

令和 3 年 10 月 18 日現在

機関番号：34519

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10077

研究課題名(和文) 乳癌術前化学療法の治療効果における局所ならびに全身性の免疫応答の意義の解明

研究課題名(英文) Elucidation of the significance of local and systemic immune responses in the therapeutic effect of preoperative chemotherapy for breast cancer

研究代表者

今村 美智子 (Imamura, Michiko)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号：50567211

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)：乳癌の治療効果に関与する免疫機構を局所と全身の免疫応答にて明確にする。局所の免疫応答として、術前化学療法前後のリンパ球浸潤(TIL)を分類して病理学的完全奏効(pCR)を検討した結果、治療前のTIL高値群のpCRは低値群より有意に高率であった。治療後のTIL高値群はER-/HER2-群で予後良好、ER+/HER2-群で予後不良であった。治療前のTILは効果予測因子、治療後のTILは予後因子として有用である。全身の免疫応答として、末梢血における好中球・リンパ球比に着目し、低値、高値2群に分けて無再発生存期間と全生存期間を検討した。低値群は高値群に比べ有意に良好であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

乳がんの治療前後での生体内免疫応答を局所と全身の観点から解析した。乳がん局所における免疫応答として、治療前の免疫応答に関与するリンパ球が占める割合が高い群は低い群に比べて治療効果が良好であった。また、全身性の免疫応答として、血液中の好中球/リンパ球数比にて、無増悪生存期間や全生存期間を検討した結果、比率の低い群は高い群に比べ生存期間が良好であった。リンパ球数が局所でも血液中でも多い方が治療効果が得られ、良好な予後が得られる可能性があるため、リンパ球の解析は今後の治療効果予測因子及び予後予測因子の解明に繋がり意義が高い。

研究成果の概要(英文)：We clarify immune mechanisms involved in the therapeutic effect of breast cancer with local and systemic immune responses. As a local immune response, we examined the pathological complete response (pCR) by classifying Tumor infiltrate lymphocyte (TIL) before and after preoperative chemotherapy. As a result, the pCR of the TIL high value group before treatment was significantly higher than the low value group. The high TIL level group after treatment was good prognosis in the ER- / HER2 - group and poor prognosis in the ER + / HER2 - group. TIL before treatment is a predictive factor of effect, TIL after treatment is useful as a prognostic factor. As a systemic immune response, we focused on the neutrophil to lymphocyte ratio in the peripheral blood. We divided into two groups of low value and high value, and examined the relapse free survival and overall survival time. The low value group was significantly better than the high value group.

研究分野：乳腺腫瘍学

キーワード：乳癌 治療効果 免疫応答 サイトカイン 腫瘍浸潤リンパ球 好中球・リンパ球数比

1. 研究開始当初の背景

乳癌は、エストロゲン受容体 (ER) と HER2 受容体の発現によってサブタイプに分類され治療法が決定されており、各々のタイプで化学療法の効果異なる(引用文献①)。最近、乳癌を含め多くの癌種において、T 細胞による抗腫瘍免疫応答の有無は、予後に関与することが示されている。ER 陰性 HER2 陰性乳癌組織におけるリンパ球浸潤(Tumor infiltrating lymphocyte: 以下 TIL) を解析した研究によると、TIL が著明な群は、そうでない群に比べ、有意に予後が良好であった(引用文献②)。さらに、術前治療後における TIL の有無が、治療効果に関連する因子として着目されている。術前化学療法後に病理学的完全奏効率 (pathological complete response: 以下 pCR) が得られた乳癌症例では、腫瘍内の CD8 陽性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) 数が増加し、制御性 T 細胞 (regulatory T cell: 以下 Treg) が消失することが報告された(引用文献③)。このことから、化学療法後の局所での抗腫瘍免疫応答が、化学療法による pCR を決定する必要な機序であると考えられる。また、全身免疫応答として末梢血における好中球・リンパ球比 (neutrophil to lymphocyte ratio: 以下 NLR) も予後因子であると報告されている。

2. 研究の目的

本研究では、術前化学療法を施行した乳癌症例を対象に、局所での免疫応答に加え、宿主にお

ける全身性の免疫応答を解析するのが目的である。

3. 研究の方法

(1) 局所での免疫応答の評価:

術前化学療法を行った乳癌患者の臨床検体(原発巣ならびに血清)を用いて、化学療法前後での TIL の有無を調べ、局所の免疫応答と、化学療法の治療効果、予後との相関を明らかにする。

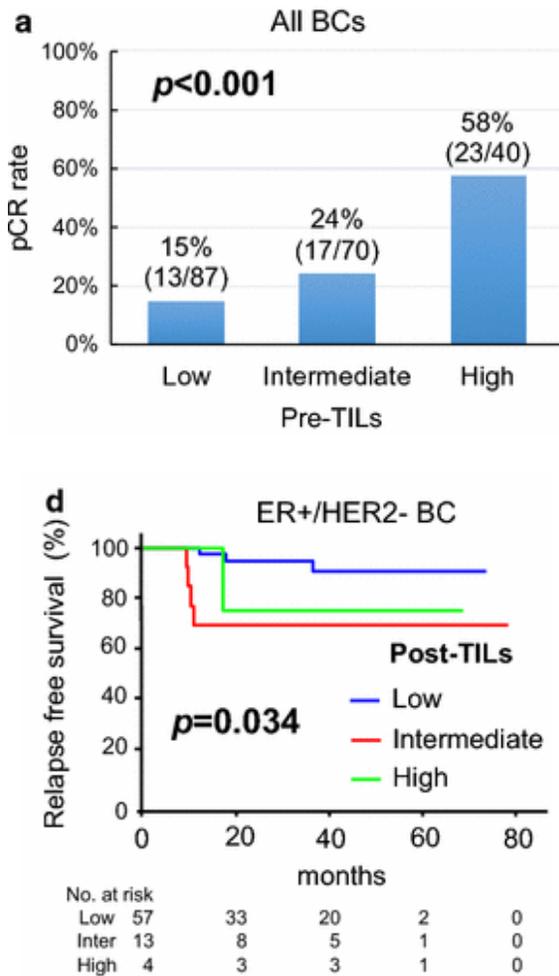
(2) 全身性の免疫応答の評価:

- ① 治療前、後の末梢血液中の CTL 由来と Treg 由来のサイトカインを測定することで、全身での免疫応答と治療効果や予後に与える影響を明らかにする。
- ② 末梢血で判断される免疫応答の評価として NLR を調べ、治療効果や予後因子としての意義を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 局所における免疫応答として、術前化学療法前後の TIL を解析した。間質における治療前の TIL が占める割合を 3 群に分類して pCR を検討した結果、TIL が高度な群(Intermediate + High) の pCR(58%)は低値群(15%)より有意に効率であった($p < 0.0001$)。一方、治療後の TIL 高値群は ER-/HER2-群で予後良好であり、ER+/HER2-群では予後不良であった。治療前の TIL は効果予測因子として、治療後の TIL は予後因子として有用であることを明らかにした (Beast Cancer Research and Treatment(2018

168:135-145) (図1、図2)。



上段図 1. 治療前 TIL 3 群の pCR 率

下段図 2. 治療後サブタイプ別予後

(2) 全身の免疫応答として、末梢血における NLR に着目し、低値、高値 2 群に分けてサブタイプ別に無再発生存期間 (recurrence free survival: 以下 RFS) と全生存期間 (overall survival: 以下 OS) を検討した。NLR 低値群の RFS は高値群に比べ、有意に良好であった (p=0.0381)。サブタイプ別の検討では、ER+/HER2- で NLR 低値群は高値群より有意に RFS

が良好であった (p=0.0049) が、他のサブタイプでは有意差を認めなかった。OS についても ER+/HER2- では NLR 低値群は高値群に比べ、有意に良好であった (p=0.0331)。(第 26 回日本乳癌学会学術集会総会にて発表: 尾澤ら)

(3) 次に、TIL と NLR の予後因子としての意義を検討した。(1) と同様に TIL を 3 群、(2) と同様に NLR を 2 群に分類して検討したところ、TIL と RFS には有意な相関を認めなかったが (p=0.535)、NLR 高値群の RFS は低値群に比べて有意に不良であった (p=0.0428)。TIL と NLR には相関がなかった (p=0.146)。両者を組み合わせて 4 通りで検討した結果、TIL 低値かつ NLR 高値群では、他の 3 群に比べ有意に RFS が不良であった (p=0.0209)。サブタイプ別に検討した結果、ER+/HER2- タイプにおいて TIL 低値かつ NLR 高値群は、他の 3 群に比べて有意に予後不良であった (5y-RFS: 0.767 vs 0.898, p=0.0078)。他のサブタイプで有意な相関は認めなかった。

多変量解析にて TIL と NLR の組み合わせは、ER+/HER2- 群の独立した予後因子であった。ER+/HER2- 群では TIL が低くかつ NLR が高いと予後は有意に不良であった。腫瘍局所における応答が低く、宿所側の免疫能が低いことが予後不良となった可能性が示唆された。(第 26 回日本乳癌学会学術集会総会にて発表: 藤本ら)

(4) これらの結果を受けて、次に 22 種類の血清中サイトカインを Bio-Plex2200 マルチプレックス検査にて測定した。その中で再発に関与する因子を検討した結果、いくつかのサイト

カインで予後に関連する因子が判明している。今後、これらのサイトカインと TIL、NLR との相関を検討して、発表予定である。

(5) TIL が化学療法の治療効果と関連することかはわかっているが、NLR に関しては知られていない。Eribulin は進行・再発乳癌患者における有効な化学療法剤であるが、治療効果の予測因子は不明である。Eribulin が投与された進行・再発乳癌患者において、NLR が治療効果と相関するかどうかを投与前(ベースライン)、1 サイクル後、2 サイクル後、投与終了時の末梢血を用いて 2 群に分けて無増悪生存期間(PFS)と OS を検討した。Eribulin 投与群において、ベースライン時の NLR 低値群の PFS は、高値群と比較して有意に延長していた ($p=0.0032$) (図 4)。また、OS は NLR 低値群で良好な傾向であった ($p=0.058$) (図 4)。1 サイクル後、2 サイクル後、治療終了後の NLR と PFS は有意差を認めなかった ($p=0.86$, $p=0.24$, $p=0.39$)。ベースラインの NLR が低いと Eribulin 投与時に良好な PFS が得られた。(Clinical Breast Cancer (2018))

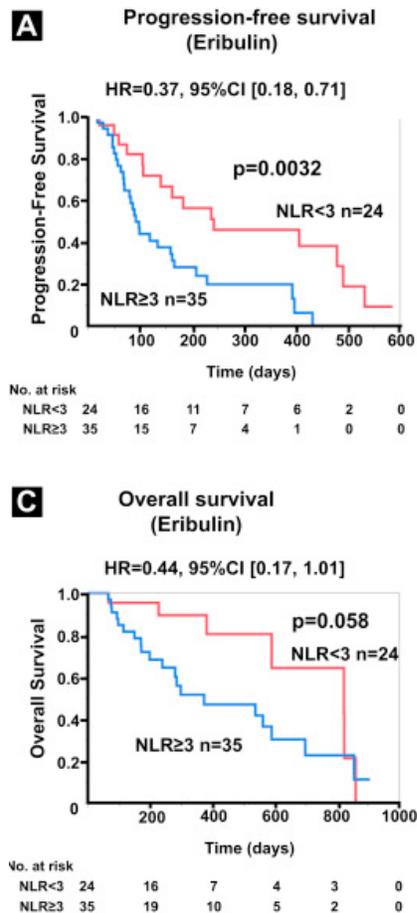


図 4. Eribulin 投与前の NLR と予後の関連

<引用文献>

- ① Goldhrish A . Winer EP. et al.
Ann.Onc,2013;(9):2206-2223
- ② Loi S et al., J Clin Oncol.2013;(31)
860-867
- ③ Ladorie S, Arnould L, et al. Clin Cancer Res. 2008; 14(8):2413-2420

5. 主な発表論文等

<雑誌論文> (計 2 件)

① Takahiro Watanabe, Akira I. Hida, Natsuko Inoue, Michiko Imamura, Yukie Fujimoto, Kouhei Akazawa, Seiichi Hirota, Yasuo Miyoshi. Abundant tumor infiltrating lymphocytes after primary systemic chemotherapy predicts poor prognosis in estrogen receptor-positive / HER2-negative breast cancers 査読あり Breast Cancer Research and Treatment (2018) 168:135-145 DOI: 10.1007/s10549-017-4575-z

② Yoshimasa Miyagawa, Kazuhiro Araki, Ayako Bun, Hiromi Ozawa, Yukie Fujimoto, Tomoko Higuchi, Arisa Nishimukai, Ayako Kira, Michiko Imamura, Yuichi Takatsuka, Yasuo Miyoshi. Significant association between low baseline neutrophil-to-lymphocyte ratio and improved progression-free survival of patients with locally advanced or metastatic breast cancer treated with eribulin but not with Nab-paclitaxel. 査読あり Clinical Breast Cancer 2018 Mar 8. pii: S1526-8209(17)30724-3. DOI: 10.1016/j.clbc.2018.03.002.

<学会発表> (計 5 件)

① 2018 年 第 26 回 乳癌学会学術総会
尾澤宏美、藤本由希枝、今村美智子、三好康雄
ら リンパ球数と好中球・リンパ球比はエスト
ロゲン受容体陽性 / HER2 陰性乳癌の予後因子

として有用

② 2018 年 第 26 回 乳癌学会学術総会
藤本由希枝、今村美智子、三好康雄ら 乳癌に
おける腫瘍浸潤リンパ球と好中球・リンパ球数
比の予後因子としての意義のサブタイプ別検討

③ 2018 年 第 26 回 乳癌学会学術総会
宮川義仁、藤本由希枝、今村美智子、三好康雄
ら 進行・再発乳がんにおけるエリブリンの効
果と好中球リンパ球比の検討

④ 2017 年 第 25 回 乳癌学会学術総会
今村美智子、藤本由希枝、三好康雄ら 乳癌術
前化学療法症例における腫瘍浸潤リンパ球と好
中球・リンパ球比の関連の検討

⑤ 2017 年 第 25 回 乳癌学会学術総会
渡邊隆弘、今村美智子、三好康雄ら 術前化学
療法の効果予測因子としての腫瘍浸潤リンパ球
(TIL) :乳癌全サブタイプにおける包括的研究

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今村 美智子 (IMAMURA, Michiko)

兵庫医科大学・医学部・講師

研究者番号 : 50567211

(2) 研究分担者

三好 康雄 (MIYOSHI, Yasuo)

兵庫医科大学・医学部・教授

研究者番号：50283784

盛本 浩二 (MORIMOTO, Kouji)
大阪女子短期大学・その他部局等・
教授
研究者番号：00599996

藤本 由希枝 (FUJIMOTO, Yukie)
兵庫医科大学・医学部・病院助手
研究者番号：10786130