再発をきたす可能性が高いため、その治療成績は依然としてきわめて不良である。その原因の一つとして、膵癌は他癌腫とは異なり、臨床上指摘し得ない微小転移が切除時にはすでに併存していることが強く示唆される。したがって、膵癌根治のためには手術のみならず、これら微小転移の制御を含めた集学的治療が必須となる。近年集学的治療の一つとして、術前化学療法（Neo adjuvant chemotherapy : NAC）の有用性が報告され、今後標準療法となる可能性が非常に高い。申請者らも、膵癌に対する NAC および外科的切除を組み合わせた集学的治療の前向き観察研究を 2017 年より施行し、ある一定の治療効果を得ている。本研究は、患者の抗腫瘍免疫状態に着目し、膵癌に対する集学的治療としての NAC 適格症例・レジメン選定のため、新たな複合マーカーの探索を目的とする。

2. 方法

当院で 2021 年 12 月までに膵癌に対して集学的治療として NAC を施行した患者 30 名を対象とした。初回 NAC 投与前 7 日以内および最終 NAC 投与後 1 ヶ月以降で手術前に血液検体を採取し、末梢血単核球（PBMC）を密度勾配遠心法を用いて分離・保存した。同一患者の NAC 前後の PBMC を両方確保し得た症例の中で、術後早期（半年以内）に再発を認めた 3 例と、無再発（1 年以上）の 3 例を対象に、PBMC の表面分子発現状況に関してフローサイトメトリーによる解析を行い、リンパ球フェノタイプの評価を行った。解析内容は、T 細胞上の免疫チェックポイント分子（PD-1、LAG3、TIM3、TIGIT、CTLA-4 など）発現状況、抑制性免疫細胞（MDSC、4 つのサブタイプの制御性 T 細胞等）の割合、メモリーフェノタイプ（セントラルメモリー、エフェクターメモリー、幹細胞様メモリー）である。そして、リンパ球フェノタイプと NAC 奏効状態との相関関係について解析を行った。

3. 結果

表 1 に、6 症例の NAC 前後リンパ球フェノタイプ解析結果を示す。その結果、CD4⁺および CD8⁺ T 細胞上の免疫チェックポイント分子発現割合、メモリーフェノタイプおよび制御性 T 細胞の割合に関しては、早期再発群 (Pt. 1-3) と無再発群 (Pt. 4-6) で明らかな差は認められなかった。一方で、抑制性免疫細胞中の MDSC の割合に関しては、早期再発群で NAC 後に増加していた一方で、無再発群では NAC 後に減少していた。

表 1 術前化学療法施行前後の免疫細胞の割合 (%)

Pt No.		CD4 ⁺ T cells (%)				CD8 ⁺ T cells (%)				Treg / lymphocyte (%)	MDSC / Lymphocyte (%)
		PD1	TIM3	LAG3	TIGIT	PD1	TIM3	LAG3	TIGIT		
1	Pre	48	7	28	58	79	60	74	84	1.56	3.5
	Post	46	9	36	53	82	67	75	86	1.36	7.2
2	Pre	23	2	22	54	42	9	79	94	3.5	3.09
	Post	28	7	6	45	32	20	32	87	3.6	6.17
3	Pre	22	11	5	17	37	23	14	48	1.97	1.38
	Post	10	9	2.2	11	26	23	7	52	1.46	1.83
4	Pre	23	4.4	2.1	22	18.6	9	3.5	26.8	3.5	6.67
	Post	12.9	14.1	2	12	12.5	12.8	4.2	25.5	3.6	4.3
5	Pre	17	17	14.5	18.2	29.2	19.4	13.9	56.3	2.5	2.66
	Post	20	26.2	14	20.4	28.6	21.4	13.5	47.7	2.3	1.85
6	Pre	19.3	21.4	16.7	18.8	24.8	16.5	18.2	32.4	3.1	4.9
	Post	21.6	25.3	14.9	36.8	24.7	19.4	13.3	57.2	4.5	3.8

Pt No.		CD4 ⁺ T cells (%)				CD8 ⁺ T cells (%)			
		TEMRA	Naïve	EM	CM	TEMRA	Naïve	EM	CM
1	Pre	10.7	17.6	41.2	30.5	42.4	16.3	25.7	15.6
	Post	7	17.9	42.1	33	50.8	23.2	14.7	11.2
2	Pre	4.5	16.7	41.1	37.8	60.5	20.5	10.2	8.85
	Post	3.64	14.7	43.1	38.6	68.9	16.1	7.96	7
3	Pre	4.84	23.6	42.3	29.3	64.5	15.3	12.9	7.26
	Post	3.4	34.8	32.4	29.4	43.8	18.3	21.1	16.8
4	Pre	3.1	43.4	19.4	34.1	11.5	46.3	21.1	21.1
	Post	15.1	12.8	50.2	21.9	23.3	17.3	46.9	12.6
5	Pre	13.1	34	27.4	25.4	50	15.8	25.4	8.9
	Post	25.3	15.5	39.2	20	59	10.2	24.7	5.9
6	Pre	11.4	39.4	21.6	27.6	40	10.6	20	29.5
	Post	14.5	38.8	24.3	22.5	42	11.9	19.2	27

Abbreviations: TEMRA, terminally differentiated effector memory; EM, effector memory; CM, central memory

4. 考察

今回の検討では、PBMC 中の MDSC の割合が NAC 奏効状態を反映する可能性が示唆された。当初の計画は、NAC 前・後のリンパ球サブセットの変化についてマスサイトメトリーを用いて解析し、患者アウトカムと比較することであった。実際は、マスサイトメトリーを行う前に、前実験としてまずフローサイトメトリーにおける検討を行った。その結果、MDSC 以外の想定した分子に関して明らかな予後との関係性を見出せなかったため、このままマスサイトメトリー解析を行っても有益な情報は得られないと判断した。一方で、MDSC の変化は確認できたため、やはり PBMC を解析することで肺癌に対する NAC 奏効状態の一部を評価しうる可能性が示唆された。乳癌においては同様の報告がすでに存在し

ており、膵癌においてはゲムシタビンが抑制性免疫細胞を減少させると報告されている¹⁻³⁾。そのため、われわれが想定していない分子についても検討を行う必要があると考え、現在、NGSによる包括的な遺伝子発現解析を開始している。今後は、PBMCのNGSによる遺伝子発現解析の結果を、GSEAやPathway analysisを用いて引き続き解析を継続する。予後と関係性がある遺伝子の絞り込みを行い、その関連する分子に関してフローサイトメーターを用いて妥当性を検討する予定である。

5.結語

膵癌に対するNAC前後のPBMCを解析することで、NAC奏効状態を評価しうる可能性が示唆された。

6.文献

- 1) Kaewkangsan V, Verma C, Eremin JM, et. al. Tumour-draining axillary lymph nodes in patients with large and locally advanced breast cancers undergoing neoadjuvant chemotherapy (NAC): the crucial contribution of immune cells (effector, regulatory) and cytokines (Th1, Th2) to immune-mediated tumour cell death induced by NAC. *BMC Cancer*. 2018;18(1):123.
- 2) Wesolowski R, Duggan MC, Stiff A, et. al. Circulating myeloid-derived suppressor cells increase in patients undergoing neo-adjuvant chemotherapy for breast cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2017;66(11):1437-1447.
- 3) Eriksson E, Wenthe J, Irenaeus S, et. al. Gemcitabine reduces MDSCs, tregs and TGFβ-1 while restoring the teff/treg ratio in patients with pancreatic cancer. *J Transl Med*. 2016;14(1):282.

7.成果発表

なし