

令和 4 年 5 月 19 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18146

研究課題名（和文）イムノスコアを用いた食道癌化学療法による免疫微小環境評価の標準化と臨床応用

研究課題名（英文）Immunoscore in esophageal cancer evaluate the tumor microenvironment and predict prognosis.

研究代表者

野間 俊樹 (Noma, Toshiki)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号：20804462

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：食道癌では未だ報告のない、切除標本における腫瘍中心部と辺縁部の腫瘍浸潤リンパ球（TIL）を測定しスコア化する新評価法であるImmunoscore（IS）が、術後の予後を予測する可能性が示された。また、化学療法前内視鏡生検標本を用いたTIL評価による化学療法の効果予測の可能性も明らかにした。今回、食道癌外科切除標本300例のTILとしてCD3及びCD8陽性リンパ球を免疫染色し、ソフトウェアを用いてIS化し検討した結果、特に進行症例においてIS高値な程、予後良好となった。また同様に化学療法前の食道癌内視鏡生検標本146例で生検中のTIL密度が高いほど、術後の組織学的治療効果が高いことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回の研究で、食道癌の術前無治療外科切除標本においては、immunoscoreが高いほど良好な予後と相関し、術前化学療法前の内視鏡生検標本では、治療前のTIL密度が高いほど化学療法が奏功した。本研究での知見により、現在、食道がんのみならず種々のがんで、国際的に使用されている、TMN分類に代わる、新たな免疫予後予測の評価法として可能性を見出した。また、化学療法前の生検標本を用いて、治療効果を予測することで、患者さん個々のオーダーメイド治療の確立に大きく貢献し、最終的には食道がん全体の治療成績の改善につながるものと期待される。

研究成果の概要（英文）：Immunoscore (IS), a new evaluation method for esophageal cancer that count and analyze tumor infiltrating lymphocytes (TIL) in the center and margin of tumor in resected specimens, which has not yet been reported in esophageal cancer, predicts postoperative prognosis. In addition, we found that evaluation of TIL using endoscopic biopsies of esophageal cancer before chemotherapy predicted the efficacy of chemotherapy. In this study, immunohistochemical staining of CD3- and CD8-positive lymphocytes as TIL in 300 surgical specimens was performed and converted to IS using software. The results showed that the higher the IS, the better the prognosis, especially in advanced cases.

146 case of endoscopic biopsies of esophageal cancer before chemotherapy showed that the higher the TIL density, the better the postoperative pathological response.

研究分野：消化器外科学

キーワード：免疫 腫瘍浸潤リンパ球 食道癌 癌免疫微小環境 Immunoscore 化学療法 内視鏡生検 外科手術

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、がん治療としての免疫チェックポイント阻害薬の開発・導入に伴い、がん微小免疫環境の重要性が再認識されてきている。その中でも特に腫瘍浸潤リンパ球(TIL)は、抗腫瘍免疫において、主要な役割を果たすが、最近 TIL の新たな評価方法としてイムノスコア (IS: Immunoscore)が提案され、主に大腸がん領域で患者の予後と強く相関すると報告されている。しかし、食道がんにおいては、IS の評価自体の有用性やエビデンスは存在しない。

2. 研究の目的

今回、我々は、食道がんにおける Immunoscore (IS)評価の妥当性およびその予後予測における有用性、さらには TIL 評価の術前化学療法の治療効果予測の可能性について明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

術前無治療症例の外科切除標本を用いたイムノスコア 評価について

今回、根治手術を施行した術前無治療の食道がん 300 症例の切除標本のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)スライドにおいて、IS 評価法として CD3 抗体(monoclonal, Clone F 7.2.38, Dako)と CD8 抗体(monoclonal, Clone C8, 144B, Dako)についての組織免疫化学染色を行い、腫瘍の中心部と腫瘍周囲の浸潤辺縁部の TIL 数について 1 視野 500 μm^2 を複数視野分、ソフトウェア(Keyence BZ-X710/BZ-H3C)を用いて自動計測した。腫瘍の中心部と辺縁部それぞれにおいて、TIL 数の上位 5 視野を選択し、5 視野の合計 TIL 数の平均値をもとに、症例ごとに 0 から 4 点の IS スコアリングを行った(図 A, B)。

術前化学療法前の内視鏡生検検体を用いた TIL 評価について

術前化学療法として DCF(Docetaxel/Cisplatin/5-FU)または FAP(5-FU/Adriamycin/Cisplatin)療法後に根治手術を施行した食道がん 146 症例の治療前の内視鏡生検 FFPE スライドを用いて CD3・CD8 の組織免疫化学染色評価を行った。TIL 評価法に関しては、複数の生検腫瘍検体中の全ての TIL 細胞数を自動計測し、総腫瘍面積で除する事で TIL 密度(/1 μm^2)を算出、その中央となる値をもとに high 群、low 群に 2 群化した。

4. 研究成果

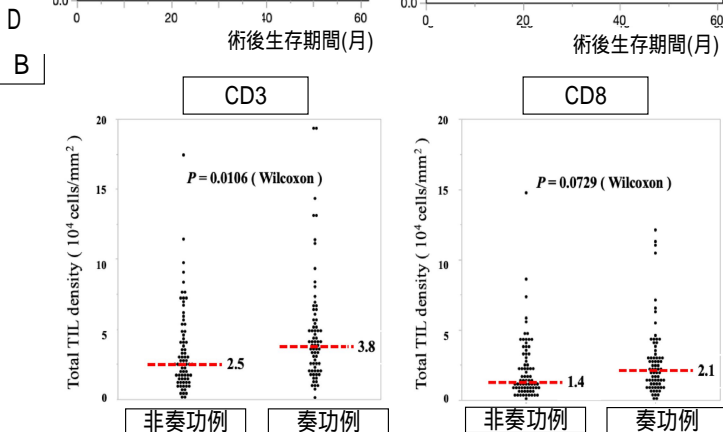
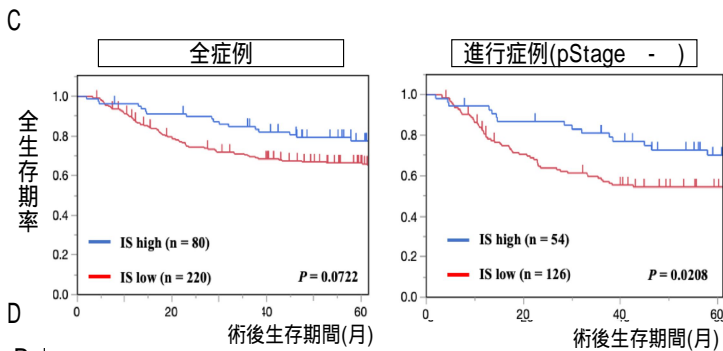
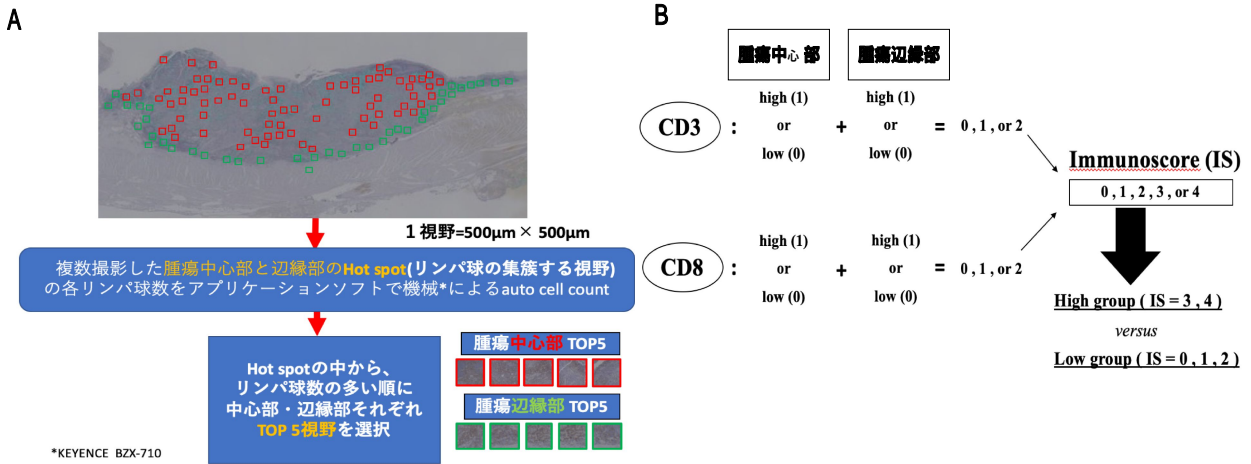
術前無治療症例の外科切除標本を用いたイムノスコア 評価について

CD3・CD8 の組織免疫化学染色の評価では、CD3・CD8 とともに中心部よりも辺縁部の方が多かった。さらに、この平均値を用いて IS 評価すると、IS の分布は 0 / 1 / 2 / 3 / 4 = 92(32%) / 76(25%) / 52(17%) / 32(10%) / 48(16%)となった。IS を 2 群 [IS-high (3-4 点) 群 vs IS-low (1-2 点) 群] に分けると、2 群間で Stage を含めた患者背景因子には差を認めなかった。予後に関しては、全症例においては IS-high 群は IS-low 群よりも予後良好な傾向があり、特に進行症例(Stage II-IV)においてよりその差は顕著であった(図 C)。また、生存期間の多変量解析では IS が独立した予後予測因子となるという結果であった。

術前化学療法前の内視鏡生検検体を用いた TIL 評価について

化学療法の奏効例 71 症例(組織学的 Grade2-3)は、非奏効例 75 症例(組織学的 Grade0-1b)と比較して、CD3 陽性リンパ球数および CD8 陽性リンパ球数が多いという結果であった(図 D)。また、CD3 陽性リンパ球数に関しては生存期間の多変量解析において独立した予後予測因子となった。

これらのことから、食道がんの無治療外科切除標本においては、イムノスコアが高いほど良好な予後と相関し、術前化学療法前の内視鏡生検検体では、治療前の TIL 密度が高いほど化学療法が奏功しており、特に CD3 陽性リンパ球数が多い方が予後良好となる可能性が示された。



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 野間 俊樹	4. 巻 -
2. 論文標題 Immunoscore Signatures in Surgical Specimens and Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Pretreatment Biopsy Predict Treatment Efficacy and Survival in Esophageal Cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Annals of Surgery	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） 10.1097/SLA.00000000000005104	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3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 野間 俊樹
2. 発表標題 食道癌における腫瘍浸潤リンパ球の新規評価法(Immunoscore)と予後の検討
3. 学会等名 日本食道学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野間 俊樹
2. 発表標題 Immunoscore in esophageal cancer evaluate the tumor microenvironment and predict prognosis.
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 野間 俊樹
2. 発表標題 Immunoscore as a prognostic marker in esophageal cancer
3. 学会等名 International Society for Diseases of the Esophagus (国際学会)
4. 発表年 2020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
研究協力者	宮田 博志 (Miyata Hiroshi)	大阪国際がんセンター 消化器外科	
研究協力者	杉村 啓二郎 (Sugimura Keijiro)	大阪国際がんセンター 消化器外科	
研究協力者	森井 英一 (Morii Eiichi)	大阪大学医学研究科 病態病理学	
研究協力者	大島 健司 (Ohshima Kenji)	大阪大学医学研究科 病態病理学	
研究協力者	本間 圭一郎 (Honma Keiichiro)	大阪国際がんセンター 病理部	

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
---------	---------