

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：32633

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K17582

研究課題名（和文）腫瘍浸潤リンパ球に基づく乳房専用PETを用いた新規乳癌術前治療効果予測モデル構築

研究課題名（英文）A new model for predicting the effect of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer by dedicated breast Positron Emission Tomography based on tumor infiltrating lymphocytes

研究代表者

木村 優里 (KIMURA, Yuri)

聖路加国際大学・聖路加国際病院・常勤嘱託医

研究者番号：50806130

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）：乳癌の予後および薬物療法に対する治療感受性に関与する腫瘍浸潤リンパ球（TILs）は、治療前のPET-CT、乳房専用PETのSUVmaxと関連していることを見出した。また、さらに詳細なTILの分画との関連を評価し、細胞傷害性リンパ球のCD8と、抑制的に働くFOXP3の比をとったCD8/FOXP3比は、FDG-PET/CTのSUVmax値と相関し、術前化学療法の治療効果（pCR）とも有意に関連することを明らかにした。本研究において、治療前のPET-CT、乳房専用PETは腫瘍微小環境における腫瘍免疫応答を反映している可能性が示唆され、乳癌薬物療法の治療効果予測につながる可能性があることが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳癌には腫瘍内不均一性があるため、腫瘍免疫微小環境や腫瘍浸潤リンパ球（TILs）の既存の評価法には限界があり、新たな評価法の確立が国際社会より望まれている。本研究において、全身PET-CTや乳房専用PETは腫瘍の増殖能や悪性度だけでなく、予後予測・乳癌薬物療法の治療効果予測因子であるTILsを予測できることを実証し、詳細な腫瘍微小環境因子との関連を示し、術前化学療法の治療効果を予測できる可能性を見出した。本結果を基に、画像診断を用いて術前化学療法の治療効果（病理学的完全奏効；pCR）をより正確に予測することで、非切除療法などの新たな治療戦略につなげていける可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：We found that tumor-infiltrating lymphocytes (TILs), which are involved in the prognosis and therapeutic response to drug therapy in breast cancer, are associated with the SUVmax of pre-treatment PET-CT and dedicated breast PET. Furthermore, we evaluated the association with more detailed TIL subsets and found that the CD8/FOXP3 ratio, which represents the ratio of cytotoxic lymphocyte CD8 to the inhibitory FOXP3, correlates with the SUVmax value of FDG-PET/CT and is significantly associated with the therapeutic effect of neoadjuvant chemotherapy (pCR). This study suggests that pre-treatment PET-CT and dedicated breast PET may reflect the tumor immune response in the tumor microenvironment, potentially leading to the prediction of the therapeutic efficacy of neoadjuvant chemotherapy in breast cancer.

研究分野：乳腺外科

キーワード：腫瘍浸潤リンパ球 PET-CT 乳房専用PET 腫瘍免疫微小環境 術前化学療法 CD8 FOXP3

1. 研究開始当初の背景

乳癌は腫瘍細胞と腫瘍の周囲に浸潤している腫瘍免疫微小環境(**TIME; tumor immune microenvironment**)から構成されており、乳癌と免疫環境は相互に複雑に関わっている(**J Clin Oncol.2014 Sep;32 (27):2959-2966.**)。TIME の主要な構成要素である腫瘍浸潤リンパ球 (**TILs; tumor infiltrating lymphocytes**) は癌組織に集簇する免疫細胞の総称であり、TILs は特にトリプルネガティブ乳癌(**TNBC; triple negative breast cancer**)において発現が高く、TILs が豊富な乳癌は術前化学療法における病理学的完全奏効(**pCR; pathological complete response**)率が高く、**Disease-Free Survival, Overall Survival** が良好であることが示されている。(**Lancet Oncol. 2018 Jan;19(1):40-50.**)。以上から、TILs は乳癌の予後および乳癌薬物療法の治療効果を反映するバイオマーカーとして報告されている。

近年、TILs の評価方法の標準化を目指し、原発腫瘍標本における腫瘍間質に浸潤する TILs の面積割合(%)という視覚的評価を使用した病理形態学的による測定が提唱された(**Ann Oncol.2015 Feb;26(2):259-71.**)。一方、TIL には組織内の不均一性があるため、特に術前化学療法症例においては、治療前針生検の少ない検体での TIL の評価を行うことから、その客観性や再現性には課題が残る(**Breast Cancer Res Treat. 2018 Aug;171(1):1-9.**)。治療前所見を用いて、正確かつ簡便、より非侵襲的に TIL が豊富な乳癌 (**LPBC: lymphocyte-predominant breast cancer**)を予測する評価法の確立が求められている。

TILs には腫瘍周囲で腫瘍免疫機能を獲得し、抗腫瘍免疫に関与している TILs (**Functional TILs**)と、免疫機能を有さず、抗腫瘍免疫に関与していない TILs (**Bystander TILs**)がある。Functional TILs の中には、細胞傷害性 T リンパ球(**CTL; cytotoxic T lymphocytes**)と称され、抗腫瘍免疫に関与している CD8 陽性 T 細胞、免疫細胞の活性化を制御することで免疫応答を抑制する FOXP3(**forkhead box P3**)陽性 T 細胞、T 細胞の疲弊化を促進し、抑制性の免疫チェックポイント受容体である PD-1(**programmed cell death-1**)、そのリガンドである PD-L1(**programmed cell death-ligand 1**)などがあり、相互の働きのバランスで腫瘍微小環境は成り立っている。さらに、TIME において、CD8 陽性 T 細胞は腫瘍に対して攻撃的に働き、FOXP3 陽性 T 細胞は抗腫瘍免疫に対して抑制的に働くように、逆性的な作用を持つため、CD8/FOXP3 ratio は、効率的に抗腫瘍免疫の働きを示すことができるバイオマーカーとして注目されている。

活性化した免疫細胞にもエネルギー代謝が存在し、活性化が進むにつれてより多くのエネルギーを必要とする。TIME において腫瘍細胞と活性化した免疫細胞はグルコース獲得のための代謝競争によるエネルギーバランスが成立しており、腫瘍の増殖や抗腫瘍免疫応答にも大きく関与している。FDG PET/CT(**¹⁸F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography /computed tomography**)はグルコースの代謝状態を可視化することができる画像検査であり、活性化した TILs、腫瘍免疫細胞を検出することが期待できる。また乳房専用 PET は高感度・高解像度画像設計により、乳房内を高精度に解析可能である。以前の報告では SUVmax は腫瘍径、核グレード、Ki-67 値といった臨床病理学的腫瘍因子との関連が示されていたが、TILs や腫瘍微小環境を構成する因子との関連はまだ不明である。

以上から、FDG PET/CT や乳房専用 PET の FDG 取り込みは腫瘍細胞のバイオロジーだけでなく、腫瘍免疫応答を反映しているのではないかという仮説のもとに、SUVmax と関連する腫瘍微小環境の免疫学的特徴を評価し、術前化学療法の治療効果予測につなげる可能性を検討するため、本計画の着想に至った。

2. 研究の目的

本研究では、早期乳癌において、TIME の詳細な分画を評価し、代謝パラメーターである SUVmax 値や治療効果を示す pCR との関連性を解明することで、FDG PET/CT が TNBC における TIME の免疫情報を反映しているか、また術前化学療法の治療効果予測につながるかを検証することを目的とした。

3. 研究の方法

術前化学療法前に FDG PET/CT を施行した早期 TNBC 54 症例、乳房専用 PET を施行した早期乳癌 45 例を対象とした。治療前針生検の生検標本で病理学的評価、TILs 評価を行い、治療効果は手術後標本で評価を行った。針生検標本において、CD8、FOXP3、PD-1、PD-L1 の免疫組織化学染色を行い、それぞれの発現状態を評価した(図 1)。TILs を含む免疫学的因子

と **SUVmax** および **pCR** との関連を検討した。

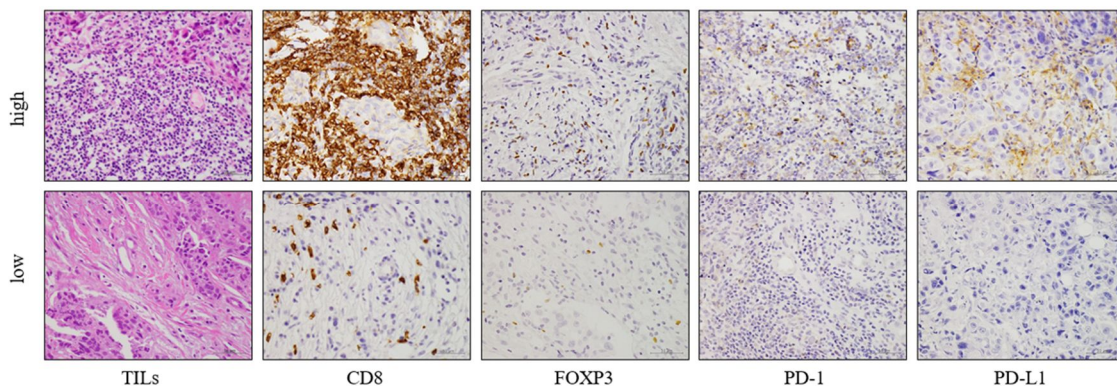


図 1 : TILs 評価と免疫組織学的評価

4 . 研究成果

(FDG PET/CT に関連する研究結果)

PET/CT に使用される **FDG** は、グルコース代謝を介して活発な細胞に輸送されるため、糖代謝や細胞の活動を可視化することができるモダリティであることから、腫瘍細胞のバイオロジーだけでなく腫瘍微小環境における腫瘍免疫応答を反映していることが期待される。**FDG PET/CT** を用いて、術前化学療法を行った **TNBC** を対象として、下記を実証した。

- (1) **TNBC** における検討で、**FDG PET/CT** の **SUVmax** は、腫瘍因子では腫瘍径と **Ki-67** 値、腫瘍微小環境因子では **CD8/FOXP3 ratio** と有意に相関していることが証明された(図 2)。
- (2) **FDG PET/CT** の **SUVmax** が高値である **TNBC** は、腫瘍径が大きく、腫瘍微小環境因子である **CD8/FOXP3** 比が高いことが示された。
- (3) 術前化学療法を行った **TNBC** において、**TILs**、**CD8/FOXP3** 比、**PD-1** 発現、**PD-L1** 発現が高い乳癌は、術前化学療法の治療効果が高く、病理学的完全奏効(**pCR**)を示す割合が有意に高いことが示された(図 3)。

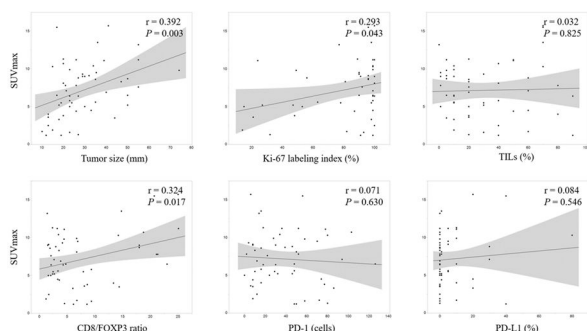


図 2 : SUVmax と腫瘍因子および腫瘍微小環境因子の相関

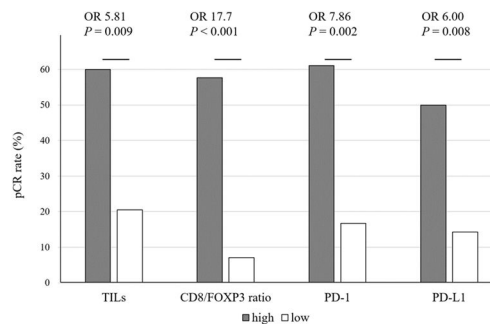
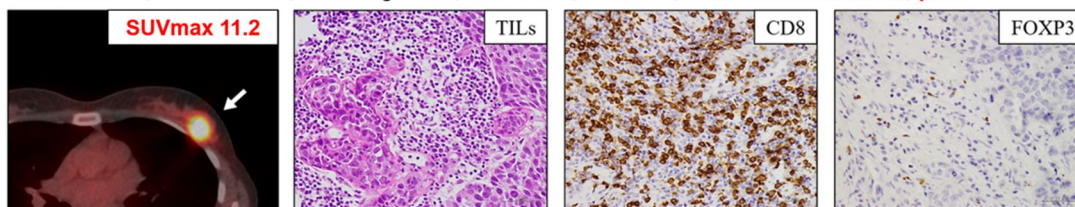


図 3 : pCR と腫瘍微小環境因子の関連

浸潤性乳管癌, 腫瘍径 26mm, Nuclear grade 3, Ki67 100%, TILs 50%, **CD8/FOXP3 ratio 25.1, pCR**



浸潤性乳管癌, 腫瘍径 26mm, Nuclear grade 3, Ki67 87%, TILs 50%, **CD8/FOXP3 ratio 2.6, non-pCR**

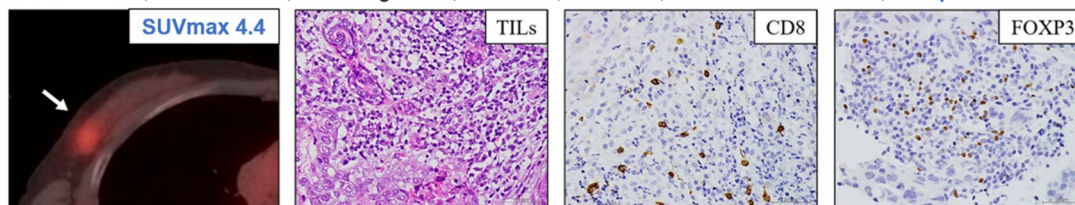


図 4 : CD8/FOXP3 ratio と PET/CT の SUVmax および pCR の関連を示す代表的な症例

(乳房専用 PET に関連する研究結果)

新規開発された乳房専用 PET は近接配置した高感度検出器に乳房を入れて行う検査で、空間分解能が高く、高解像度の画像を得ることができる。乳房専用 PET を応用し、術前化学療法を施行した早期乳癌を対象として下記を実証した。(未発表データを含む)

- (1) 乳房専用 PET の SUVmax は、腫瘍微小環境を構成する TILs の詳細な分画において、特に抗腫瘍免疫に関与している CD8 と高い相関関係を示していることを証明した(図 5)。
- (2) 乳房専用 PET で高い SUVmax を示す乳癌は、従来の臨床病理学的因子である腫瘍径が大きいことだけでなく、腫瘍微小環境因子である TILs、またとくにその中でも CD8 陽性 T 細胞を多く含んでいることを示した。
- (3) 術前化学療法を行った早期乳癌において、CD8 発現、PD-1 発現、PD-L1 発現が高い乳癌は術前化学療法の治療効果が高く、pCR と有意に関連していることが示された。逆に FOXP3 の発現は低い方が pCR になりやすい傾向にあった(図 6)。

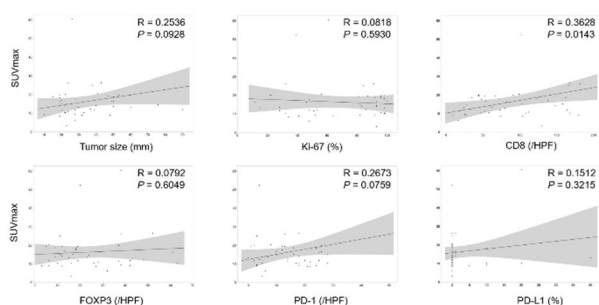


図 5 : SUVmax と腫瘍因子および腫瘍微小環境因子の相関

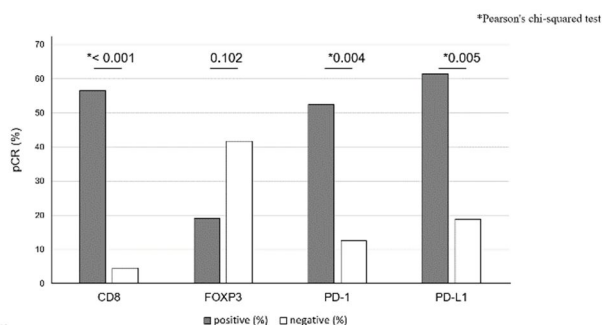


図 6 : pCR と腫瘍微小環境因子の関連

研究結果の今後への発展

これまでの研究成果を進展させ、FDG PET/CT や乳房専用 PET のみではなく、乳腺超音波検査画像や針生検組織検体など、術前化学療法を行う症例における治療前の臨床病理学的情報を総合的に評価・解析を行うことで、より正確に腫瘍微小環境を評価し、乳癌の薬物療法治療効果の予測能の向上につなげ、臨床応用を目指していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 KIMURA YURI, SASADA SHINSUKE, EMI AKIKO, MASUMOTO NORIO, KADOYA TAKAYUKI, ARIHIRO KOJI, OKADA MORIHITO	4. 巻 43
2. 論文標題 18F-fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography Predicts Tumor Immune Microenvironment Function in Early Triple-negative Breast Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 127 ~ 136
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancer.16141	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 -
1. 著者名 Kimura Yuri, Masumoto Norio, Kanou Akiko, Fukui Kayo, Sasada Shinsuke, Emi Akiko, Kadoya Takayuki, Arihiro Koji, Okada Morihito	4. 巻 41
2. 論文標題 The TILs-US score on ultrasonography can predict the pathological response to neoadjuvant chemotherapy for human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative breast cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 101725 ~ 101725
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.suronc.2022.101725	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 木村優里, 舩本法生, 福井佳与	4. 巻 10(3)
2. 論文標題 高度のTILs を伴う乳癌（LPBC）を超音波画像で予測できるのか？	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 乳腺甲状腺超音波医学	6. 最初と最後の頁 33-36
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kimura Yuri, Sasada Shinsuke, Emi Akiko, Masumoto Norio, Kadoya Takayuki, Okada Morihito	4. 巻 Online ahead of print.
2. 論文標題 Febrile neutropenia and role of prophylactic granulocyte colony-stimulating factor in docetaxel and cyclophosphamide chemotherapy for breast cancer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Supportive Care in Cancer	6. 最初と最後の頁 Online first
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00520-020-05868-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 木村優里
2. 発表標題 TILs乳癌の超音波画像と病理像
3. 学会等名 第50回日本乳癌甲状腺超音波医学会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木村優里
2. 発表標題 画像診断を用いた腫瘍浸潤リンパ球の診断予測への応用
3. 学会等名 第31回日本乳癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yuri Kimura, Norio Masumoto, Sadako Akashi-Tanaka, Kayo Fukui, Midori Noma, Aya Nagata, Takashi Nakamura, Hiroaki Shima, Toshitaka Okuno, Akari Murakami, Yoshiaki Kamei, Shogo Nakano, Koji Arihiro
2. 発表標題 The TILs-US score adding vascularity assessment based on ultrasonography for predicting tumor-infiltrating lymphocytes in human epidermal growth factor receptor 2-positive and triple-negative breast cancer
3. 学会等名 San Antonio Breast Cancer Symposium 2022（国際学会）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 YURI KIMURA, SHINSUKE SASADA, AKIKO EMI, NORIO MASUMOTO, TAKAYUKI KADOYA, KOJI ARIHIRO, MORIHITO OKADA
2. 発表標題 Prediction of tumor microenvironment functionality using 18 F fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/computed Tomography for early stage triple negative breast cancer
3. 学会等名 18th St.Gallen International Breast Cancer Conference 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 木村優里
2. 発表標題 KEYNOTE-522レジメンにおける再発高リスク早期トリプルネガティブ乳癌に対する術後治療の有効性を検証する探索的試験
3. 学会等名 第18回日本乳癌学会関東地方会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村優里、舛本法生、加納昭子、福井佳与、笹田伸介、恵美純子、角舎学行、有廣光司、岡田守人
2. 発表標題 早期乳癌に対する術前化学療法の治療効果予測としてのTILs-US scoreの有用性
3. 学会等名 第19回日本乳癌学会中国四国地方会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村 優里、板垣 友子、安井 大介、重松 英朗
2. 発表標題 第30回日本乳癌学会学術総会
3. 学会等名 生体電気インピーダンス法を用いた乳癌周術期化学療法の体組成に及ぼす影響
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 木村優里、板垣友子、安井大介、重松英朗
2. 発表標題 当院におけるHBOC既発症者に対するリスク低減手術の現状と実績
3. 学会等名 第121回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村優里, 笹田伸介, 大原正裕, 重松英朗, 舩本法生, 角舎学行, 岡田守人
2. 発表標題 末梢血パラメーターはEribulin療法を施行した転移・再発乳癌の予後予測因子となりえるか -多施設共同研究-
3. 学会等名 第29回日本乳癌学会学術集会
4. 発表年 2021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