

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：72602

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2021

課題番号：17K15034

研究課題名(和文) 乳癌における免疫モニタリングと新規免疫治療の開発

研究課題名(英文) Immunological change by chemotherapy and development of immunotherapy for breast cancer

研究代表者

小野 麻紀子(Ono, Makiko)

公益財団法人がん研究会・有明病院 総合腫瘍科・副医長

研究者番号：30620992

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：乳癌は、原発巣のホルモン受容体(HR)・HER2発現が再発時に変化することが知られており、再発乳癌患者において、原発巣と再発巣のホルモン受容体・HER2、TIL発現など、免疫プロファイルの変化を検討した。原発・再発巣のTIL、PD-L1発現の解析を行い、乳癌全体でPD-L1の発現割合が低く、原発に比べ、再発巣では、TILとともに、さらに低下することが確認された。また肺転移では、有意にPD-L1発現が高い一方、軟部組織や肝転移では、PD-L1の発現が低いことが示された。HER2低発現(HER2-low)は、ホルモン陽性乳がんにおいて、有意に再発巣でHER2-lowの割合が増えることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において、乳癌において、再発時は、原発時とは異なる分子生物学的特徴を有することが明らかになった。乳癌は、再発までの期間が長く、特にホルモン陽性乳がんにおいては、20年の経過を経ることもありうる。原発手術の時の化学療法やその後のホルモン療法によって、腫瘍細胞や微小環境が変化することが考えられ、再発時の検体採取の重要性が再確認された。PD-L1やHER2低発現は、乳癌の薬物療法の選択に直結するバイオマーカーであり、今後は、生検以外のリキッドバイオプシーなどの新たなツールの開発も重要な課題と考えられた。

研究成果の概要(英文)：Breast cancer is known to alter hormone receptor (HR) and HER2 expression between primary and recurrent tumors, and we examined changes in immune profiles, including hormone receptor, HER2, and TIL expression, between primary and recurrent tumors in patients with recurrent breast cancer. Analysis of TIL and PD-L1 expression in primary and recurrent tumors showed that the proportion of PD-L1 expression was low in breast cancer as a whole, and was further decreased in recurrent tumors, along with TIL, compared to primary tumors. HER2 low expression (HER2-low) was shown to significantly increase the proportion of HER2-low in recurrent tumors in hormone-positive breast cancer.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：乳癌

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

我が国において乳癌に対する治療の開発は急務である。近年、癌細胞のみならず微小環境を標的とした治療開発が進められ、中でも、免疫細胞を標的とした免疫療法が開発が進んでいる。申請者も、微小環境に注目して研究を行ってきた。乳癌では、術前化学療法後に残存した治療抵抗性の腫瘍に対する、術後の追加治療による予後の改善が示唆されている。これらの化学療法による修飾もあり、乳癌の再発時には、原発と異なる生物学的特徴を有することが示されている。

### 2. 研究の目的

これらの背景から、本研究は、乳癌をサブタイプ別に、化学療法前後の免疫環境をモニタリングし、再発時の腫瘍の微小環境を明らかにすることにより、乳癌の生物学的特徴を明らかにし、新たな治療標的を探索することを目的とする。

### 3. 研究の方法

#### (1) 原発と再発巣における腫瘍浸潤リンパ球の変化に関する研究

同一患者の乳癌原発と再発巣を用いて、HE染色にて、間質のTILの多寡についてスコアリングする。Tumor-infiltrating lymphocytes (TILs)は、ガイドライン1に準じて判定し、がん胞巣内にある、間質内のTILsを計測した。Heterogenousな場合は、全体の平均で評価し、リンパ節は節外浸潤を評価した。TILは、10%以上を高発現と定義

#### (2) 免疫チェックポイント分子の解析

原発と再発巣におけるPD-L1発現について比較検討を行う。PD-L1の発現は、腫瘍組織の免疫細胞の発現を検討し、1, 5, 10%をカットオフとして、4段階のスコアリングで判定した。

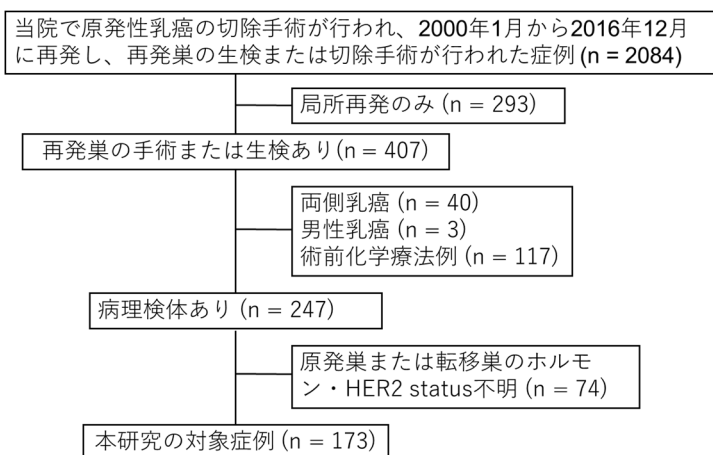
#### (3) ホルモン受容体とHER2発現の変化に関する検討

原発巣と再発巣における、ホルモン受容体やHER2発現の変化について検討する。

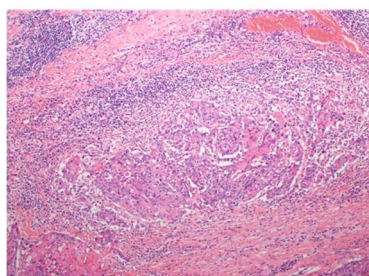
### 4. 研究成果

#### (1) 原発と再発巣における腫瘍浸潤リンパ球の変化に関する研究

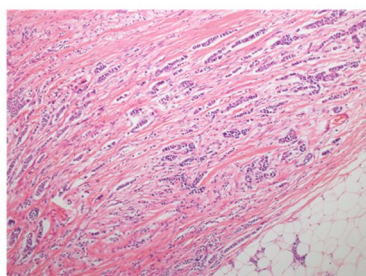
##### ・対象症例



高TILs



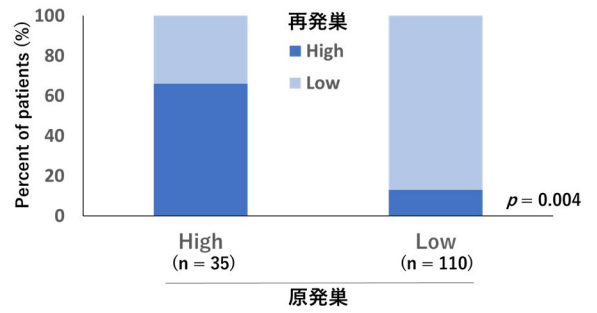
低TILs



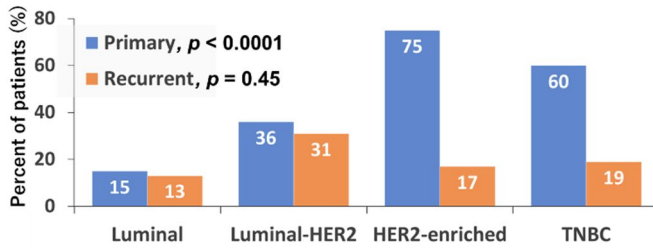
## 患者背景

		No. of patients (%) (n = 173)
年齢	≤ 50 / > 50	85/88 (49/50)
閉経	前/後	88/85 (51/49)
Stage	1/2/3	43/112/18 (25/65/10)
Pathological node	0/1-3/4-9/10	73/54/24/22 (42/31/14/13)
組織型	IDC/ILC/others	159/5/9 (92/3/5)
ER (n = 168)	+/-	144/24 (86/14)
PgR (n = 168)	+/-	123/45 (73/27)
HER2 (n = 154)	+/-	19/135 (12/88)
サブタイプ	Lum/Lum-H/HER2-E/TNBC	119/15/4/15 (78/10/2/10)
術後化学療法	あり/なし	138/35 (80/20)
術後ホルモン療法	あり/なし	131/42 (76/24)
再発巣	肝/肺/骨/皮膚・軟部組織/リンパ節/その他	33/47/28/27/24/14 (19/27/16/15/14/8)

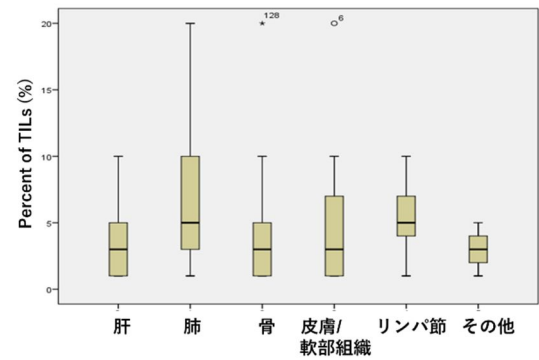
## 原発巣と再発巣のTILsの変化



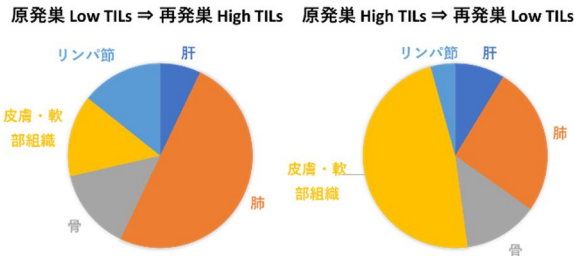
## 原発巣と再発巣の高TILsの変化



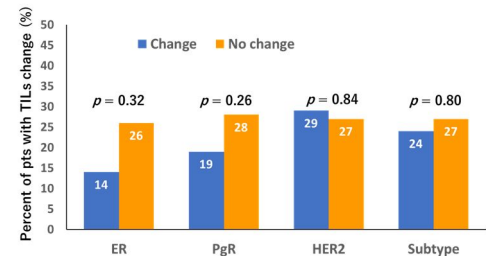
## 転移臓器別のTILs発現



## 原発巣と再発巣で異なるTILs発現



## プロファイル変化とTILs変化



### 結果のまとめ：

- ・原発巣と再発巣では、TILs の発現が有意に異なり、再発巣では、TILs の発現が低下していた。サブタイプ別にみると、原発巣では、HER2-enriched, TNBC の 60-75% で高発現していたが、再発巣では、サブタイプに関わらず、発現が低い傾向が見られた。
- ・再発巣では、転移臓器によって、TILs の発現に、有意差を認め、肺・リンパ節転移で高発現し、サブタイプ間で有意差なし(HER2-enriched, TNBC の高発現は 20% 弱に減少)
- ・原発巣の TILs の発現が低くても、肺転移症例では、TILs 発現の高い症例を認めた。

## (2)免疫チェックポイント分子の解析

PD-L1 IC	Recurrence				P value
Primary	0	1	2	3	0.0001
0	85 (81)	8 (7)	7 (7)	5 (5)	
1	15 (75)	4 (20)	0 (0)	1 (5)	
2	7 (50)	5 (36)	1 (7)	1 (7)	
3	5 (38)	1 (8)	5 (38)	2 (15)	

原発巣では、全体の 31%で PD-L1 陽性であったが、再発巣では、陽性率は 26%と低下していた。内訳をみると、原発巣で陰性であっても、うち約 20%において、再発巣で陽転化していた一方、原発巣で陽性だった症例の 50%強が、再発巣で陰転化していた。

## (3)ホルモン受容体と HER2 発現の変化に関する検討

Percent of patients (%)	ER (n=167)	PgR (n=166)	HER2(n=135)
Positive → Negative	7	39	6
Negative → Positive	25	20	7
Subtype change	15		

原発巣と再発巣では、ホルモン受容体、特に PgR の変化を認め、陰転化・陽転化を合わせると、50%程度となった。結果として、サブタイプ変化を認めたのは、全体の 15%となり、治療ストラテジーの変更を考慮し、再発時のプロファイル確認は重要と考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kitano A, Ono M, Yoshida M, Noguchi E, Shimomura A, Shimoi T, Kodaira M, Yunokawa M, Yonemori K, Shimizu C, Kinoshita T, Fujiwara Y, Tsuda H, Tamura K.	4. 巻 -
2. 論文標題 Tumour-infiltrating lymphocytes are correlated with higher expression levels of PD-1 and PD-L1 in early breast cancer.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 ESMO Open	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1136/esmooopen-2016-000150	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 0件/うち国際学会 5件）

1. 発表者名 Makiko Ono1, Tomo Osako2, Tomoko Shibayama3, Mari Hosonaga3, Kokoro Kobayashi3, Takayuki Kobayashi3, Takayuki Ueno3, Yoshinori Ito3, Shinji Ohno3, Shunji Takahashi1
2. 発表標題 Association of neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) and tumor-infiltrating lymphocyte (TIL) with progression-free survival (PFS) for first-line treatment in patients with recurrent breast cancer
3. 学会等名 GBCC2021（国際学会）
4. 発表年 2020年～2021年

1. 発表者名 小野麻紀子、大迫智、平良眞一郎、柴山朋子、小林心、小林隆之、上野貴之、伊藤良則、大野真司、高橋俊二
2. 発表標題 乳癌再発時における好中球・リンパ球比と転移巣の腫瘍浸潤リンパ球に関する検討.
3. 学会等名 第27回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Makiko Ono, Tomo Osako, Shinichiro Taira, Tomoko Shibayama, Mari Hosonaga, Kokoro Kobayashi, Takayuki Kobayashi, Takayuki Ueno, Yoshinori Ito, Shinji Ohno, Shunji Takahashi
2. 発表標題 Clinical significance of neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in primary and recurrent breast cancer
3. 学会等名 GBCC2019（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Makiko Ono, Tomo Osako, Shinichiro Taira, Tomoko Shibayama, Kokoro Kobayashi, Takayuki Kobayashi, Naoya Gomi, Takuji Iwase, Takayuki Ueno, Yoshinori Ito, Shinji Ohno, Futoshi Akiyama, Shunji Takahashi
2. 発表標題 Differences of TILs, hormone receptor, and HER2 status between primary and metastatic tumors.
3. 学会等名 ASCO Annual Meeting 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makiko Ono, Tomo Osako, Shinichiro Taira, Tomoko Shibayama, Mari Hosonaga, Kokoro Kobayashi, Takayuki Kobayashi, Takayuki Ueno, Yoshinori Ito, Shinji Ohno, Shunji Takahashi
2. 発表標題 Clinical significance of neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in primary and recurrent breast cancer
3. 学会等名 GBCC2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小野麻紀子、大迫智、平良眞一郎、柴山朋子、小林心、小林隆之、五味直哉、岩瀬拓士、上野貴之、伊藤良則、大野真司、秋山太、高橋俊二
2. 発表標題 乳癌の原発巣と再発巣におけるTILとホルモン受容体・HER2発現の変化
3. 学会等名 第26回日本乳癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makiko Ono, Tomo Osako, Shinichiro Taira, Tomoko Shibayama, Kokoro Kobayashi, Takayuki Kobayashi, Naoya Gomi, Takuji Iwase, Takayuki Ueno, Yoshinori Ito, Shinji Ohno, Futoshi Akiyama, Shunji Takahashi
2. 発表標題 Differences of TILs, hormone receptor, and HER2 status between primary and metastatic tumors
3. 学会等名 第16回日本臨床腫瘍学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野麻紀子、大迫智、平良眞一郎、柴山朋子、小林心、小林隆之、五味直哉、岩瀬拓士、上野貴之、伊藤良則、大野真司、秋山太、高橋俊二
2. 発表標題 乳癌の原発巣と再発巣におけるTILとホルモン受容体・HER2発現の変化
3. 学会等名 日本乳癌学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Makiko Ono, Tomo Osako, Shinichiro Taira, Tomoko Shibayama, Kokoro Kobayashi, Takayuki Kobayashi, Naoya Gomi, Takuji Iwase, Takayuki Ueno, Yoshinori Ito, Shinji Ohno, Futoshi Akiyama, Shunji Takahashi
2. 発表標題 Differences of TILs, hormone receptor, and HER2 status between primary and metastatic tumors
3. 学会等名 米国臨床腫瘍学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小野麻紀子、大迫智、平良眞一郎、柴山朋子、小林心、小林隆之、五味直哉、岩瀬拓士、上野貴之、伊藤良則、大野真司、秋山太、高橋俊二
2. 発表標題 乳癌の原発巣と再発巣におけるTILとホルモン受容体・HER2発現の変化
3. 学会等名 日本臨床腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------