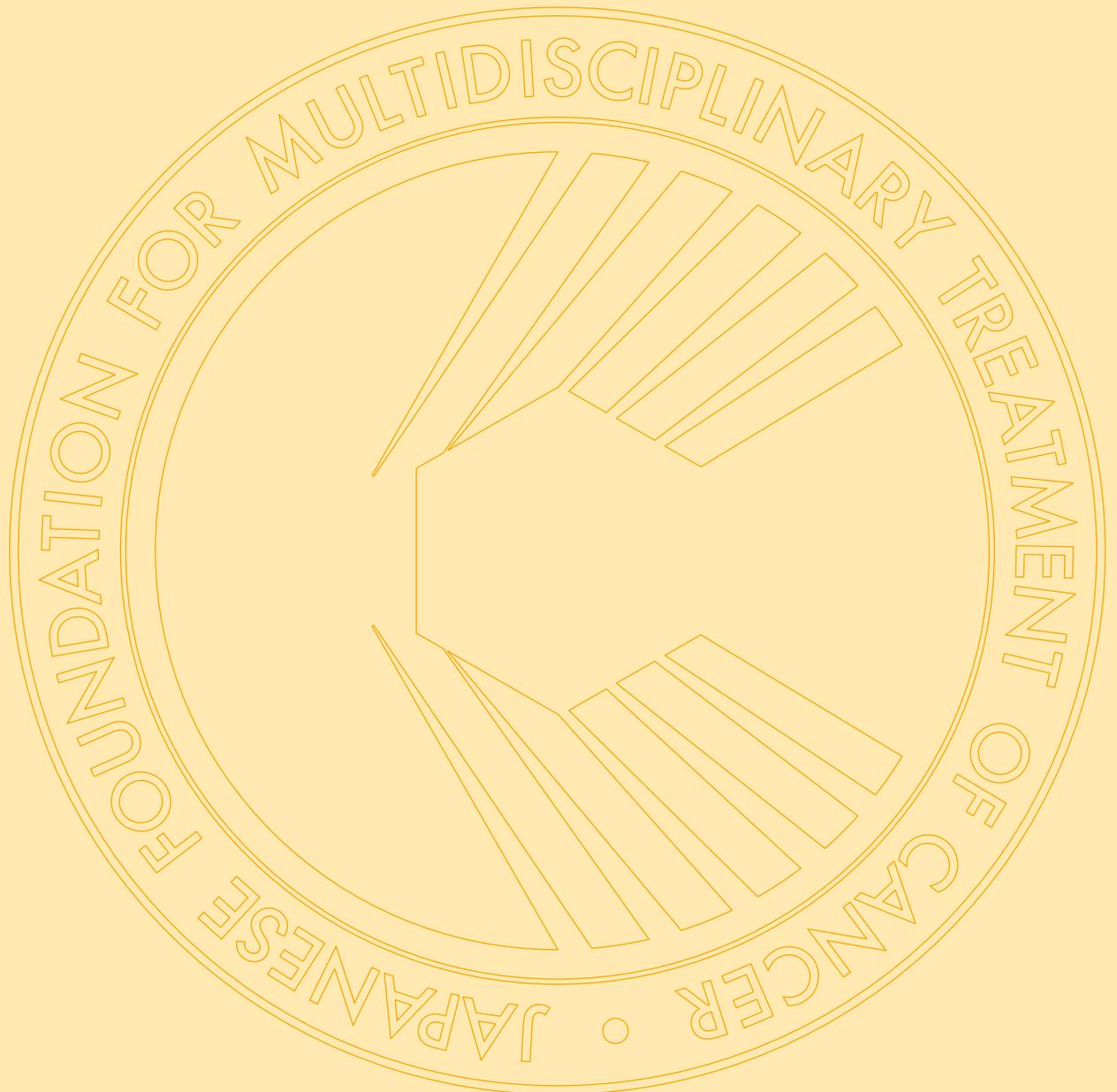


Advances in Cancer Treatment

がん治療のあゆみ

2020/第40回一般研究助成



40

公益財団法人 がん集学的治療研究財団

巻 頭 言

会長 山 岸 久 一

公益財団法人がん集学的治療研究財団（以下財団）の元祖は、一般財団法人として1980年（昭和55年）に井口 潔 九州大学名誉教授を理事長として設立され、2013年（平成25年）に佐治重豊 岐阜大学名誉教授が理事長の時に公益財団法人となり今日に至っております。公益財団法人として求められている事は、①公益性（利を得ない事）と②透明性の維持であります。

本財団設立当初から、研究助成事業を開始し、今年で41年になりますが、研究事業509件に対しまして総額6億6,120万円の助成をしてまいりました。対象課題は、臨床応用が可能となり得る「がんの集学的治療」に関する研究を広く一般公募して、一般研究選考委員会（選考委員長 掛地吉弘 神戸大学大学院医学研究科 教授）で厳正に評価し、公平性・透明性を保つ目的で選考委員会議事録には選考経緯や理由等の記録を保存して頂いております。

選考委員会の先生方には、公募一題一題につき十分な議論の上評価していただきましたことに対して厚く敬意を表すとともに感謝致しております。

本日お届けしました「がん治療のあゆみ第40巻」は、2019年度受賞者の研究成果報告であります。応募件数54件の中から厳選された5題の研究成果であり、対象臓器は胃・膵・肺でありましたが、今回の研究内容は期せずして、すべて免疫学的研究でありました。腫瘍微小環境における免疫応答、腫瘍関連線維芽細胞、腫瘍関連マクロファージ、免疫チェックポイント分子、免疫チェックポイント抗体、血中腫瘍DNA解析による癌化学療法の効果予測などの研究でありました。それぞれに非常に興味深い結果が得られていますので、ご高覧頂き、ご批判賜れば、幸甚に存じます。

結びに、2020年度の一般研究助成金授与式には、財団理事・役員、選考過程でご尽力頂きました選考委員の先生方にもご臨席賜りましたことに心より感謝申し上げます。優れた研究を推進する受賞者の方々、関係された多くの方々に深謝申し上げます。

今後とも当財団へのご支援・ご指導を賜ります様、何卒宜しくお願い申し上げます。

2021年3月31日

選 考 経 過 報 告

一般研究選考委員会

選考委員長 掛 地 吉 弘

選考経過をご報告申し上げます。

対象課題として臨床応用が可能となりうる「がんの集学的治療」に関する研究を募集し、2019年度は54件の非常に多数の応募をいただきました。応募締め切りは8月31日で、その54件全ての応募書類のコピーを事務局で集計し、全ての選考委員に送付し、事前評価をしていただきました。その事前評価では、絶対評価のほかに評価が偏らないように相対的な評価を行って、採点をお願いしております。その選考結果を事務局で集計し、去る2019年10月3日に第44回の一般研究選考委員会を開催いたしました。選考委員が上位から一題ずつ議論を充分に行って、そして厳正に評価を行いました。非常に甲乙つけ難いようなレベルの高い申請が集まりました。この選考委員会の議事録は、公平性及び透明性を考慮し、経緯や理由については記録して保存しております。

その結果、5件の応募課題を助成対象候補として理事会に上申し、承認いただきました。

そして、1年後の2020年12月11日に第40回一般研究発表会を開催し、研究結果を発表していただきました。その研究報告書を本冊子にまとめました。

助成金を受領された先生方をお願いします。

研究論文を発表される際に、どんどん論文を書いて仕上げていただきたいのですが、「がん集学的治療研究財団助成金」の補助を得たという旨を明記していただくようお願いします。先生方の業績に加わるとともに、財団からのこの助成金のがんの治療研究に役立ち、社会に貢献しているものと推察しております。本財団は公益法人ですので、acknowledgementにその旨をしっかりと付記していただくことが、重要な意味を持っております。

最後になりましたが、助成された5名の先生方、本当におめでとうございます。またこの素晴らしい先生方をご推薦いただきました施設代表者の先生方にも厚くお礼申し上げます。

がん治療のあゆみ 目次

巻頭言 会長 山 岸 久 一

選考経過報告 一般研究選考委員会・選考委員長 掛 地 吉 弘

●胃癌腫瘍微小環境における血管新生阻害剤の腫瘍免疫応答賦活化
を利用した治療法の開発 岩 槻 政 晃 1
熊本大学大学院
消化器外科学

●肺癌における体内細菌叢間相互作用と生物学的悪性度との関連性
の解明 -多施設共同による前向き観察研究- 庄 司 文 裕 9
九州医療センター
呼吸器外科

●進展型小細胞肺癌患者における免疫チェックポイント阻害剤の効果
予測因子としての栄養/免疫学的指標の臨床的意義に関する前向き
観察研究 高 森 信 吉 17
九州がんセンター
呼吸器腫瘍科

●Circulating cell-free tumor DNA 解析による膵癌術前化学療法
の効果予測 廣 野 誠 子 21
和歌山県立医科大学
外科学第2講座

●腫瘍微小環境の癌関連線維芽細胞・マクロファージをターゲット
とした治療法の開発 森 根 裕 二 28
徳島大学大学院医歯薬学研究部
消化器・移植外科学分野

胃癌腫瘍微小環境における血管新生阻害剤の腫瘍免疫応答賦活化を利用した治療法の開発

岩槻 政晃*

要旨 本邦において stage IV 胃癌の 5 年生存率はわずか 7.8% と極めて予後不良である。近年、免疫チェックポイント阻害剤が注目を集めているが、胃癌において PD-L1 が効果予測のバイオマーカーとなり得ない。その一因として、胃癌に特徴的な空間的な腫瘍不均一性ととも、前治療の影響による時間的な腫瘍不均一性が挙げられる。

本研究では、胃癌臨床検体を用いて、PD-L1 の発現が生検と切除検体間で乖離があり、空間的な腫瘍不均一性を示した。また、胃癌細胞株と NK 細胞の共培養下に Trastuzumab 曝露すると、IFN- γ により胃癌細胞の PD-L1 の発現が誘導されることを示した。

本研究により、胃癌の PD-L1 発現には、空間的、時間的な腫瘍不均一性を考慮すべきであることが示唆された。現在、新たな免疫チェックポイント分子や、Ramucirumab による腫瘍微小環境の腫瘍免疫応答の賦活化について解析を進めている。

はじめに

本邦において stage IV 胃癌の 5 年生存率はわずか 7.8% と極めて予後不良である。近年、腫瘍局所において、過剰な免疫応答を抑制するための免疫チェックポイント機構が存在し、この経路を阻害する PD-1/PD-L1 阻害剤が開発された。胃癌においては第三相比較試験の結果から Nivolumab 単剤が三次治療以降で使用されている¹⁾。しかし、効果予測因子となるバイオマーカーとして、PD-L1 の発現が胃癌においては治療効果と相関しない。その一因として、胃癌に特徴的な空間的な腫瘍不均一性ととも、前治療の影響による腫瘍免疫環境の変化による時間的な腫瘍不均一性が関連していることが考えられる。本研究では癌細胞と免疫細胞を含む腫瘍微小環境の空間的、時間的不均一性に着目し、特に分子標的薬が腫瘍微小環境に与える影響を検討する。

対象

1. 胃癌臨床検体：生検組織-切除組織（MP 以深の進行胃癌，前治療歴なし）191 例
2. HER2 陽性胃癌細胞株（NCI-N87, NUGC4）とヒト末梢血単核球細胞（PBMC）

方法

1. 生検組織及び切除組織の PD-L1 の免疫組織染色（PD-L1: E1L3N[®]）を行い、生検-切除組織間での PD-L1 発現評価の一致率、生検回数との相関を検討した。
2. 健常人の全血から末梢血単核球細胞（PBMC）を Ficoll 分離し、HER2 陽性胃癌細胞と PBMC を 1:4 の比率で共培養した。そこに Trastuzumab 及び control として Rituximab を添加し、48 時間後に細胞を回収し、Multicolor flow cytometry による解析を行った。single cell に gating したのち、上皮マーカーである EpCAM と白血球共通抗原である CD45 での展開により腫瘍細胞のみを gating,

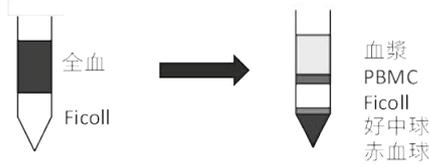
*熊本大学大学院 消化器外科学

さらに7-AAD を用いてアポトーシス細胞を gating out することで、Trastuzumab 曝露後の共培養中の生存癌細胞のみを抽出し、PD-L1 発現の解析を行った (図1)。

胃癌細胞と免疫細胞の共培養

Multicolor flow cytometry

① FicollによるPBMC分離



② 胃癌細胞とPBMCとの共培養

Trastuzumab or hlgG (Rituximab)

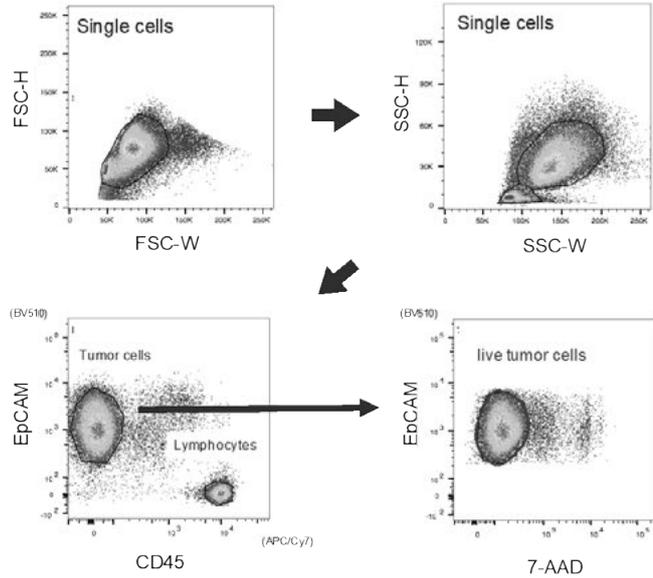
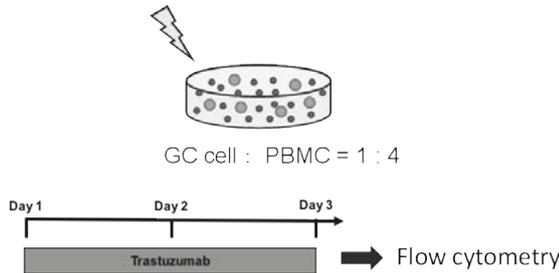


図1 胃癌細胞及び免疫細胞の共培養と解析手順

成 績

1. 臨床検体を用いたPD-L1の空間的腫瘍不均一性の検討

われわれは以前、臨床検体でPD-L1を免疫染色で評価するにあたり、マクロファージとの区別をするために二重免疫染色を行い、Combined positive score (CPS) の評価が有用であることを報告した²⁾。本研究でもCPSを用いて、生検組織、切除検体のPD-L1の免疫染色を行い、CPSで判定した。その結果、PD-L1陽性率は生検組織で47.6%、切除検体で71.7%であり、一致率は64.4%、κ係数0.31であった(表1)。特に、生検組織で陰性であったにも関わらず切除組織では陽性であるいわゆる生検での偽陰性が57例、全体の約3割と非常に高い割合を占めた。また、生検回数が2個以上行われた症例では、1回の症例と比較し、一致率は約20%増加し、偽陰性が約20%低下した(図2)。以上より、生検により腫瘍全体のPD-L1発現を正確に評価するためには、少なくとも複数回の生検を行うことが推奨されることが明らかとなった。

表1

	切除組織			
	陽性	陰性	計	
生検組織	陽性	78	11	89
	陰性	57	45	102
	計	135	56	191

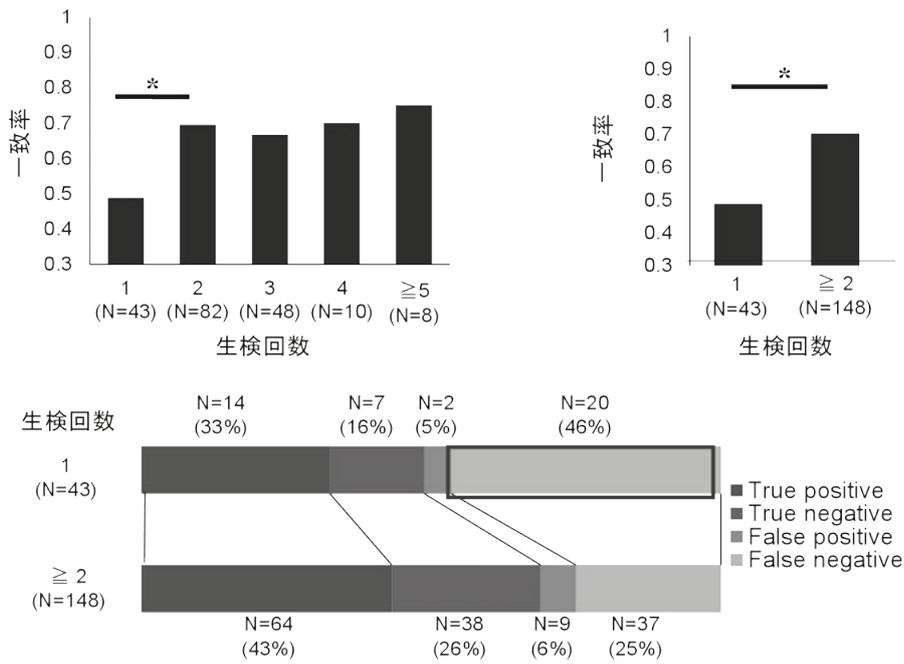


図2 PD-L1 発現の一致率と生検回数の相関

2. HER2 陽性胃癌細胞株を用いた Trastuzumab 曝露による PD-L1 の発現の検討

1) HER2 陽性胃癌細胞と PBMC の共培養下での Trastuzumab 曝露

HER2 陽性胃癌細胞株の単独培養下では、Trastuzumab 曝露による PD-L1 発現の変化は認めなかったが、PBMC との共培養下では Trastuzumab 曝露により有意に PD-L1 発現が誘導された (図3)。一方、HER2 陰性細胞株 (KATO-III, NUGC3) では、PD-L1 の発現は誘導されなかった (図4)。

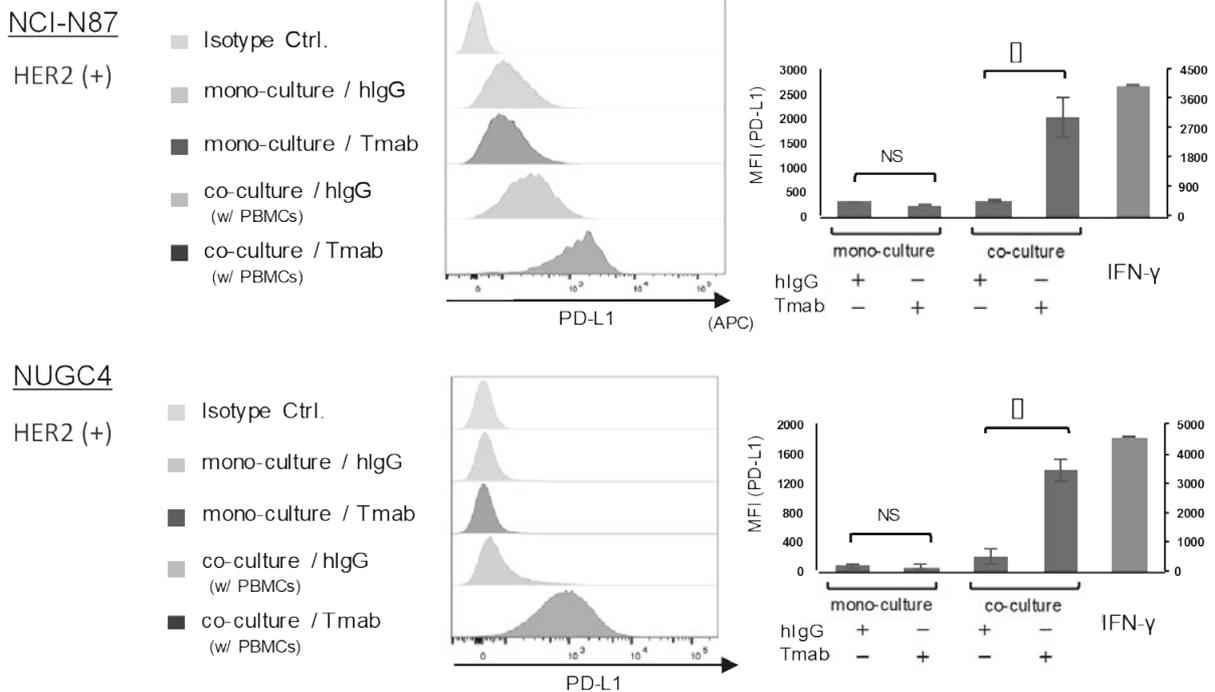


図3 HER2 陽性胃癌細胞株と PBMC 共培養下の Trastuzumab 投与による PD-L1 の変化

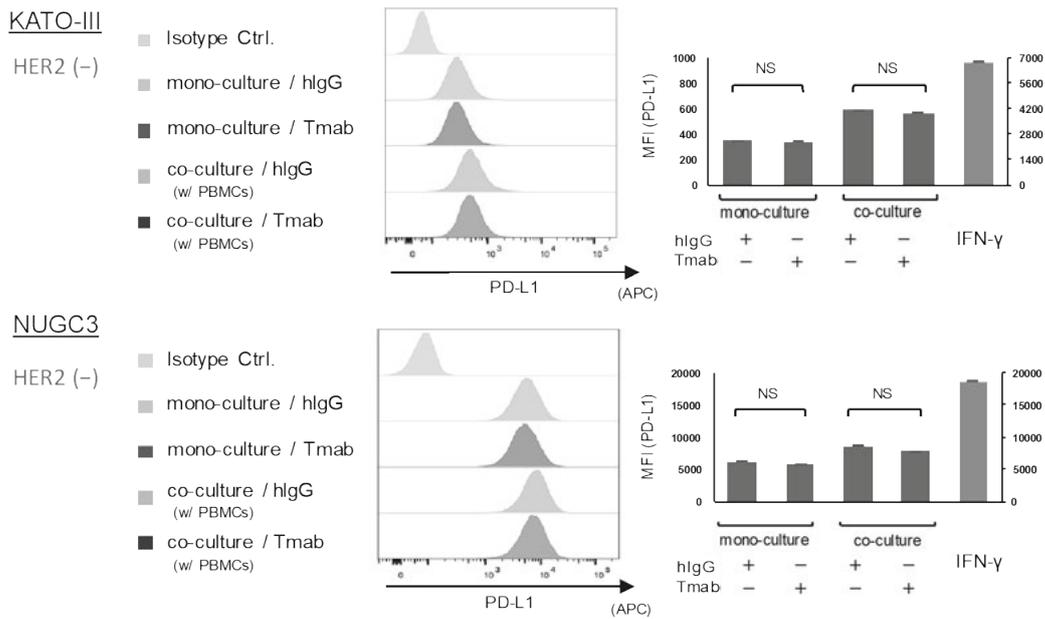
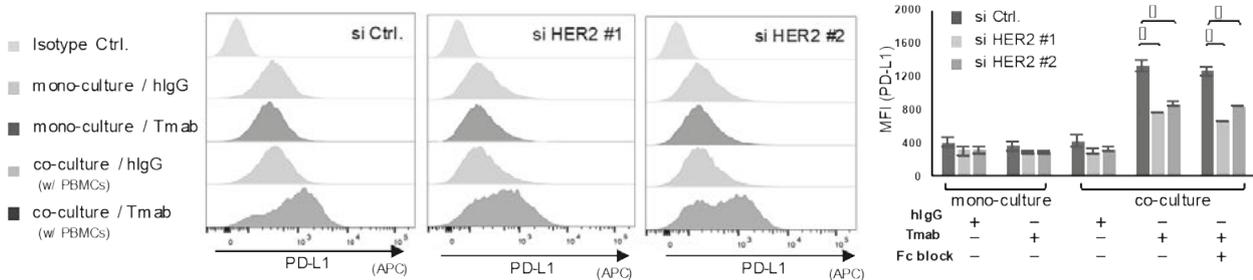


図4 HER2 陰性胃癌細胞株と PBMC 共培養下の Trastuzumab 投与による PD-L1 の変化

2) HER2, Trastuzumab, Fc R の interaction の PD-L1 発現への関与

まず、siRNA 導入により作成した HER2 knock down 胃癌細胞株と Fc R 抗体を用い、同様のアッセイを行うと、PD-L1 発現の上昇が有意に抑制された (図 5)。Trastuzumab による PD-L1 発現の上昇に胃癌細胞の HER2, Trastuzumab, 免疫細胞の Fc R の interaction が必要であることが示された。

NCI-N87



NUGC4

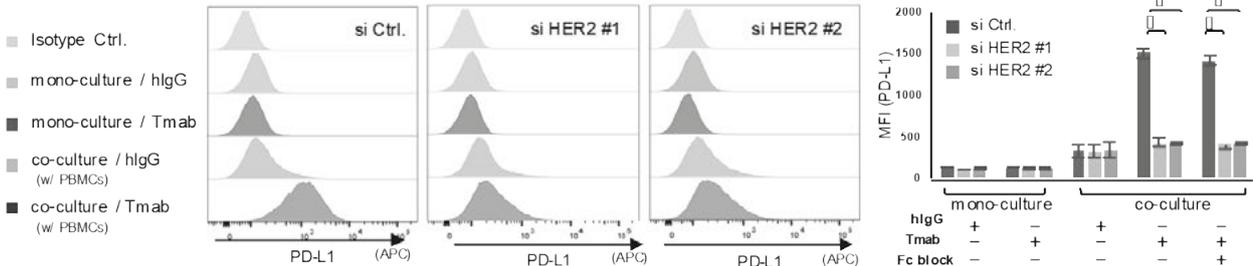


図5 HER2 ノックダウンによる PD-L1 発現の変化

3) PD-L1 上昇に関与する PBMC 中の免疫細胞の同定

この Trastuzumab による PD-L1 上昇に、どの免疫エフェクター細胞が関与するのかを検討するために、Trastuzumab の ADCC 活性への関与が報告されている NK 細胞と単球に焦点を当て解析を行うこととした。まず、全血より PBMC を Ficoll 分離したのち、NK 細胞と単球を免疫磁気分離キットにより分

離した。Trastuzumab の抗体依存性細胞障害活性に関与する NK 細胞を PBMC より分離し、共培養により有意に PD-L1 発現が誘導されたが、単球では誘導されなかった (図 6)。

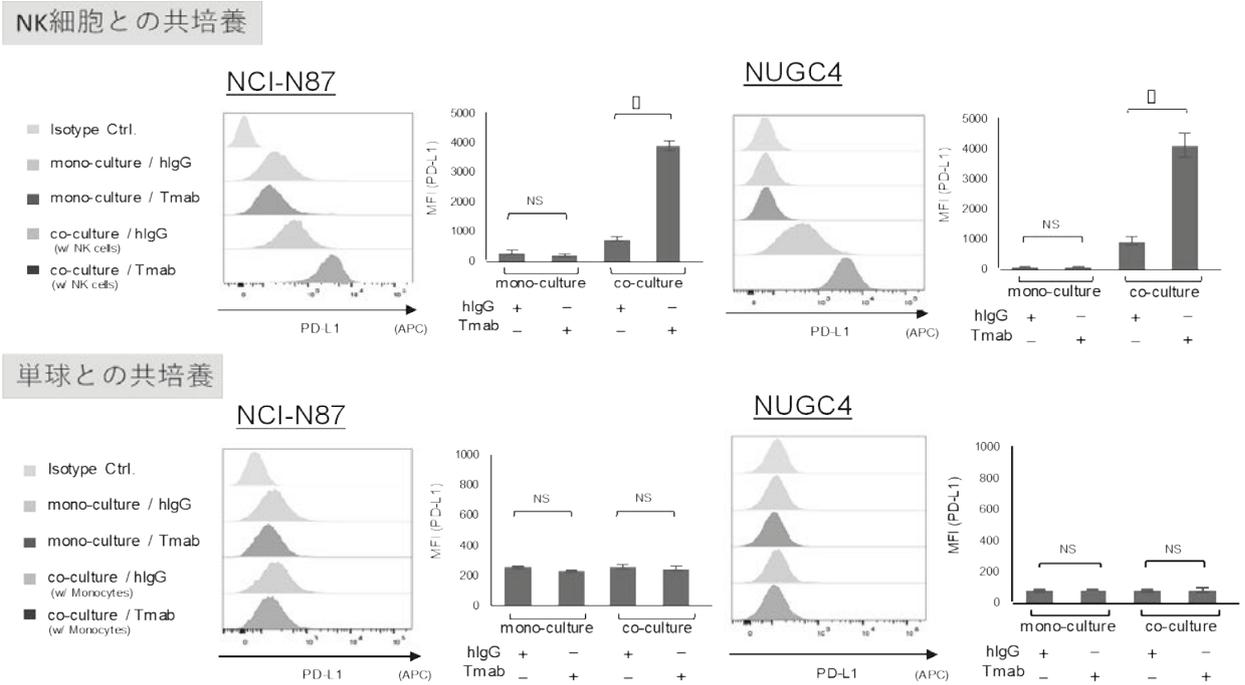
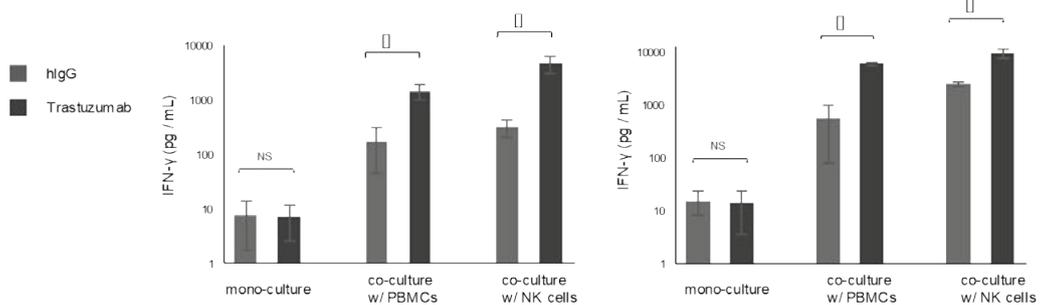


図 6 PD-L1 発現に関する免疫担当細胞の同定

4) Trastuzumab による PD-L1 発現上昇と IFN- γ

PBMC 及び NK 細胞との共培養、いずれにおいても、Trastuzumab 曝露により共培養上清中の IFN- γ 濃度は有意に上昇した。さらに、IFN- γ 中和抗体を添加することで Trastuzumab による PD-L1 発現の上昇が抑制された (図 7)。

➤ 共培養上清中の IFN- γ 濃度



➤ 共培養への IFN- γ 中和抗体の添加

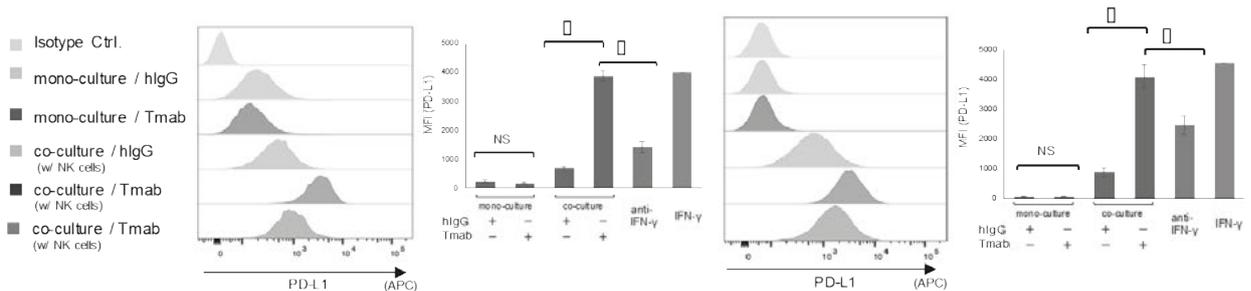
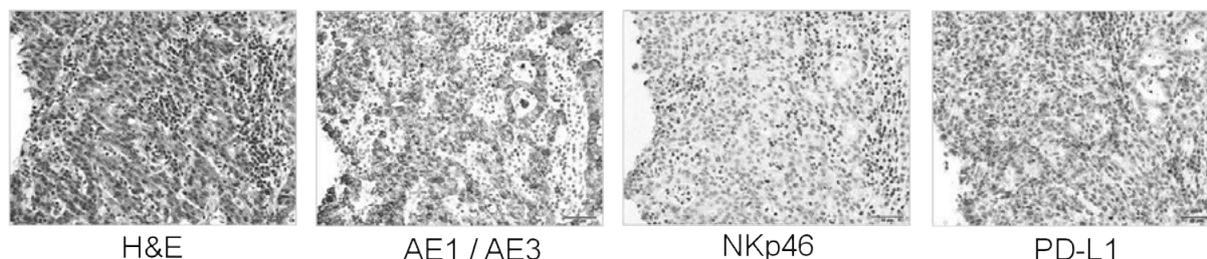


図 7 Trastuzumab による PD-L1 発現上昇と IFN- γ

5) 臨床検体での検証

Trastuzumab 治療後の臨床検体を用いた免疫組織染色を行うと、胃癌細胞の近傍に NK-p46 で標識される NK 細胞が浸潤し、同部の胃癌細胞の PD-L1 が上昇することが確認された。Trastuzumab 治療により PD-L1 発現が上昇する傾向があった (図 8)。

➤ 胃癌臨床検体を用いた免疫組織染色



➤ 胃癌臨床検体を用いた Trastuzumab 治療前後での PD-L1 発現変化

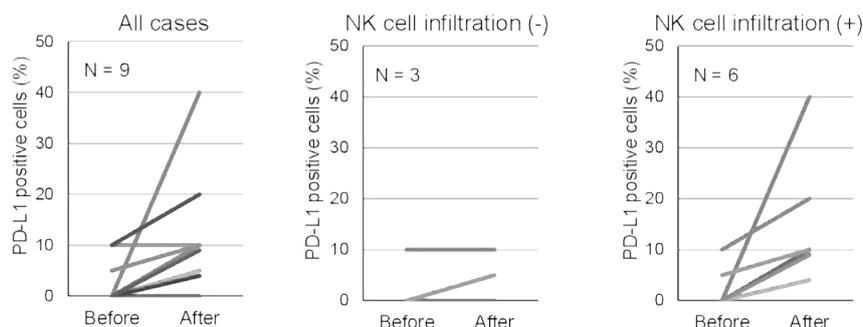


図 8 臨床検体での検証

考 按

本研究では、胃癌の PD-L1 発現に空間的、時間的腫瘍不均一性が存在するという仮説を立て、臨床検体ならびに胃癌細胞株を用いて実験を行った。その結果、生検と切除検体の PD-L1 発現の一致率は 64.4%、 κ 係数 0.31 と低いものだった。特に、生検組織で陰性であったにも関わらず切除組織では陽性である偽陰性の比率が高かった。日常臨床では、Nivolumab は 3 次治療で使用される。多くは生検組織を用いて、PD-L1 の評価を行う。したがって、PD-L1 の治療効果の予測を占うバイオマーカーとしての意義を鑑みるときに、この高率な偽陰性は無視できる population ではない。胃癌は組織不均一性が知られており、実際、バイオマーカーとしてすでに用いられている HER2 の発現においても、5 回以上の複数の生検で評価することが薦められている³⁾。本研究の PD-L1 の結果も、生検回数が 2 個以上行われた症例では、1 回の症例と比較し、一致率は約 20% 増加し、偽陰性を約 20% 低下した。以上より、生検により腫瘍全体の PD-L1 発現を正確に評価するためには、少なくとも複数回の生検を行うことが推奨されることが明らかとなった。

上述のように、late line で Nivolumab が使用されることから、前治療の PD-L1 の発現の変化もバイオマーカー探索においては考慮する必要がある。これまで、多くの癌腫で、化学療法や放射線治療により PD-L1 の発現が変化することが報告されている。本研究においても 5-FU の曝露により、胃癌細胞の PD-L1 発現が濃度、時間依存性に増加することを明らかにした (data not shown)。とくに本研究では、HER2 陽性胃癌に 1 次治療で使用される Trastuzumab に着目した。Trastuzumab は、HER2 の切断や二

量体化の阻害による下流シグナルの抑制や細胞内移行による分解の他に、免疫エフェクター細胞による抗体依存性細胞障害により抗腫瘍効果を発揮すると言われている。そこで、免疫エフェクター細胞との共培養を行い、PD-L1の発現の変化を検討した。HER2陽性胃癌細胞株において、PBMCと共培養下でTrastuzumabを曝露することにより、PD-L1の発現が誘導された。FcR抗体投与や、HER2陰性株、HER2ノックダウン細胞株では、PD-L1の発現が誘導されなかったことから、HER2と免疫細胞のFcRの相互作用がPD-L1の発現に重要であることが明らかになった。PBMCの中でもNK細胞が深く関与しており、NK細胞と胃癌細胞のdirect interactionによりIFN- γ が誘導され、PD-L1を発現することを明らかにした。これらの結果から、胃癌細胞のPD-L1は抗がん剤や分子標的治療薬の曝露により容易に変動することが明らかとなり、バイオマーカー探索にはこれら時間的腫瘍不均一性をも考慮する必要があると考えられる。

本研究では胃癌において、PD-L1の発現に空間的、時間的不均一性が存在することを明らかにし、PD-L1が治療効果予測バイオマーカーとして確立されていない一因であることを示唆した。一方で、本研究では臨床検体や胃癌細胞株でのPD-L1の発現メカニズムを明らかにしたものの、これらが治療効果と実際に相関するかどうかの検討は行っていない。最終的に、これらの発現メカニズムを考慮して、治療効果予測バイオマーカーとなり得るかどうかのさらなる検討が必要である。

今後の検討として、胃癌の二次治療では血管新生阻害剤であるRamucirumabの殺細胞性抗癌剤の併用が推奨されている。したがってTrastuzumabと同様、Ramucirumabの影響を十分に考慮する必要がある。VEGFによるVEGFR2の活性化は、樹状細胞の成熟化抑制、T細胞機能の抑制と遊走の阻害、抑制性T細胞の活性化を促進することが知られており、腫瘍微小環境において腫瘍免疫応答を抑制している⁴⁾。VEGFR2抗体であるRamucirumabは腫瘍微小環境の腫瘍免疫応答の賦活化が期待される。現在、免疫チェックポイント阻害剤と血管新生阻害剤の併用の臨床試験が進行しているが、患者選択や併用のタイミングなどは明らかにされていない。癌細胞は殺細胞性抗癌剤、分子標的薬により完全に駆逐されず、一部は治療抵抗性を獲得し、細胞増殖を停止させて老化状態となる（治療誘発細胞老化：therapy-induced senescence）。老化した癌細胞は様々な因子を産生するsenescence-associated secretory phenotype (SASP)の特徴を呈する。このSASP因子が免疫抑制を誘導することにより癌の進展、転移を助長することが知られている。われわれは胃癌由来のCancer Associated Fibroblast (CAF)細胞株においてSASP誘導因子を同定し、これらを添加しCAFをsenescenceに誘導した。SASPを呈したCAFは、腹膜播種マウスモデルで腹膜播種を促進することを明らかにした (*Cell Rep*, under review)。今後はこのような、Ramucirumab投与による腫瘍微小環境の腫瘍免疫応答の賦活化について明らかにしていきたい。

おわりに

本研究により、胃癌のPD-L1の発現には、空間的、時間的な腫瘍不均一性が存在することが示唆された。この腫瘍不均一性によりPD-L1の発現が、治療効果予測のバイオマーカーになり得ない一因と考えられる。この腫瘍不均一性を克服するには、今後、liquid biopsyでの検討が必要と思われる⁵⁾。また、Trastuzumab曝露とNK細胞との相互作用によりIFN- γ を介してPD-L1の発現が誘導されたことから、Trastuzumabと免疫チェックポイント阻害剤併用により抗腫瘍効果の相乗効果が得られる可能性が示唆された。今後、血管新生阻害剤の腫瘍微小環境へ与える免疫応答の賦活化のメカニズムを明らかにすることで、血管新生阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤との併用の意義、そのタイミング (sequential or concurrent) の理論的裏付けを行うことができる。全身化学療法よりも高い治療効果によるstage IV胃癌の予後の向上が期待できる。

文 献

- 1) Kang YK, Boku N, Satoh T, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* **390** : 2461-71, 2017.
- 2) Yamashita K, Iwatsuki M, Harada K, et al. Prognostic impacts of the combined positive score and the tumor proportion score for programmed death ligand-1 expression by double immunohistochemical staining in patients with advanced gastric cancer. *Gastric Cancer* **23** : 95-104, 2020.
- 3) Bartley AN, Washington MK, Colasacco C, et al. HER2 Testing and Clinical Decision Making in Gastroesophageal Adenocarcinoma: Guideline From the College of American Pathologists, American Society for Clinical Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. *J Clin Oncol* **35** : 446-64, 2017.
- 4) Tada Y, Togashi Y, Kotani D, et al. Targeting VEGFR2 with Ramucirumab strongly impacts effector / activated regulatory T cells and CD8(+) T cells in the tumor microenvironment. *J Immunother Cancer* **6** : 106, 2018.
- 5) Yamashita K, Iwatsuki M, Ajani JA, Baba H. Programmed death ligand-1 expression in gastrointestinal cancer: Clinical significance and future challenges. *Ann Gastroenterol Surg* **4** : 369-78, 2020.

肺癌における体内細菌叢間相互作用と生物学的悪性度との 関連性の解明 —多施設共同による前向き観察研究—

庄司 文裕*

要旨 近年、欧米を中心とした研究により免疫チェックポイント阻害剤（ICI）による癌免疫療法の有効性は腸内細菌叢によって修飾されることが示唆されている。一方、腸内細菌叢の菌種組成は人種間で大きく異なり、日本人を対象とした細菌叢研究は必須かつ急務である。本研究では進行/再発非小細胞肺癌 28 症例における ICI 治療効果と口腔内・腸内細菌叢の菌種及び多様性との関連性を明らかにした。唾液・糞便から DNA を抽出、16SrRNA を PCR で増幅、得られた増幅断片を次世代シーケンスにて細菌構成を解析した。ICI レスポンダー（n=17）と非レスポナー（n=11）の口腔内・腸内細菌叢を属レベルにて比較した結果、口腔内細菌叢に明らかな相違は認めなかったが、ICI レスポンダーの腸内細菌叢は有意に高い α 多様性を示し（Chao1; $p=0.0174$, Shannon; $p=0.0362$ ）、*Blautia* 属が多いことが判明した。今後、さらに腸内細菌叢の特定菌種や多様性に関する研究を進めることで ICI 効果予測バイオマーカー開発やバイオティクス応用への展開が期待される。

はじめに

原発性肺癌は世界の癌死亡原因の 1 位であり、本邦においても最も多い癌死の原因疾患である。なかでも 80-85% を占める非小細胞肺癌に対する治療成績の向上は急務と考えられる。近年、免疫療法は外科療法、癌化学療法、放射線療法とともに第 4 の柱としてその地位を確立した。これまでに多くの種類の免疫チェックポイント阻害剤（immune-check point inhibitor: ICI）が承認され、実臨床の場においても非小細胞肺癌患者で使用される機会が増えている一方で、いまだ適切な ICI 効果予測バイオマーカーの開発には至っていない。我々はこれまでに非小細胞肺癌症例において治療前宿主免疫栄養状態が ICI の有効性と相関することを報告したが¹⁾、ICI 効果には宿主免疫が大きく関与していることは疑いようがなく、その宿主免疫の一翼を担っているとされるのが腸内細菌叢を中心とした体内細菌叢である。現在、世界的に注目を浴びている体内細菌研究は欧米を中心に急速に進められており、ICI の有効性は腸内細菌叢プロファイルによって免疫修飾作用をもたらすことが示唆されている²⁾⁻⁵⁾。一方、口腔内細菌叢が腸内細菌叢へ影響を与えることによって炎症性腸疾患、アレルギー疾患を惹起していることが報告され、口腔内細菌叢の免疫修飾も注目されている⁶⁾。しかしながら、このような報告はすべて欧米から発信されたものである。日本人を含めた 12 カ国のヒト腸内細菌叢データをメタゲノム解析により比較検討を行った結果、腸内細菌叢の菌種組成は人種で大きく異なることが明らかとなった⁷⁾。従って、癌免疫療法と体内細菌の研究は注目を集めている分野であり、早急に日本人独自のデータ解析が必要と思われる。今回我々は ICI 単剤もしくは併用化学療法治療中あるいは治療後の非小細胞肺癌症例を対象として、その効果と口腔内・腸内細菌との相関性を解析することを目的に本研究を計画した。

*九州医療センター 呼吸器外科

対象と方法

対象 本研究は国立病院機構九州医療センターと同九州がんセンターによる 2 施設共同前向き観察研究であり、ICI 単剤あるいは併用化学療法による治療中の患者あるいは治療後に後治療が行われていない非小細胞肺癌症例を対象とした。

2019 年 7 月から 2020 年 10 月までに本研究に同意された 34 症例のうち、解析可能な唾液及び糞便を採取可能であった 28 症例を対象とした。本研究の主要評価項目は口腔内及び腸内細菌叢と ICI 治療効果との相関性を解析することとした。

方法 唾液及び糞便から DNA を抽出し、それらを鋳型として 16SrRNA 領域 (V3-V4 領域) を Polymerase Chain Reaction で増幅し、ライブラリーを作成した。得られた増幅断片を次世代シーケンス (MiSeq system, Illumina, San Diego, CA, USA) にて細菌の構成を解析した。ICI レスポンダー (complete response: CR あるいは partial response: PR を認めた症例) と ICI 非レスポナー (stable disease: SD あるいは progression disease: PD であった症例) の 2 群に分類し、QIMME1 解析ソフトによるメタ 16SrRNA 解析 (OTU 化・ α 多様性解析・ β 多様性解析) 及び Linear discriminant analysis (LDA) effect size (LefSe) 解析プログラムによる細菌叢の群間比較解析を行った。p<0.05 を統計学的に有意とした。

結 果

28 症例の臨床病理学的特徴

期間内に 34 症例の登録が行われ、登録後同意撤回、検体回収不能あるいは検体保存状態不良例を除いた計 28 症例の解析可能な唾液及び糞便を得た (図 1)。28 症例の内訳は、性別：男性/女性 = 21/7, 平均年齢 71 歳 (56-88), ECOG-PS : 0/1 = 15/13, 喫煙歴：現喫煙者/過去喫煙者/非喫煙者 = 12/9/7, 病期：進行/術後再発 = 19/9, 組織型：腺癌/扁平上皮癌 = 16/12, EGFR 遺伝子変異：あり/なし・不明 = 7/21, 腫瘍内 PD-L1 発現： $\geq 50\%$ /1-49%/<1%/不明 = 10/10/3/5, ICI 治療：単剤/併用 = 24/4, 前治療：0/1/2/3/ ≥ 4 = 11/10/5/1/1, サイクル数：中央値 12 (3-73), 効果判定：CR/PR/SD/PD = 0/17/2/9, 免疫関連有害事象：なし/あり = 9/19 であった (表 1)。CR 及び PR 症例をレスポナー (n=17), SD 及び PD 症例を非レスポナー (n=11) とした (図 1)。ICI 開始から検体採取までの期間は、ICI レスポンダーで平均 307 日 (29-945), 非レスポナーで平均 117 日 (23-491) であった (図 2)。

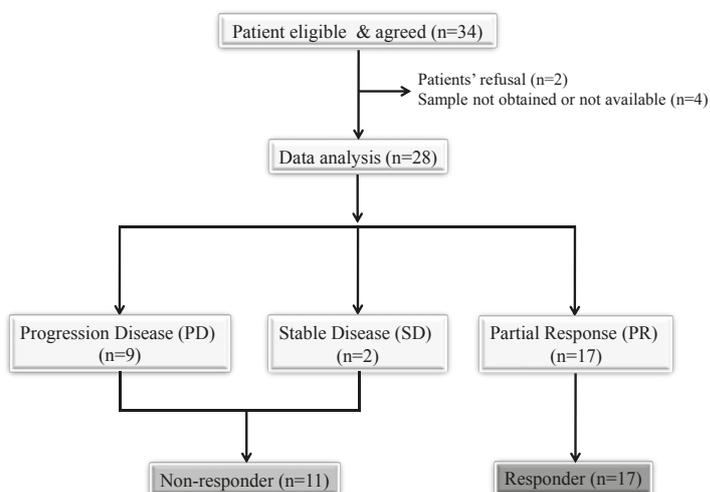


図 1 本研究のフローチャート

表 2 28 症例の臨床病理学的特徴

Items		No.(%) or Median (Range)
Gender	Male/female	21(75.0)/7(25.0)
Age	yr	71(56-88)
ECOG-PS	0/1	15(53.6)/13(46.4)
Smoking status	Cur/form/non	12/9/7
Stage	Advanced/postoperative recurrence	19(67.9)/9(32.1)
Pathology	Ad/Sq	16(57.1)/12(42.9)
EGFR status	Mt/wtor unknown	7/21
PD-L1 expression	>50/1-49/<1/unknown	10(35.7)/10(35.7)/3(10.8)/5(17.8)
ICI	Monotherapy (Pembro/nivo/atezo/durva)	24(11/3/7/3) (85.7)
	Combination therapy (CBDCA based+pembro)	4(14.3)
Line	1/2/3/4/>5	11(39.3)/10(35.7)/5(17.8)/1(3.6)/1(3.6)
Cycles		12(3-73)
Response	CR/PR/SD/PD	0(0.0)/17(60.7)/2(7.2)/9(32.1)
irAE	No/yes	19(67.9)/9(32.1)

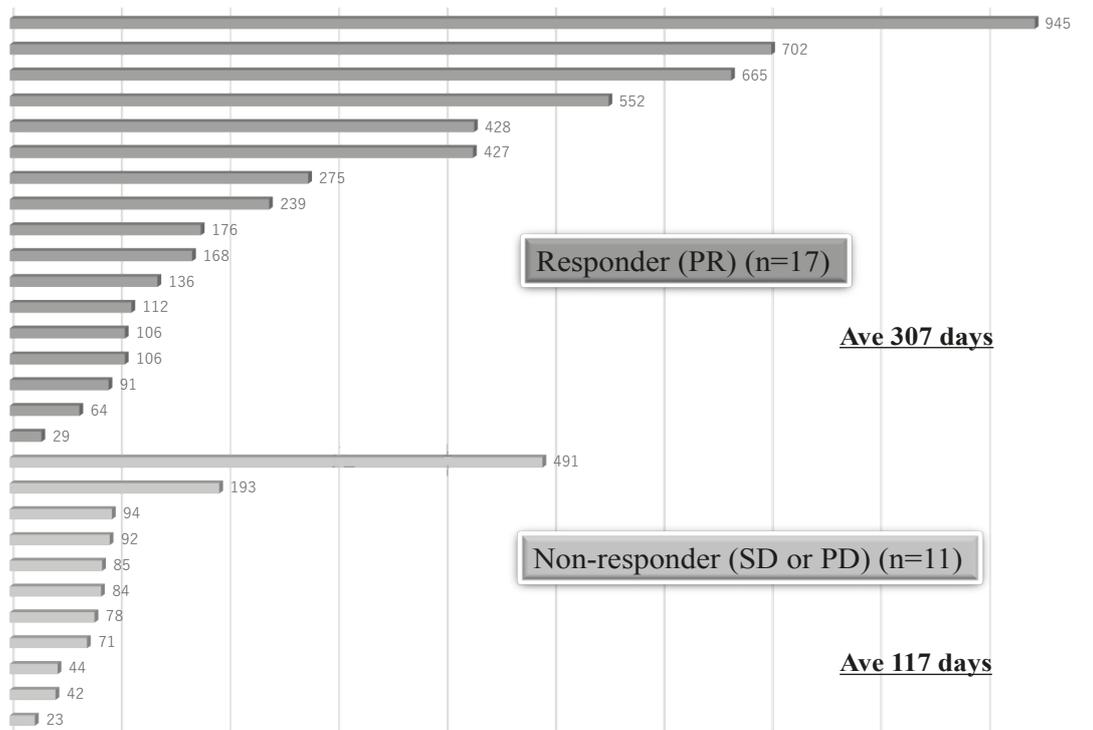


図 2 ICI 治療開始から唾液・糞便採取までの期間 (日)

ICI レスpons別における口腔内及び腸内細菌叢割合

門レベルにおける口腔内及び腸内細菌叢の積み上げ棒グラフを示す (図 3)。ICI レスponder及び非レスponderともに口腔内では比率上位 6 菌種 (Firmicutes, Bacteroidetes, Proteobacteria, Actinobacteria, Fusobacteria, TM7) の占有率に差を認めなかった (図 3-1)。一方、腸内では比率上位 4 菌種 (Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria, Proteobacteria) に占有率の差を認めなかったが、第 5 位菌種が ICI 非レスponderでは Fusobacteria 門であるのに対して、レスponderでは Verrucomicrobia 門であった (図 3-2)。図 4 は属レベルにおける口腔内及び腸内細菌叢の積み上げ棒グラフを示す。口腔内細菌叢の上位 5 菌種は Streptococcus, Veillonella, Prevotella, Neisseria, Haemophilis で占有されていた (図 4-1)。腸内細菌叢は両群ともに Bacteroides, Ruminococcaceae, Lachnospiraceae の 3 菌種で

占有されていたが、ICI非レスポナーでは第4、5位菌種がPrevotella, Bifidobacterium, レスポナーではStreptococcus, Blautiraで占有されていた(図4-2)。

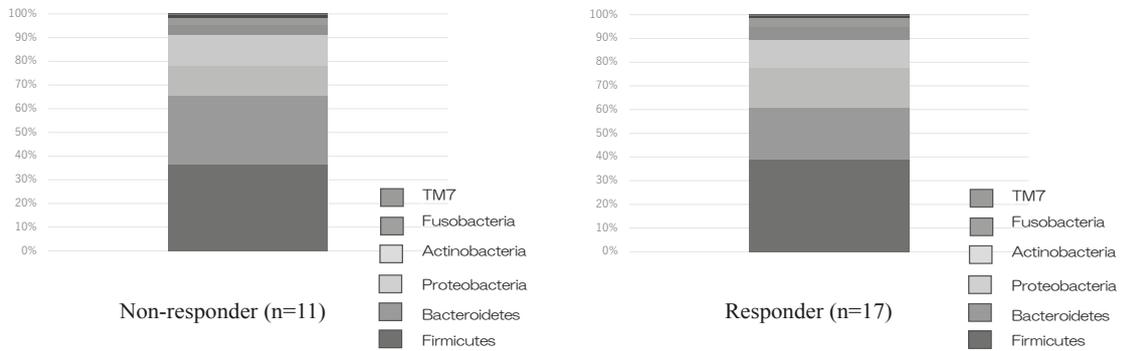


図 3-1 口腔内細菌叢の積み上げ棒グラフ (門レベル)

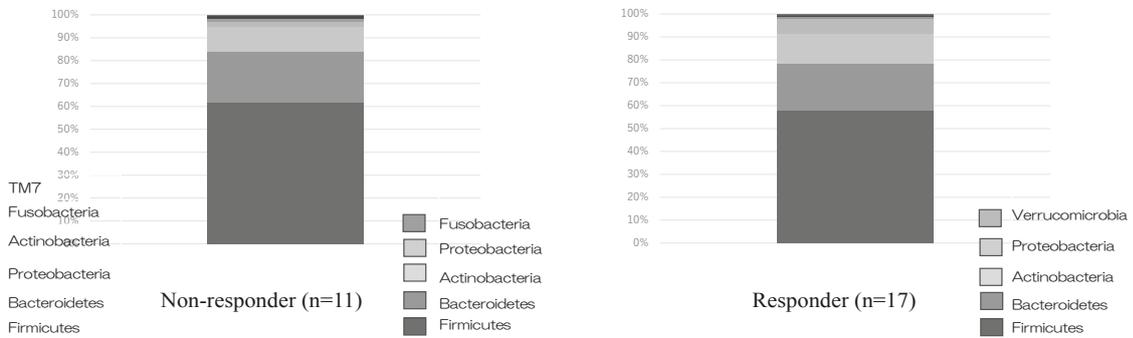


図 3-2 腸内細菌叢の積み上げ棒グラフ (門レベル)

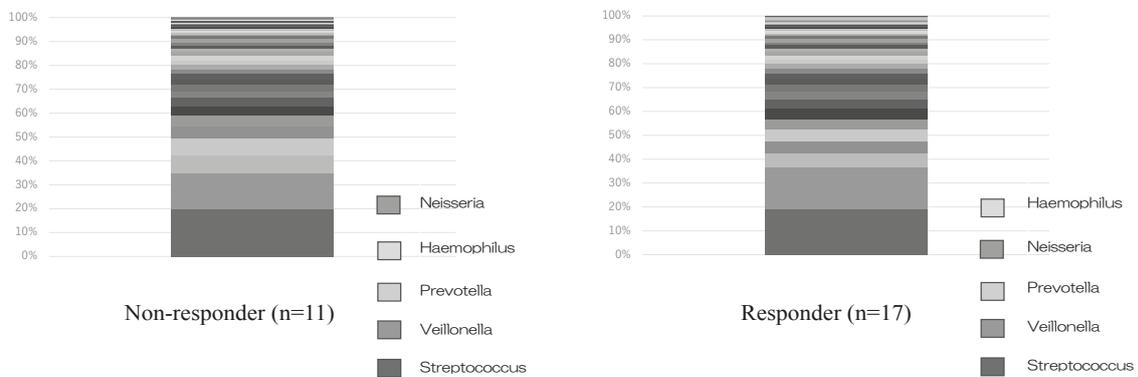


図 4-1 口腔内細菌叢の積み上げ棒グラフ (属レベル)

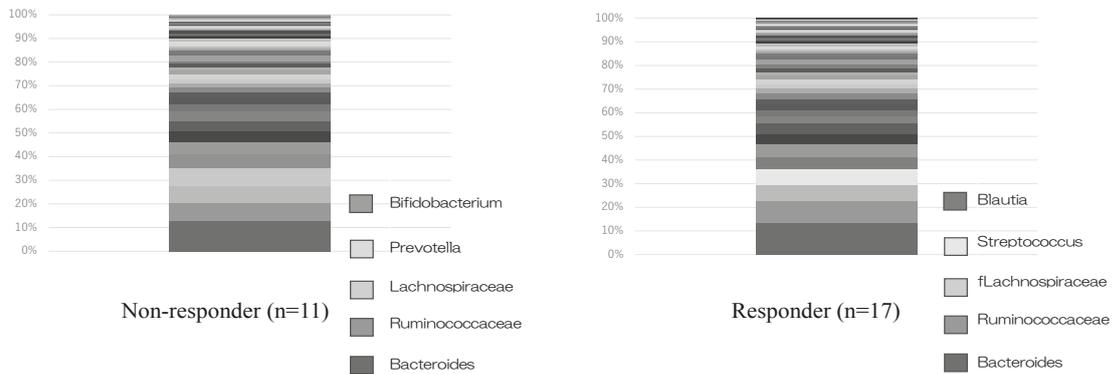


図 4-2 腸内叢の積み上げ棒グラフ (属レベル)

口腔内及び腸内細菌叢における α 多様性及び β 多様性解析

属レベルにおける口腔内及び腸内細菌叢の α 多様性解析を行った (図 5)。口腔内細菌叢においては ICI レスポンダー・非レスポナー間に有意な差を認めなかった (図 5-1)。一方, 腸内細菌叢においては ICI レスポンダーでは非レスポナーと比較して有意に高い α 多様性を認めた (図 5-2, Chao1; $p=0.0174$, PD whole tree; $p=0.0219$, Observed species; $p=0.0238$, Shannon; $p=0.0362$)。次に β 多様性解析を行うために主座標分析 (Principal coordinate analysis: PCoA) を行い, 各プロット間の距離を数値化し, 両群間で比較したところ, 口腔内及び腸内細菌叢いずれにおいても有意差を認めなかった (口腔内細菌叢; 図 6-1, 腸内細菌叢; 図 6-2)。

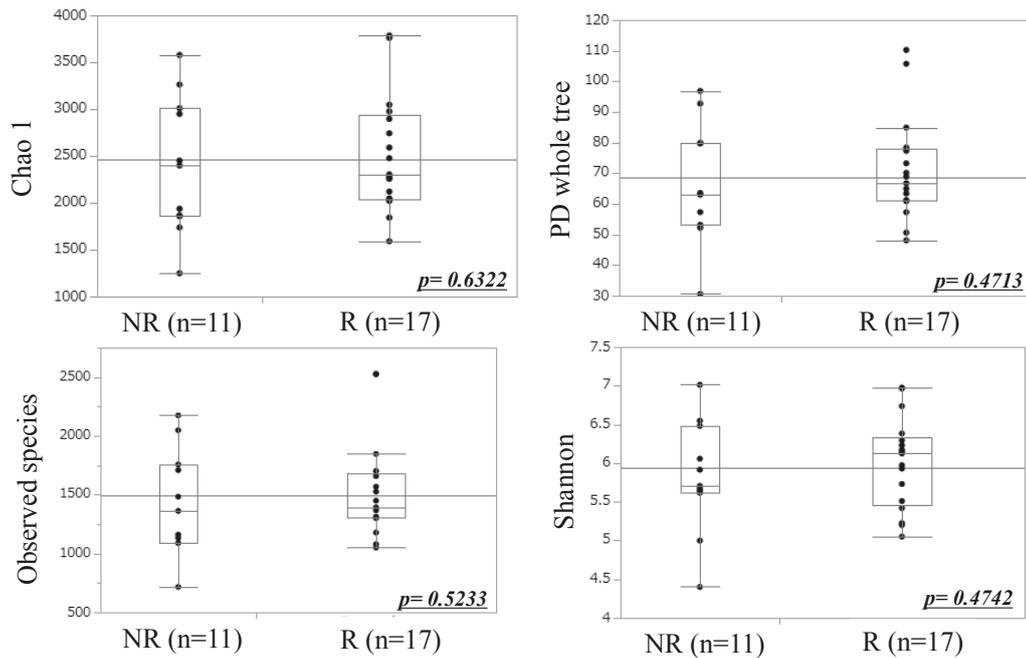


図 5-1 ICI 効果別における口腔内細菌叢の α 多様性解析 (属レベル)

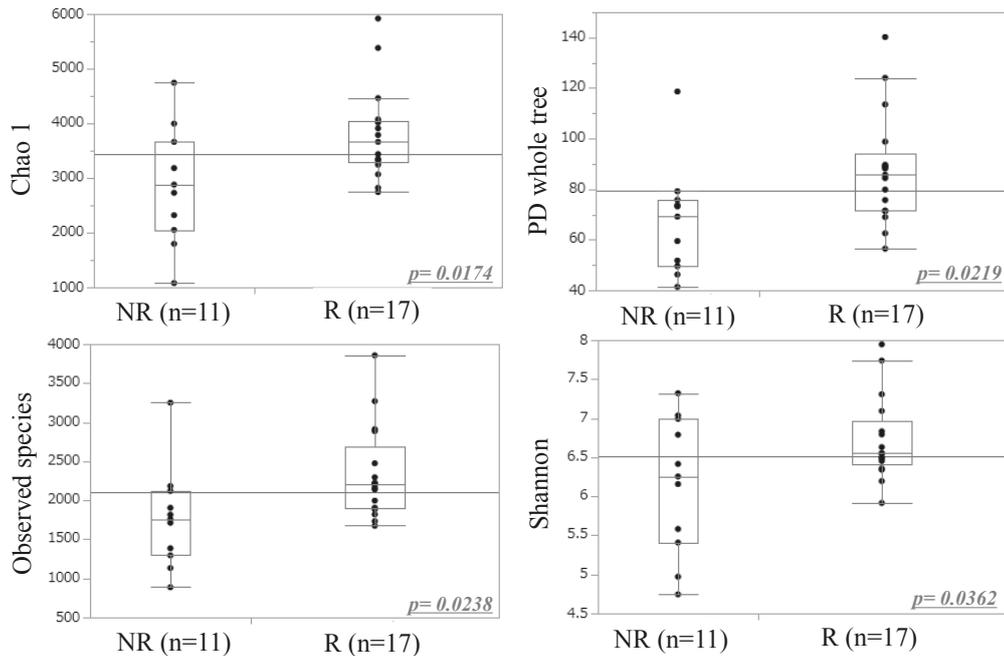


図 5-2 ICI 効果別における腸内細菌叢の α 多様性解析 (属レベル)

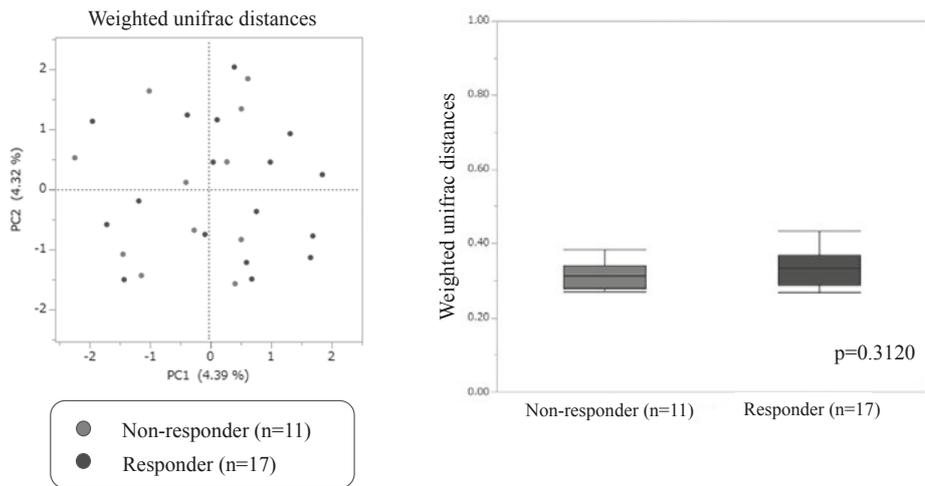


図6-1 ICI 効果別における口腔内細菌叢のPCoA 分析とβ多様性解析（属レベル）

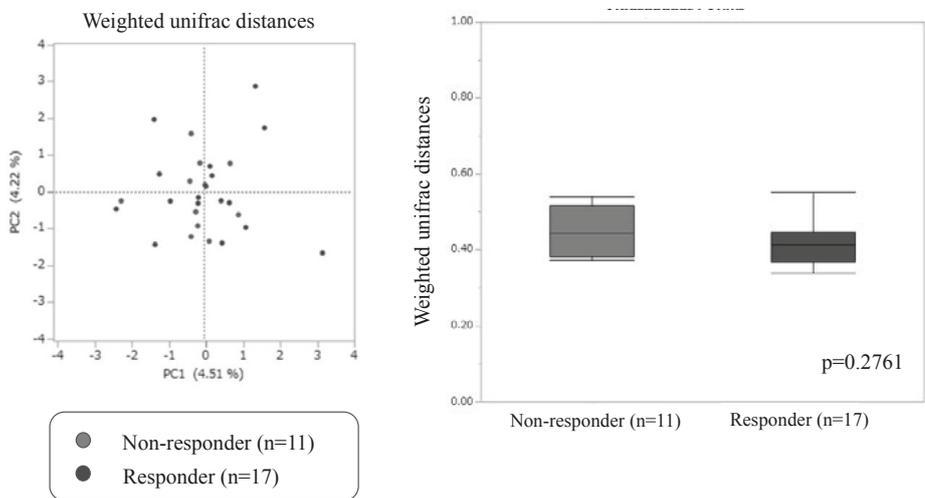


図6-2 ICI 効果別における腸内細菌叢のPCoA 分析とβ多様性解析（属レベル）

腸内細菌叢の群間比較解析

LefSe を使用し、ICI レスポンダーと非レスポンダーとの群間の違いと相関を示す口腔内及び腸内細菌叢を属レベルで探索した。口腔内細菌叢においては有意な差を認めなかったものの、腸内細菌叢においては、ICI レスポンダーで *Blautia* 属を有意に認め、非レスポンダーで RF 目に属する未同定分類群が有意に多く認められた (図7)。

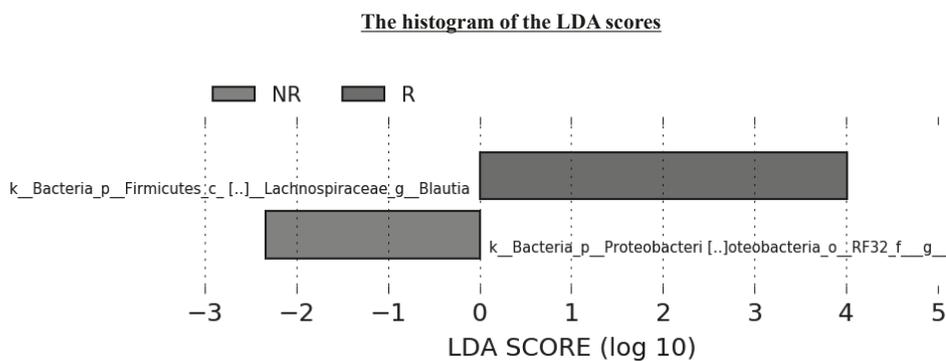


図7 ICI 効果別における腸内細菌叢の群間比較解析（属レベル）

考 按

体内細菌叢研究はゲノム科学技術が進歩し、体内細菌叢と宿主の免疫機能や様々な疾患との関連性が科学的に証明されるようになった。中でも抗PD-1/PD-L1抗体を中心としたICIによる癌免疫療法における腸内細菌叢研究は欧米を中心に盛んに行われている。近年、特定の腸内細菌が癌免疫反応を増強してICI効果に補助的な作用をすることや腸内細菌叢の高い多様性がICI奏効と関わりがあることが判明し注目を集めている。まず2015年にマウスモデルにおいて、*Bifidobacterium longum*や*Bacteroides fragilis*に抗腫瘍免疫の活性化作用が確認された¹⁾。ついで2018年、欧米の3つの研究グループからヒトにおける効果が報告された。ICIレスポンドーと非レスポンドーの腸内細菌叢を比較したところ、レスポンドーの腸内細菌叢は多様性が高く、特徴的な腸内細菌として*Bifidobacterium longum*, *Collinsella aerofaciens*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus hirae*, *Akkermansia muciniphila*, *Ruminococcaceae*/*Faecalibacterium prausnitzii*が同定された²⁾⁻⁵⁾。さらに2019年の米国癌学会議では、抗PD-1抗体レスポンドーの腸内細菌をマウスに移植(Fecal microbiota transplantation: FMT)すると抗PD-1抗体の効果が認められたことを踏まえて、海外ではPhase I study (NCT03353402)が開始され、ヒトを対象にFMTを行い、抗PD-1抗体再投与したところ、安全性が確認されたのみならず、FMT施行2/3の患者が非レスポンドーからレスポンドーに変化したと報告された。こうした研究結果はICI効果予測バイオマーカーとしての腸内細菌叢の可能性を示唆しており、腸内細菌叢を強制的に変化させることでICI治療効果をコントロールできることが期待される。アジアにおいては中国からICI奏効には*Alistipes putredinis*, *Bifidobacterium longum*, *Prevotella copri*, *Ruminococcus unclassified*といった腸内細菌の関与が示唆されており、また腸内細菌の高い多様性もICI効果に関与していると報告されている^{8) 9)}。しかしながら、国によって腸内細菌叢の菌種組成は全く異なっており⁷⁾、上述のような既存のデータをそのまま日本人には応用できないため、本邦独自の腸内細菌研究が必要と考えられた。

本研究は、ICI治療を行っている日本人非小細胞肺癌におけるデータである。口腔内細菌叢ではICIレスポンドーと非レスポンドーには明らかな相違を認めなかったが、腸内細菌叢においてはいくつかの注目すべき結果を得ることができた。まず、これまでの諸外国の報告と同様にICIレスポンドーは非レスポンドーと比較して有意に高い多様性を示した。また α 多様性を認めたものの、 β 多様性には差異を認めなかったことから、ICIレスポンドーの腸内細菌は細菌叢を構成する菌種数が多く、均一性があると同時に、こうした多様性はメジャーな腸内細菌種ではなく、マイナーな腸内細菌種によってもたらされていることが推測された。さらにICIレスポンドーの腸内細菌においてBlautia属を、非レスポンドーの腸内細菌にはRF32目未同定分類群を多く認めた。Blautia属(Firmucutes門Clostridia綱Clostridiales目Lachnospiraceae科)は日本人に多い菌種であり、中でもBlautia coccoidesは日本人によって発見されたグラム陽性菌で有用菌と推定されている。高齢者、糖尿病、肝硬変、大腸癌、乳癌患者の腸内細菌において減少しているとされる。一方、RF32目に属する細菌は、結腸の炎症に関与したり、動脈硬化などの心疾患に関与するtrimethylamine N-oxideの増加とともに確認されるとされている。こうした特徴を有する腸内細菌が日本人非小細胞肺癌においてICI効果に重要な役割を担っている可能性が示唆された。

本研究のlimitationsは①解析症例数が少ないこと、②腸内細菌の経時的変化を観察していないこと、③ICIレジメンを統一していないこと、があげられる。現在我々は、限定したICIレジメンを使用する進行/再発非小細胞肺癌症例を対象に経時的に腸内細菌叢を前向きに観察していく多施設共同研究を実施中である。

おわりに

本研究では日本人進行/再発非小細胞肺癌におけるICI治療効果と口腔内及び腸内細菌叢の菌種及び多

様性との関連性を明らかにした。今後、さらに研究を進展させ、日本人進行/再発非小細胞肺癌におけるICI効果予測バイオマーカーの開発やバイオティクスへの応用へ展開していきたい。

文 献

- 1) Shoji F, Takeoka H, Kozuma Y, et al. Pretreatment prognostic nutritional index as a novel biomarker in non-small cell lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Lung Cancer* **36** : 5-51, 2019.
- 2) Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* **350** : 1084-9, 2015.
- 3) Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* **359** : 97-103, 2018.
- 4) Matson V, Fessler J, Bao R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science* **359** : 104-8, 2018.
- 5) Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science* **359** : 91-7, 2018.
- 6) Atarashi K, Suda W, Luo C, et al. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science* **358** : 359-65, 2017.
- 7) Nishijima S, Suda W, Oshima K, et al. The gut microbiome of healthy Japanese and its microbial and functional uniqueness. *DNA Res* **23** : 125-33, 2016.
- 8) Jin Y, Dong H, Xia L, et al. The Diversity of Gut Microbiome is Associated With Favorable Responses to Anti-Programmed Death 1 Immunotherapy in Chinese Patients With NSCLC. *J Thorac Oncol* **14** : 1378-89, 2019.
- 9) Bernicker EH, Quigley EMM. The Gut Microbiome Influences Responses to Programmed Death 1 Therapy in Chinese Lung Cancer Patients - the Benefits of Diversity. *J Thorac Oncol* **14** : 1319-22, 2019.

進展型小細胞肺癌患者における免疫チェックポイント阻害剤の 効果予測因子としての栄養/免疫学的指標の 臨床的意義に関する前向き観察研究

高森 信吉*

要旨 近年、進行肺癌における免疫チェックポイント阻害剤が臨床応用されるようになり、治療成績の向上に寄与している。免疫チェックポイント阻害剤の治療効果のバイオマーカーとして、PD-L1などの腫瘍側の因子が広く認識されているが、患者の栄養状態や免疫学的指標などの宿主側の因子も注目されつつある。本研究は、免疫チェックポイント阻害剤にて治療される肺癌患者を対象として、宿主側の栄養状態/免疫学的指標の臨床的意義を検討する多施設前向き観察研究である。本研究は現在症例集積中であり、2024年に結果を報告する予定である。

はじめに

肺癌はわが国の癌死亡原因の第一位である。近年、Ⅳ期肺癌において、抗 Programmed cell death-1 (PD-1) 抗体を含む免疫チェックポイント阻害剤が開発・臨床応用され、治療成績の向上に寄与している¹⁾。非小細胞肺癌では、治療効果のバイオマーカーとして、腫瘍側の Programmed cell death-ligand 1 (PD-L1) 発現が広く認識されている。しかしながら、実臨床において、PD-L1 高発現であっても効果を認めない症例を認めており、腫瘍細胞における PD-L1 発現以外の因子も免疫チェックポイント阻害剤の治療効果に寄与していると考えられている。肺癌においては、その進行の早さから、診断時に悪液質や低栄養状態を認めている患者が多い。

我々は、後方視的研究にて、抗 PD-1 抗体 (Pembrolizumab) 投与症例における栄養指標 Controlling nutritional status (CONUT) 値と予後の関係について検討した。その結果、CONUT 法にて高栄養 (2 以下) とされた患者群は低栄養とされた患者群 (3 以上) と比べて、無増悪生存期間および全生存期間が有意に長かった (図 1)。CONUT 値は、無増悪生存期間および全生存期間の独立した予後因子であった (無増悪生存期間ハザード比, 0.24; $P=0.020$, 全生存期間ハザード比, 0.17; $P=0.009$)²⁾。そこで我々は、前向き観察研究にて、宿主側の栄養状態/免疫学的指標が、免疫チェックポイント阻害剤の治療効果に対して、どのような臨床的意義を持っているか、明らかにする必要があると考えた。

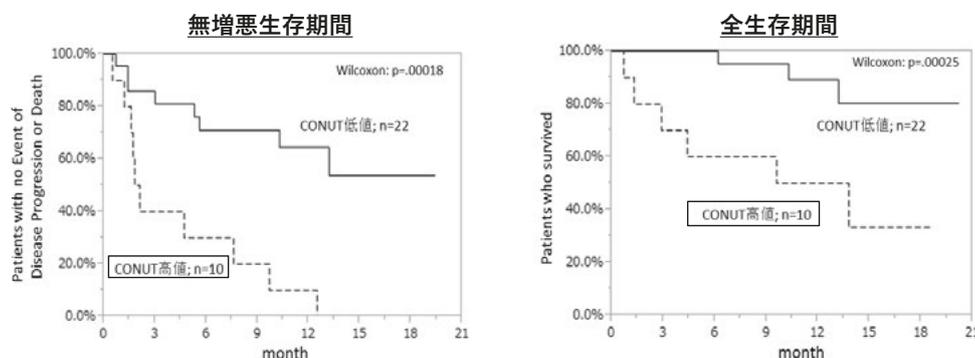


図 1 当科における抗 PD-1 抗体 (Pembrolizumab) 投与症例における CONUT 値と予後の関係

*九州がんセンター 呼吸器腫瘍科

対 象

免疫チェックポイント阻害剤の治療を施行する進行肺癌患者のうち、以下の選択基準を満たす患者を対象とする。肺癌は非小細胞肺癌コホートと、小細胞肺癌コホートに分けて症例集積を行い、それぞれ検討を行う。

<選択基準>

- 病理学的に肺癌と診断。
- 腫瘍細胞のPD-L1発現を評価できる患者。
- 20歳以上の患者。
- 根治照射不能な進行肺癌。
- 免疫チェックポイント阻害剤を含むレジメンによる治療を1次治療として受ける症例。
- 文書により同意の得られた症例。

方 法

以下のごとく、治療前、治療効果判定時（1回目）、治療効果判定時（2回目）、治療終了時の合計4回にわたり、データを収集する（図2）。

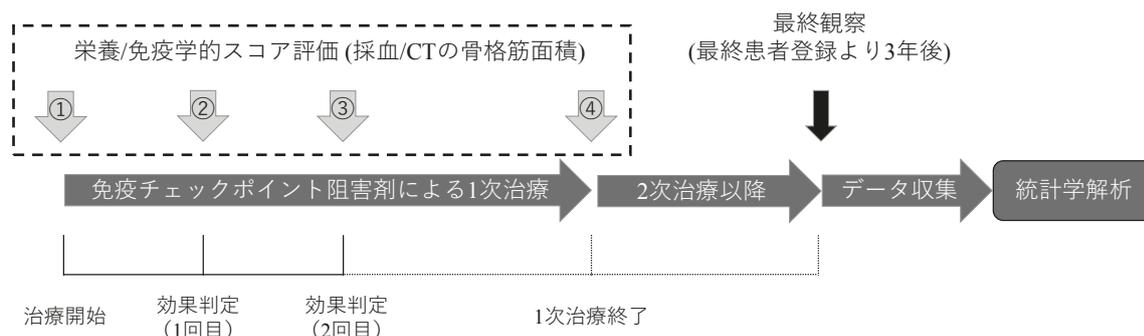


図2 研究方法のシェーマ

治療前（1ヵ月以内）に行う評価

登録後治療開始までに下記の評価を行う

- 1) 患者背景：年齢，性別，身長，体重，喫煙歴，併存疾患，病理診断法，組織型，脳転移の有無，既往歴，合併症，内服薬情報（ARB，ステロイドの有無）
- 2) 全身状態：理学所見（バイタルサイン），PS（ECOG），BMI
- 3) 臨床検査：末梢血算：白血球（好中球数，リンパ球数，好酸球数），赤血球，ヘモグロビン，血小板数
- 4) 血液生化学的検査項目：総蛋白，アルブミン，CPK，CRP，T.chol，TG，CEA，SCC，SYFRA
- 5) 画像検査：骨格筋面積³⁾（図3：第3腰椎レベルの骨格筋面積をOsiriXソフトウェアにて測定〔各参加施設よりCT画像データを集計，測定は研究事務局にて施行〕）
- 6) 試料評価：腫瘍細胞のPD-L1発現（抗体の種類）

治療期間中の検査と評価

<治療効果判定時（1回目）>

下記の項目につき通常診療範囲内の頻度で実施する。

- 1) 臨床検査：末梢血算：白血球（好中球数，リンパ球数，好酸球数），赤血球，ヘモグロビン，血小板数
- 2) 血液生化学的検査項目：総蛋白，アルブミン，CPK，CRP，T.chol，TG，CEA，SCC，SYFRA

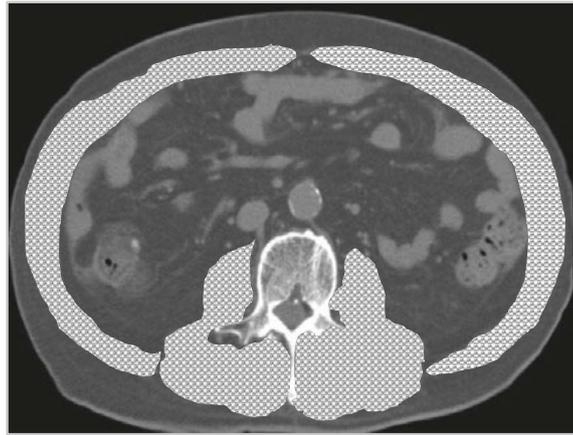


図3 第3腰椎レベル骨格筋領域

3) 画像検査：骨格筋面積³⁾(図3：第3腰椎レベルの骨格筋面積をOsiriXソフトウェアにて測定 [各参加施設よりCT画像データを集計，測定は研究事務局にて施行])

<治療効果判定時（2回目），治療終了時>

下記の項目につき通常診療範囲内の頻度で実施する。

- 1) 臨床検査：末梢血算：白血球（好中球数，リンパ球数，好酸球数），赤血球，ヘモグロビン，血小板数
- 2) 血液生化学的検査項目：総蛋白，アルブミン，CPK，CRP，T.chol，TG，CEA，SCC，SYFRA

結 果

非小細胞肺癌コホートにおける，症例集積経過を図4に示す。2020年11月22日現在，目標症例数300例のうち，46例の症例集積を行った。コロナ感染のため，各施設の倫理審査委員会の大幅な延期の影響もあり，2020年前半の症例集積スピードは緩やかであったが，2020年10月以降，約20例/月の集積が得られている。2021年12月までに目標症例数の300例を集積する予定である。

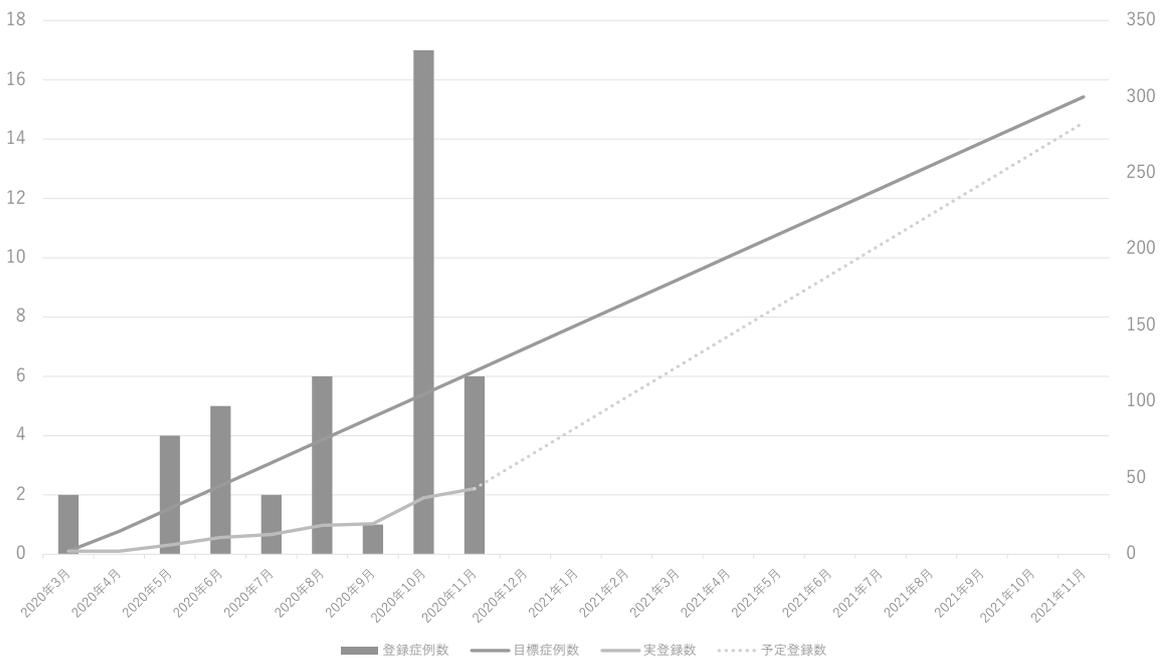


図4 現在の目標登録数と実登録数（非小細胞肺癌コホート）

小細胞肺癌コホートに関しては、EDC 構築および症例登録費のために必要な資金を調達中であるが、2020 年 12 月に獲得を予定している。2021 年以降、各施設の倫理審査委員会を経た後、症例集積開始予定である。

なお、本研究計画に関してはプロトコル論文として執筆し、現在論文投稿中である (PLoS ONE, under revision)。

おわりに

本研究は現在症例集積中であり、非小細胞肺癌コホートに関しては、追跡期間終了予定の 2023 年に結果を報告する予定である。小細胞肺癌コホートに関しては 2021 年より症例集積を開始し、2024 年に結果を報告する予定である。

文 献

- 1) Gandhi L, Rodriguez-Abreu D, Gadgeel S, et al: Pembrolizumab plus Chemotherapy in Metastatic Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med* **378** : 2078-92, 2018.
- 2) Ohba T, Takamori S, Toyozawa R, et al: Prognostic impact of the Controlling Nutritional Status score in patients with non-small cell lung cancer treated with pembrolizumab. *J Thorac Dis* **11** : 3757-68, 2019.
- 3) Prado CM, Lieffers JR, McCargar LJ, et al: Prevalence and clinical implications of sarcopenic obesity in patients with solid tumours of the respiratory and gastrointestinal tracts: a population-based study. *Lancet Oncol* **9** : 629-35, 2008.

Circulating cell-free tumor DNA 解析による 膵癌術前化学療法の効果予測

廣野 誠子*

要旨 Borderline resectable (BR) 膵癌は、術前治療後に外科的切除を行うことが推奨されている。本研究では、13 例の BR 膵癌に対して、術前治療の前後と外科的切除後に血液を採取し、Cancer Personalized Profiling by deep Sequencing (CAPP-Seq) を用いた circulating cell-free tumor DNA (ctDNA) 変異解析を行った。外科的切除後に RAS family ctDNA 変異が検出された症例や、allele fraction 頻度が増加した症例は recurrence free survival ならびに overall survival は極めて不良であった。さらなる症例を蓄積し、その意義について検討する。

はじめに

難治癌である膵癌の根治可能な治療法は、外科的切除を含めた集学的治療のみである。膵癌は、画像診断において、その進行程度により切除可能膵癌、borderline resectable (BR) 膵癌、切除不能膵癌に分類され(膵癌取り扱い規約第7版)、切除可能膵癌に対しては、外科的切除+補助化学療法、BR 膵癌に対しては術前化学(放射線)療法後に外科的切除+補助化学療法、切除不能膵癌に対しては化学療法という治療方針が推奨されている(膵癌診療ガイドライン)。われわれは、BR 膵癌に対して、抗腫瘍効果の強い gemcitabine (GEM)・nab-paclitaxel (nab-PTX) 併用療法を用いた術前化学療法の安全性を証明し¹⁾、その有用性を検討するため、多施設共同研究による第Ⅱ相臨床試験を実施中である(NAC-GA trial)²⁾。しかしながら、術前化学療法の抗腫瘍効果は個人差があり、奏功すれば良好な生存期間が期待できるが、治療効果が乏しい膵癌症例の予後は不良である。すなわち、膵癌に対する術前化学療法の効果予測ができる遺伝子解析の開発が急務である。

膵癌は腫瘍不均一性をもつため、生検組織の遺伝子異常解析では薬剤に対する感受性を評価することはできず、また治療に対する反応性・耐性を評価するためには、治療中繰り返し遺伝子解析を行う必要があり、高侵襲な組織生検を繰り返すことは不可能である。近年、原発巣ならびに転移巣の腫瘍から血中に循環する腫瘍細胞の DNA (circulating cell-free tumor DNA; ctDNA) を用いた非侵襲的な遺伝子解析が注目され、癌の診断・治療予測への応用が期待されている。特に、Cancer Personalized Profiling by deep Sequencing (CAPP-Seq) は、197 種類の遺伝子の癌特異的に変異を認める領域を同時にシーケンスし、cell-free tumor DNA の 4 種類の変異(一塩基多型、挿入欠失、コピー数多型、融合領域)を高効率に検出できる超高感度な cell-free tumor DNA 定量法として開発された^{3) 4)}。さらに、CAPP-Seq を用いて、非小細胞肺癌患者の治療効果の評価、治療薬あるいは放射線治療に対する耐性メカニズムが解明された⁵⁾。

本研究は、BR 膵癌患者の血液を、術前治療開始前、術前治療後、手術後に採取し、抽出した cell-free DNA (cfDNA) を用いて、CAPP-Seq による ctDNA 変異解析のモニタリングをすることで、膵癌における術前治療としての GEM・nab-PTX 併用療法の効果判定を行うことを目的とする。本研究が遂行できれば、各膵癌患者に最適な個別化術前治療の選択が可能となり、さらには、膵癌患者の生存期間延長に貢献することができる。

*和歌山県立医科大学 外科学第2講座

方 法

1. 肺癌患者からの血液採取

BR 肺癌に対して GEM・nab-PTX 併用療法による術前治療後に手術を行った患者 13 例を対象とした。術前治療開始前、術前治療後、外科的切除後 1ヶ月目の 3 ポイントで血液を採取した。

2. 血液サンプルから cell-free DNA の抽出

血液サンプルを 1800g で 5 分間遠心し、分離した血漿から、AVENIO cfDNA Isolation Kit を用いて cell-free DNA を抽出した。Qubit Assay による cell-free DNA の定量と Agilent Bioanalyzer による cell-free DNA の quality の確認を行い、CAPP-Seq による cell-free tumor DNA 変異解析に使用するまで -80℃ の超低温フリーザーに保管した。

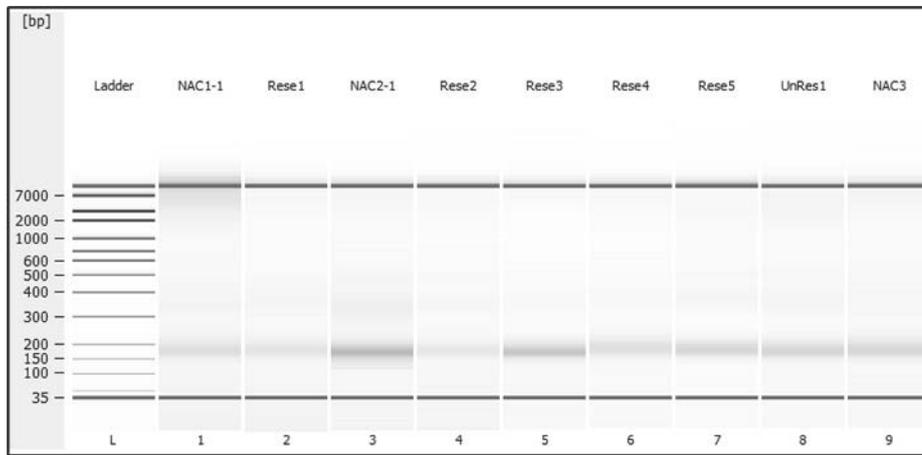


図 1 Cell-free DNA の抽出

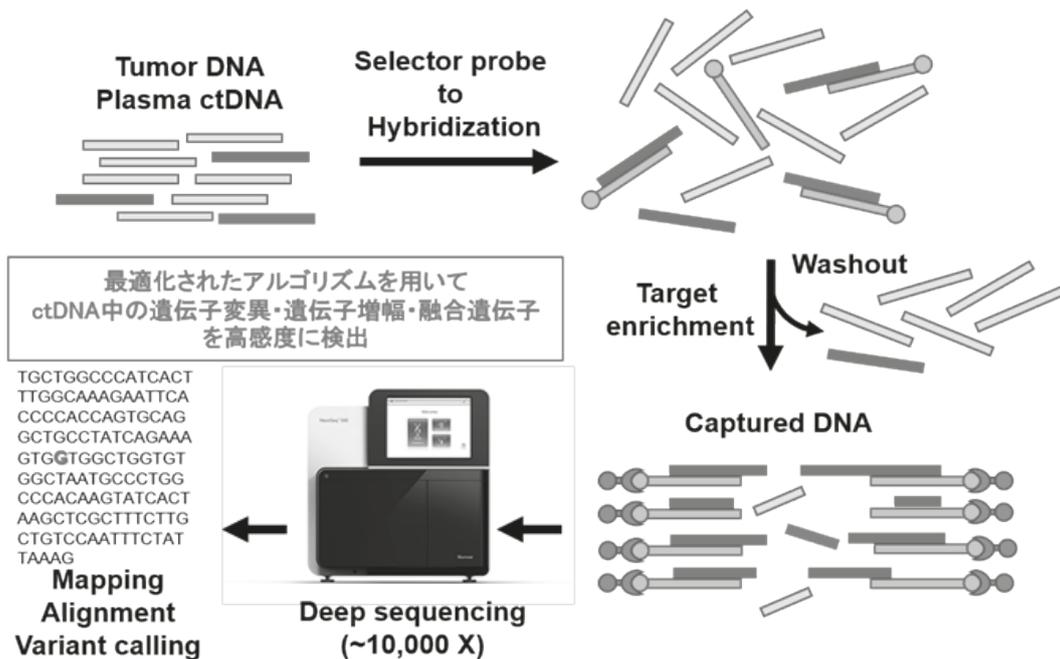


図 2 CAPP-Seq workflow

3. CAPP-Seq による ctDNA の変異頻度の定量化

ctDNA Library Prep Kit を用いて、膵癌患者の cell-free DNA に adaptor を ligation し、PCR にて増幅する。ctDNA Surveillance Panel にて 197 の標的領域の一塩基多型、挿入欠失、コピー数多型、融合領域の 4 種類の cell-free tumor DNA の変異頻度を定量化した ctDNA Surveillance Panel (197 遺伝子) を用いて、標的領域を hybridization し、DNA 断片を回収 (target enrichment) した。回収した DNA 断片の配列を NextSeq sequencer でシーケンスし、標的領域の一塩基多型、挿入、欠失、コピー数多型、融合領域の 4 種類の ctDNA の変異頻度を定量化した。

結 果

1. 切除不能膵癌症例における化学療法中の ctDNA 変異解析のモニタリング

切除不能膵癌症例に対して、GEM・nab-PTX 併用療法を施行し、治療前、治療開始後 3ヶ月目、PD になった時点の 3ポイントで、CAPP-Seq による ctDNA 変異解析をモニタリングした。その結果、KRAS mutation は、治療前 78.6 copy 認めたが、化学療法開始後 3ヶ月目では検出不能となり、PD になった時点で 94.4 copy に増量した。また TP53 mutation においても、同様に、治療前には 52.2 copy 認めたが、化学療法開始後 3ヶ月目では検出不能となり、PD になった時点で 142 copy に増量した (図 3)。この結果から、CAPP-Seq による cell-free tumor DNA 変異をモニタリングすることで、治療の効果判定が可能であることがわかった。

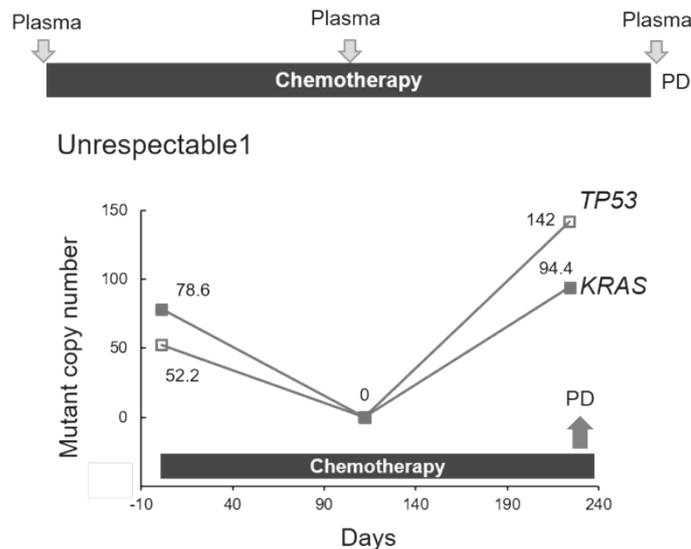


図 3 切除不能膵癌症例の ctDNA 変異量の推移

2. CAPP-Seq により同定した BR 膵癌患者 13 例の ctDNA 変異

BR 膵癌 13 例に対して、術前治療として、GEM・nab-PTX 併用療法を 2 コース (計 6 回投与) 行った後、外科的切除を行った。CAPP-Seq による ctDNA 変異解析を行うため、術前治療開始前、術前治療終了後、外科的切除後 1ヶ月目に採血を行った。BR 膵癌 13 例の年齢中央値は 67 歳 (53-79 歳) で、男性 7 例、女性 6 例であった。初診時の画像診断において、180 度以上の門脈浸潤を認めた BR-PV 膵癌が 6 例、上腸間膜動脈あるいは腹腔動脈浸潤を認めた BR-A 膵癌が 7 例であった。術前治療後の画像評価において、RECIST 判定は、partial response が 3 例、stable disease が 10 例あった。手術術式は、膵頭十二指腸切除術が 9 例、膵体尾部切除術 3 例 (うち 2 例は腹腔動脈・総肝動脈合併切除術)、膵全摘術 1 例であった。13 例のうち 7 例に門脈合併切除術を行った。

BR 肺癌患者症例 13 例に対して、術前治療開始前の血液を採取し、CAPP-Seq を用いて、ctDNA 変異解析を施行した。13 例中 11 例に (84.6%)、ctDNA 変異を認めた。13 例中 3 例 (23.1%) に *KRAS* mutation, *TP53* mutation を認め、2 例 (15.4%) に、*MET* mutation を認めた。そのほか、*BRCA2* mutation, *ALK* mutation, *EGFR* mutation, *BRFA* mutation, *ROSI* mutation, *ERBB2* mutation を、それぞれ 1 例ずつ認めた (図 4)。

	No1	No2	No3	No4	No5	No6	No7	No8	No9	No10	No11	No12	No13	
KRAS														3
TP53														3
MET														2
BRCA2														1
ALK														1
EGFR														1
BRAF														1
ROSI														1
ERBB2														1
	1	3	0	1	2	2	1	1	0	1	1	0	1	

図 4 BR 肺癌症例で検出された ctDNA 変異

3. 術前治療開始前と終了後の ctDNA 変異変化

13 例中 7 例 (53.8%) に、術前治療終了後に ctDNA 変異を認めた。そのうち 3 例は、*Ras* family (*KRAS*, *NRAS*, *BRAF*) の ctDNA 変異を認めた。Allele fraction 頻度は、7 例 (53.8%) で低下し、6 例 (46.2%) は不変であった。Allele fraction 頻度が低下した 7 症例と不変であった 6 症例の recurrence free survival と overall survival を比較すると、両群に差は認めなかった ($P=0.125$, $P=0.319$, 図 5)。一方、術前治療後に *Ras* family の ctDNA 変異を検出した 3 症例は、検出しなかった 10 症例よりも、有意に recurrence free survival ならびに overall survival とも不良であった ($P=0.021$, $P=0.021$, 図 6)。

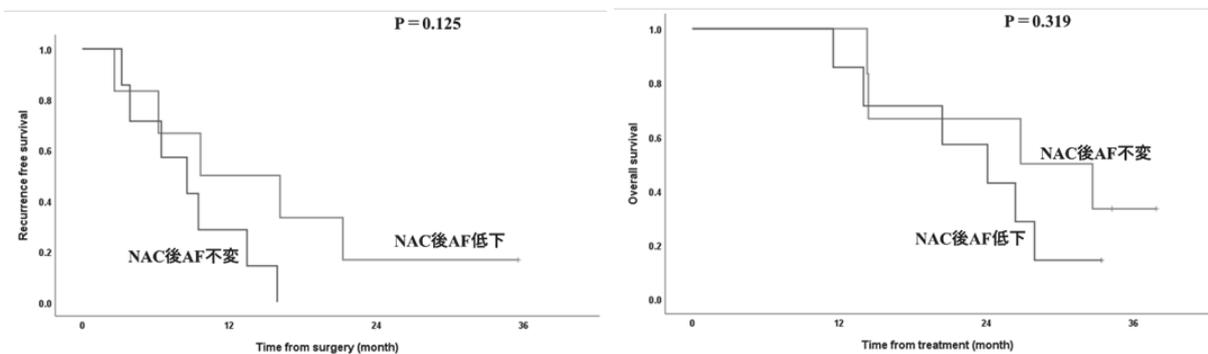


図 5 術前治療後の allele fraction 頻度の変化と recurrence free survival ・ overall survival の関係

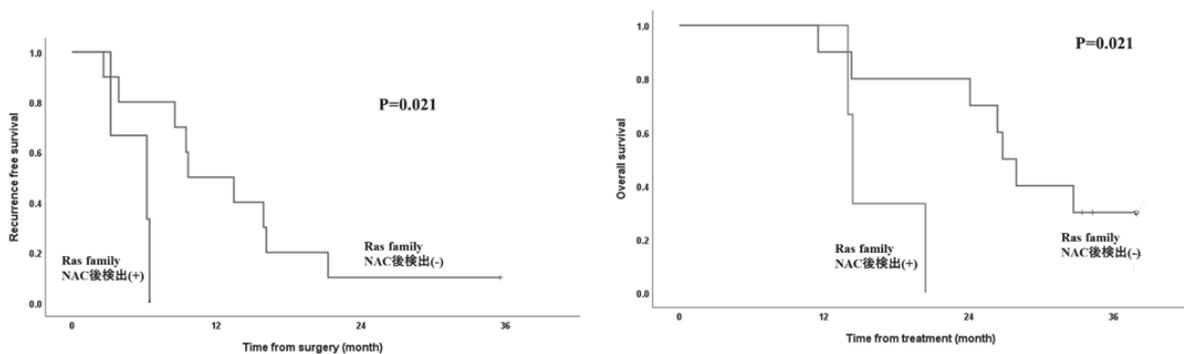


図 6 術前治療後の *Ras* family ctDNA 変異の検出 recurrence free survival ・ overall survival の関係

4. 術前治療開始前後と外科的切除後の ctDNA 変異変化

13 例中 6 例 (46.2%) に、外科的切除後に ctDNA 変異を認めた。そのうち 2 例は、Ras family の ctDNA 変異を認めた。Allele fraction 頻度は、10 例 (76.9%) で低下したが、3 例 (23.1%) は増加した。Allele fraction 頻度が増加した 3 症例は、低下した 10 症例よりも recurrence free survival ならびに overall survival とともに、有意に不良であった ($P < 0.001$, $P < 0.001$, 図 7)。さらに、外科的切除後に Ras family の ctDNA 変異を検出した症例は、検出しなかった症例よりも、有意に recurrence free survival ならびに overall survival とともに不良であった ($P < 0.001$, $P = 0.007$, 図 8)。

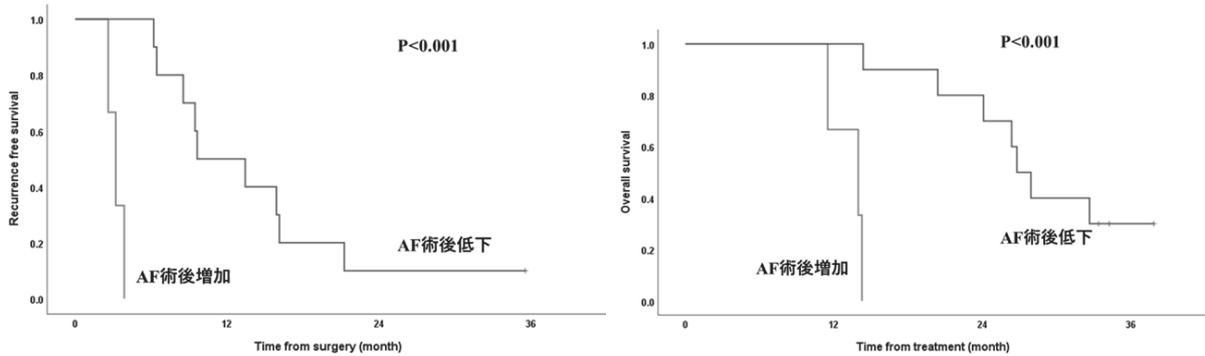


図 7 外科的切除後の allele fraction 頻度の変化と recurrence free survival ・ overall survival の関係

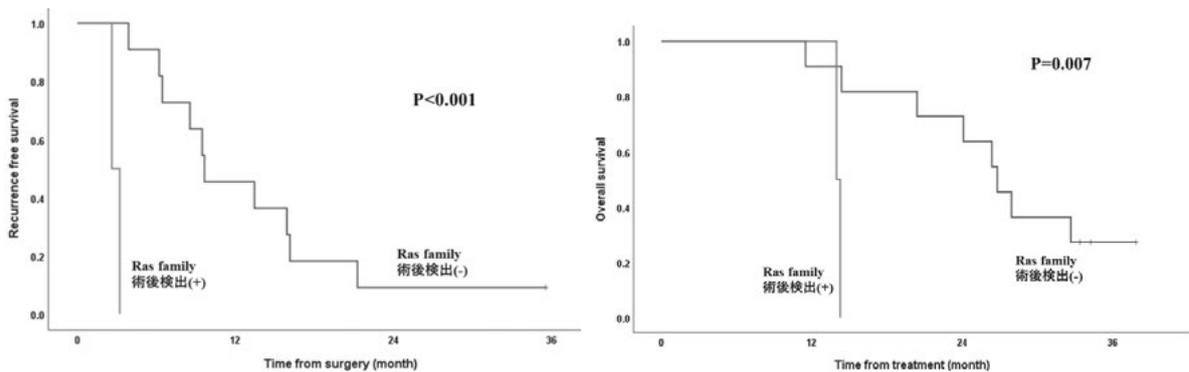


図 8 外科的切除の Ras family 変異検出と recurrence free survival ・ overall survival の関係

考 察

BR 腺癌は、切除可能腺癌に比べ、有意に予後不良であり、手術先行よりも術前治療後に手術を行う方が、生存期間の延長が期待できることが報告されている^{6)–8)}。われわれは、抗腫瘍効果の強い GEM・nab-PTX 併用療法を用いた術前療法安全性を報告し¹⁾、現在、多施設共同前向き臨床研究によりその治療効果を検討している (NAC-GA trial)²⁾。術前治療が著効した症例は、外科的切除後の生存期間が良好であるが、術前治療に効果を認めなかった症例は、外科的切除を行っても予後不良である。術前治療の効果判定は、現在、画像診断と血清 CA19-9 値の推移でしか評価できず、その正診率は低い。本研究では、BR 腺癌に対して、術前治療として GEM・nab-PTX 併用療法を 6 回投与した後に、外科的切除を行った 13 症例を対象に、術前治療開始前、術前治療終了後、外科的切除後の 3 回のポイントで、CAPP-Seq による網羅的 ctDNA 変異解析を行うことで、術前治療の効果判定が可能かを検討した。

本研究に先立ち、化学療法を施行した切除不能腺癌症例から血液を採取し、CAPP-Seq による ctDNA 変異解析を行った結果、治療反応性に ctDNA の推移を認め、本研究の方法が有効であることが分かった。BR 腺癌 13 例の ctDNA 変異解析において、85% に術前治療開始前に ctDNA 変異を検出できた。Allele

fraction 頻度が、術前治療終了後に低下した症例は、54%に認められたが、allele fraction 頻度と術後 recurrence free survival ならびに overall survival とは相関を認めなかった。一方、術前治療終了後に RAS family の ctDNA 変異を検出した症例は、有意に recurrence free survival ならびに overall survival とともに短かった。

外科的切除を行った後の ctDNA 解析では、77%は allele fraction 頻度が低下したが、残りの 33%は allele fraction 頻度が増加した。Allele fraction 頻度が増加した症例は、外科的侵襲を加えることで、癌細胞の採み出しが生じたのではないかと推測する。外科的切除後に allele fraction 頻度が増加した症例は、recurrence free survival ならびに overall survival とともに、極めて不良であった。また、外科的切除後に RAS family の ctDNA 変異を検出した症例は、検出しかつた症例よりも、有意に recurrence free survival ならびに overall survival とともに短かった。

本研究の成果により、CAPP-Seq による ctDNA 変異解析が、膵癌の治療効果に相関することが分かった。しかしながら、術前治療あるいは外科的切除による allele fraction 頻度の変化や RAS family ctDNA 変異の意義については、さらなる症例蓄積による解析が必要である。また、今後は、膵癌外科的切除後の ctDNA 変異解析を行い、術後再発の早期発見に有用であるかを検討する必要がある。

おわりに

本研究では、BR 膵癌に対して、CAPP-Seq を用いた網羅的 ctDNA 変異解析を術前治療・外科的切除前後でモニタリングすることで、各膵癌患者に最適な個別化治療を提供できる可能性が示唆された。

引用文献

- 1) Okada K, Hirono S, Kawai M, Miyazawa M, Shimizu A, Kitahata Y, Ueno M, Hayami S, Yamaue H: Phase I study of Nab-Paclitaxel plus Gemcitabine as neoadjuvant therapy for borderline resectable pancreatic cancer. *Anticancer Res* **37** (2) : 853-8, 2017.
- 2) Okada K, Shimokawa T, Hirono S, Kawai M, Sho M, Satoi S, Matsumoto I, Wguchi H, Murakami Y, Yamada S, Doi M, Yamaue H: Effect of neoadjuvant nab-paclitaxel plus gemcitabine therapy on overall survival in patients with borderline resectable pancreatic cancer: A prospective multicenter phase II trial (NAC-GA Trial). *Oncology* **93** (5) : 343-6, 2017.
- 3) Newman AM, Bratman SV, To J, Wynne JF, Eclow NC, Modlin LA, Liu CL, Neal JW, Wakelee HA, Merritt RE, Shrager JB, Loo BW Jr, Alizadeh AA, Diehn M. An ultrasensitive method for quantitating circulating tumor DNA with broad patient coverage. *Nat Med* **20** (5) : 548-54, 2014.
- 4) Bratman SV, Newman AM, Alizadeh AA, Diehn M. Potential clinical utility of ultrasensitive circulating tumor DNA detection with CAPP-Seq. *Expert Rev Mol Diagn* **15** (6) : 715-9, 2015.
- 5) Chabon JJ, Simmons AD, Lovejoy AF, Esfahani MS, Newman AM, Haringsma HJ, Kurtz DM, Stehr H, Scherer F, Karlovich CA, Harding TC, Durkin KA, Otterson GA, Thomas Purcell W, Ross Camidge D, Goldman JW, Sequist LV, Piotrowska Z, Wakelee HA, Neal JW, Alizadeh AA, Diehn M. Circulating tumour DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanisms in lung cancer patients. *Nat Commun* **14**;7 : 13513, 2016.
- 6) Hirono S, Kawai M, Okada K, Miyazawa M, Shimizu A, Kitahata Y, Ueno M, Yamaue H: Treatment strategy for borderline resectable pancreatic cancer with radiographic artery involvement. *Pancreas* **45** (10) : 1438-46, 2016.
- 7) Jang JY, Han Y, Lee Hm Kim SW, Kwon W, Lee KH, Oh DY, Chie EK, Lee JM, Heo JS, Oark JO, Lim DH, Kim SH, Park SJ, Lee WJ, Koh YH, Park JS, Yoon DS, Lee IJ, Choi SH. Oncological

benefits of neoadjuvant chemoradiation with gemcitabine versus upfront surgery in patients with borderline resectable pancreatic cancer: A prospective, randomized open-label, multicenter phase 2/3 trial. *Ann Surg* **268**(2): 215-22, 2018.

- 8) Versteijne E, Suker M, Groothuis K, Akkermans-Vogelaar JM, Besselink MG, Bonsing BA, Buijsen J, Busch OR, Creemers GM, van Dam RM, Eskens FALM, Festen S, de Groot JWB, Groot Koerkamp B, de Hingh IH, Homs MYV, van Hooft JE, Kerver ED, Luelmo SAC, Neelis KJ, Nuyttens J, Paardekooper GMRM, Patijn GA, van der Sangen MJC, de Vos-Geelen J, Wilmink JW, Zwinderman AH, Punt CJ, van Eijck CH, van Tienhoven G; Dutch Pancreatic Cancer Group. Preoperative Chemoradiotherapy Versus Immediate Surgery for Resectable and Borderline Resectable Pancreatic Cancer: Results of the Dutch Randomized Phase III PREOPANC Trial. *J Clin Oncol* **38**(16): 1763-77, 2020.

腫瘍微小環境の癌関連線維芽細胞・マクロファージを ターゲットとした治療法の開発

森根 裕二*

要旨 近年、癌治療において癌細胞単一制御のみでは不十分で、癌細胞を取り巻く腫瘍微小環境克服が急務とされ、実臨床でも血管新生・免疫チェックポイント阻害剤が導入されているが、腫瘍微小環境のダイナミックな環境変化には対応できていない。本研究では、この腫瘍微小環境構築に発癌早期から関与すると思われる CAF・TAM に着目し、特に CAF-TAM interaction の新たな知見を得た。結果として TAM から誘導された CAF の特徴的機能として osteopontin 誘導があげられ、さらに TAM から分泌される osteopontin がその誘因であることが確認された。一方で CAF から誘導された TAM の特徴的機能として PAI-1 誘導も確認された。CAF・TAM は癌細胞との相互関連とともに CAF-TAM interaction の存在も明らかとなり、Cancer cell-CAF-TAM interaction 解除が難治性癌攻略のブレークスルーとなることが示唆された。

背 景

悪性腫瘍は癌細胞だけでなく、線維芽細胞、免疫担当細胞（マクロファージ・Tリンパ球など）や脈管構成細胞が集積し、それぞれ相互活性・分化誘導制御する腫瘍微小環境を形成している。これまで癌細胞単体の悪性度増強（癌幹細胞を含む）・薬剤耐性機序や、実臨床において血管新生阻害剤や免疫チェックポイント阻害剤が開発されているが、難治性癌の腫瘍微小環境のダイナミックな環境変化には対応できていない。本研究で着目した癌関連線維芽細胞（Cancer associated fibroblast: CAF）と腫瘍関連マクロファージ（Tumor-associated macrophage: TAM）は、癌細胞により誘導され、さらなる悪性度増強や、免疫抑制・血管新生誘導により、微小環境を完成させる¹⁾。

一般に線維芽細胞は線維化とともに抗腫瘍効果を示すが、癌細胞の CAF 誘導により、CAF 由来のサイトカインが癌細胞の EMT（上皮間葉転換）を誘導する。我々も肝星細胞（HSC）、臍星細胞（PSC）が癌細胞により CAF 分化・IL6 分泌誘導する Cancer cell-CAF interaction を確認した^{2) 3)}。

もう一つの主要構成細胞であるマクロファージは、可逆的に M1 型（免疫誘導）と M2 型（免疫抑制）に極性変化する。腫瘍微小環境では M2 型（TAM）が誘導され、抗炎症・免疫抑制や EMT を促進する。我々も癌細胞由来 lactic acid が TAM 誘導（CD163・Arg1 発現）し、TAM 由来 VEGF が癌細胞 EMT 誘導する Cancer cell-TAM interaction を確認した⁴⁾。

一方で、CAF-TAM interaction も腫瘍微小環境で構築されていることが示唆され⁵⁾、早期から癌細胞だけでなく CAF・TAM がトライアングル（Cancer cell-CAF-TAM interaction）を形成することが予想されるが、詳細は解明されていない（図 1）。本研究では、難治性癌の克服に微小環境構築の根幹である Cancer cell-CAF-TAM interaction 攻略がブレークスルーとなり得ると考え、特に CAF-TAM interaction に着目し、検討を行うこととした。

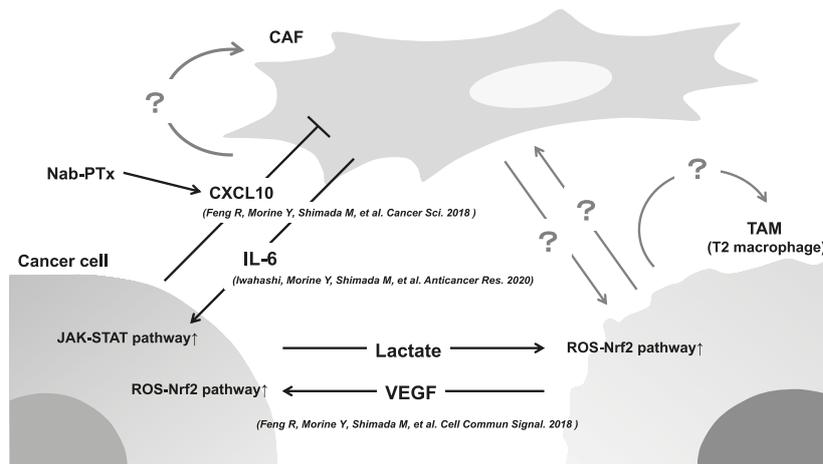


図1 腫瘍微小環境における Cancer cell-CAF-TAM interaction (自験例)

方 法

癌細胞株は Huh7 (ヒト肝細胞癌: Riken Cell Bank: Tsukuba, Japan), HSC は LX2 (Sigma-Aldrich), マクロファージは THP-1 (Culture Collections of Public Health England) を 10%FBS 含有 RPMI-1640 (Wako, Osaka, Japan) で培養後, 150 nM PMA (phorbol-12-myristate-13-acetate) (Sigma, St. Louis, MO, USA) で 48 時間培養, M0 マクロファージ分化後, 本研究に使用した。

Conditioned medium (CM) は, Huh7 を PBS 洗浄後, FBS free DMEM で 48 時間培養, 2,500rpm で遠心分離した上清を Cancer-CM とした。CAF-CM・TAM-CM は 10cm dish に Lx2・M0 マクロファージを FBS free DMEM 5ml・Cancer-CM 5ml (10cm dish) で 48 時間培養後, Cancer-CM と同様の手法で作成した。

I. 腫瘍微小環境における CAF 分化能と機能解析

HSC を, Cancer-CM・TAM-CM・CAF-CM で 48 時間培養し, CAF1 (Ca.)・CAF2 (TAM)・CAF3 (CAF) を作成し, CAF マーカー (α SMA・FAP) mRNA 発現とともに IL-6 mRNA を解析した。さらに FBS free DMEM に培養液交換後の 48 時間培養により, CAF1 (Ca.)-CM・CAF2 (TAM)-CM・CAF3 (CAF)-CM の 3 種類の conditioned medium を作成した (図 2A)。Huh7 を各種 CM 培養下で proliferation (Dojindo Molecular Technologies, Inc., Tokyo, Japan)・migration (Corning, NY, USA)・scratch assay を施行した。また各種 CM のサイトカインアッセイ (R&D Systems, Inc., MN, USA) により各種 CAF の機能解析を行った。

II. 腫瘍微小環境における TAM 分化能と機能解析

検討 I と同様の手法で, M0 マクロファージから TAM1 (Ca.)・TAM2 (CAF)・TAM3 (TAM) を作成し, TAM マーカー (CD163・CD204) mRNA 発現とともに IL-6 mRNA を RT-PCR にて解析した。さらに各種 CM を作成し, 腫瘍悪性度に対する影響, 各種 TAM の機能解析を行った。

結 果

I. 腫瘍微小環境における CAF 分化能と機能解析

CAF1 (Ca.)・CAF2 (TAM)・CAF3 (CAF) の α SMA・FAP mRNA は IL-6 mRNA とともに HSC と比較して有意に上昇していた (図 2B)。また CAF1 (Ca.)-CM・CAF2 (TAM)-CM・CAF3 (CAF)-CM は HSC-CM (control) と比較し, 腫瘍増殖能, 浸潤能とも有意に増強した (図 2C, D)。

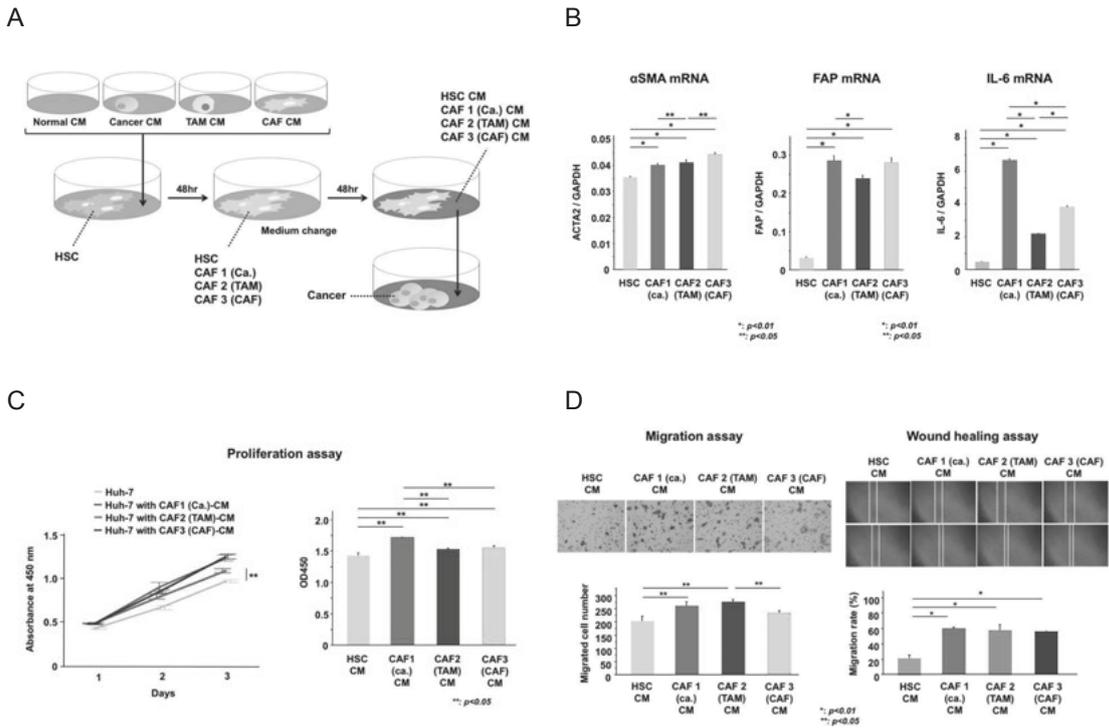


図2 CAF 作成法と各種 CAF マーカー発現・各種 CAF-CM の腫瘍悪性増強効果

またCAF2 (TAM)-CMは他のCMと比較して、osteopontin (OPN)・chitinase 3-like 1が増強し、ERISA assayでも、CAF2 (TAM)-CMのOPN濃度が有意に高値であることを確認し(図3A)、臨床検体においても、OPN陽性紡錘型細胞(OPN陽性CAF)が散在していた(図3B)。OPN抗体(AF1433: R&D Systems, Inc., MN, USA)による阻害試験では、CAF2 (TAM)-CMにおいてのみ、有意に腫瘍増殖能・浸潤能が低下していた(図3C, D)。

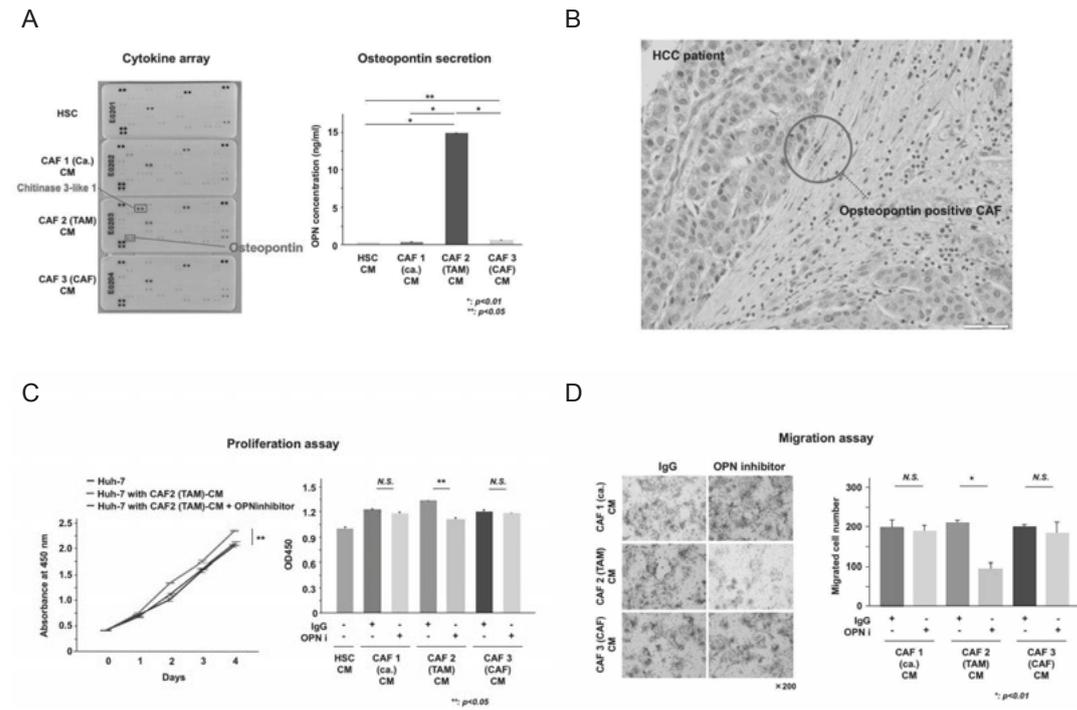


図3 CAF-CM サイトカインアッセイ・ERISAによるosteopontinの同定と阻害効果

さらに、TAM-CMのみがOPN産生性CAFを誘導する理由については、既報からTAM由来OPNが、CAFのOPN産生増強を誘導していると仮説を立て、各種CAF作成時のOPN阻害による影響も確認した(図4A)。

まず、M0マクロファージではOPN分泌能は低く、M2極性変化により分泌能が有意に増強し、M0マクロファージ-CM培養下HSCのOPN分泌能は亢進しなかった。またTAM-CMのOPN阻害により、CAF2(TAM)のOPN分泌能は低下し(図4B)、腫瘍増殖能・浸潤能ともに低下していた(図4C、D)。

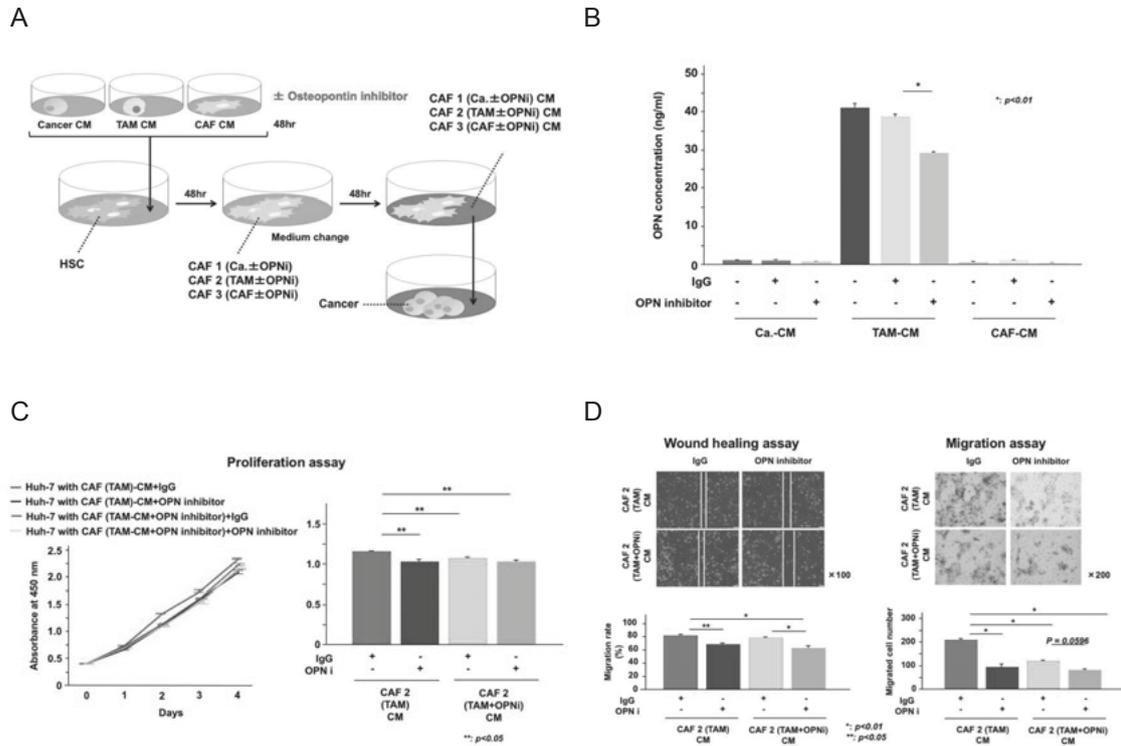


図4 各種CMのCAF作成におけるosteopontin阻害効果

II. 腫瘍微小環境におけるTAM分化能と機能解析

TAM1 (Ca.)・TAM2 (CAF)・TAM3 (TAM) のCD163・CD204はTAM1 (Ca.)・TAM2 (CAF)がM0マクロファージと比較して有意に上昇し(図5A)、IL-6 mRNAはTAM3 (TAM)のみが有意に上昇していた(図5B)。このことはTAM自身はM0マクロファージをM2極性へ誘導しないことを示すため、以降の検討ではTAM1 (Ca.)・TAM2 (CAF)を中心に行った。TAM1 (Ca.)-CM・TAM2 (CAF)-CMはM0マクロファージ-CM(control)と比較し、腫瘍増殖能、浸潤能とも有意に増強した(図5C、D)。

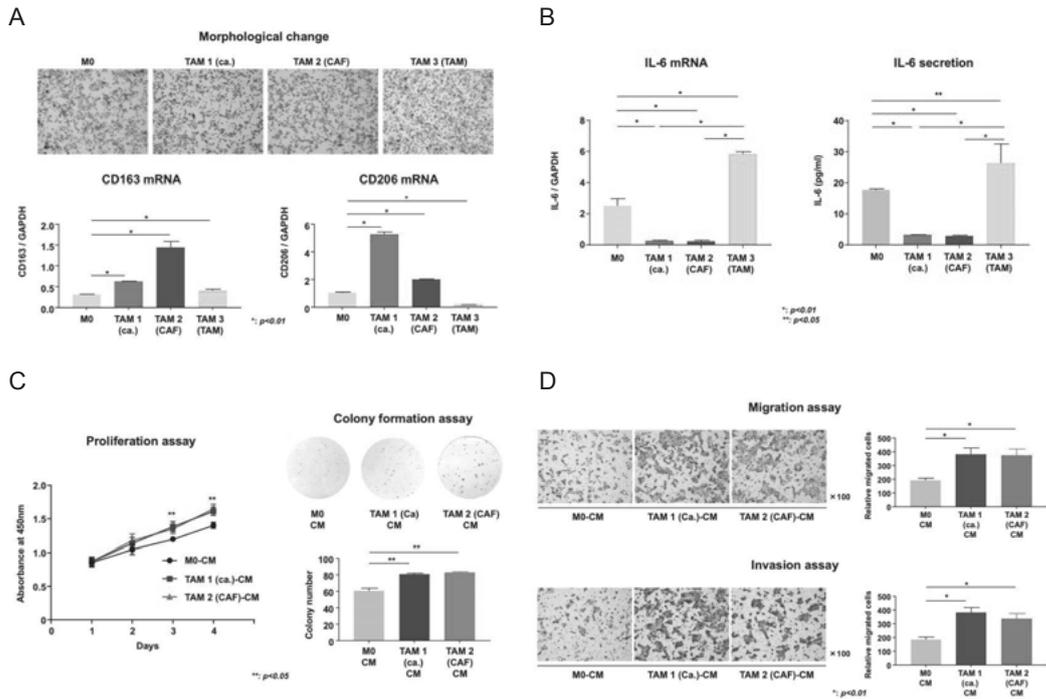


図5 各種 TAM マーカー発現・各種 TAM-CM の腫瘍悪性増強効果

また TAM2 (CAF)-CM は他の CM と比較して、 plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1)・DKK-1・IL-8 が増強しており、ERISA assay でも PAI-1 濃度が有意に高値であることを確認した (図 6A)。Tiplaxtinin (PAI-039: Selleck, Osaka, Japan) による PAI-1 阻害試験では、TAM2 (CAF)-CM においてのみ、有意に腫瘍増殖能・浸潤能が低下していた (図 6B, C)。

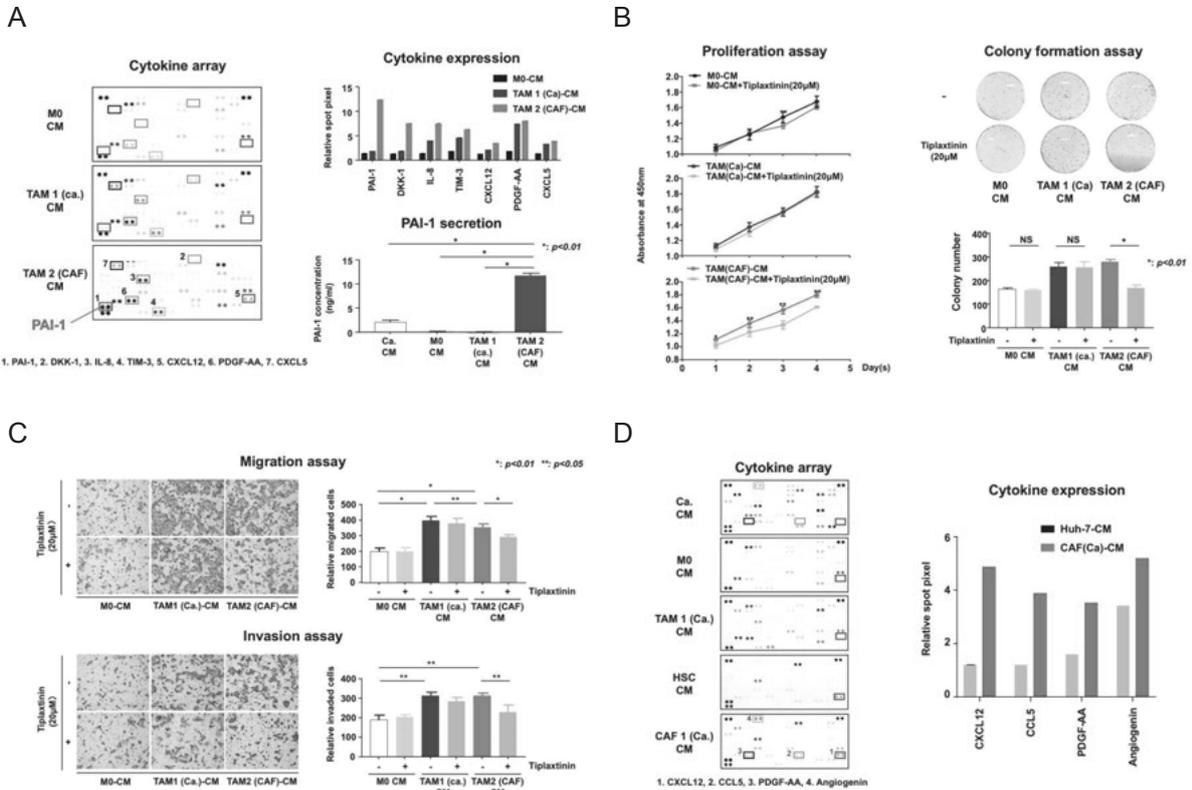


図6 TAM-CM サイトカインアッセイ・ERISA による PAI-1 の同定と阻害効果

さらに、CAF-CMのみがPAI-1産生性TAMを誘導する理由については、cancer-CM、HSC-CM、CAF-CMのサイトカインアッセイにより、CAF-CMでのみ増強されているサイトカイン（CXCL12・CCL5・PDGF-AA・angiogenin）を同定し（図6D）、CXCL12がERISA assayでも有意に高濃度であることや、CAF-CMにCXCL12抗体（AF-310-NA: R&D Systems, Inc., MN, USA）を追加することで、TAM2（CAF）の特徴的機能であるPAI-1分泌能が低下することを確認している。今後、他のサイトカインの関与や、腫瘍悪性度に対する影響について検討を加えていく予定としている。

考 按

本研究では、特に腫瘍微小環境におけるCAF-TAM interactionに着目した。まずOPNはリン酸化糖蛋白分子で、これまで炎症、感染、癌といった病態において発現亢進するとともに、癌においては増殖・転移・血管新生の誘導や、CDDP耐性因子として報告されている⁶⁾。本研究では、TAMにより誘導されたCAFの特徴的機能としてOPN分泌能の増強が証明された。

またPAI-1はSerine Proteinase Inhibitor (SERPIN)に属し、組織プラスミノゲンアクチベーター（t-PA）阻害による線溶系抑制作用以外に、様々な癌腫の悪性度バイオマーカーとして報告されている⁷⁾。最近では、癌由来PAI-1のマクロファージのM2極性変化（TAM誘導）も報告されている⁸⁾。本研究では、CAFにより誘導されたTAMの特徴的機能としてPAI-1分泌能の増強が証明された。

これらの結果を総合し、癌細胞とCAF・TAMそれぞれの相互関連だけでなく、CAF-TAM双方方向性に悪性度上昇機序となり得るCAF-TAM interactionが確認できた（図7）。今後、腫瘍微小環境における複雑なCancer cell-CAF-TAM interactionをひもといていくことが、難治性癌克服のブレークスルーとなることが示唆された。

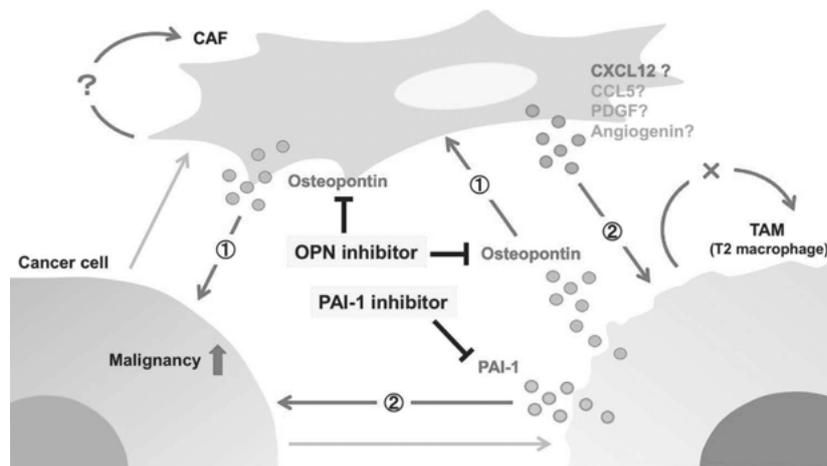


図7 腫瘍微小環境におけるCAF-TAM interactionのGraphical summary

引用文献

- 1) Ho WJ, Jaffee EM, Zheng L. The tumour microenvironment in pancreatic cancer - clinical challenges and opportunities. *Nat Rev Clin Oncol.* **17** (9) : 527-40, 2020.
- 2) Iwahasi S, Rui F, Morine Y, et al. Hepatic Stellate Cells Contribute to the Tumor Malignancy of Hepatocellular Carcinoma Through the IL-6 Pathway. *Anticancer Res.* **40** (2) : 743-9, 2020.
- 3) Feng R, Morine Y, Ikemoto T, et al. Nab-paclitaxel interrupts cancer-stromal interaction through C-X-C motif chemokine 10-mediated interleukin-6 downregulation in vitro. *Cancer Sci.* **109** (8) : 2509-19, 2018.

- 4) Feng R, Morine Y, Ikemoto T, et al. Nrf2 activation drive macrophages polarization and cancer cell epithelial-mesenchymal transition during interaction. *Cell Commun Signal*. **16**(1) : 54, 2018.
- 5) Ziani L, Chouaib S, Thiery J. Alteration of the Antitumor immune Response by Cancer-Associated Fibroblasts. *Front Immunol*. **9** : 414, 2018.
- 6) Zhao H, Chen Q, Alam A, et al. The role of osteopontin in the progression of solid organ tumour. *Cell Death Dis*. **9**(3) : 356, 2018.
- 7) Kubala MH, DeClerck YA. The plasminogen activator inhibitor-1 paradox in cancer: a mechanistic understanding. *Cancer Metastasis Rev*. **38**(3) : 483-92, 2019.
- 8) Kubala MH, Punj V, Placencio-Hickok VR, Fang H, et al. Plasminogen Activator Inhibitor-1 Promotes the Recruitment and Polarization of Mcrophage in Cancer. *Cell Rep*. **25**(8) : 2177-91, 2018.

研究経過報告書執筆要項

(1) 下記の基準で論文（日本文）を作成して下さい。

要 旨	400字 × 1枚
本 文	400字 × 10枚
写真・図表	10枚以内（写真はモノクロ）
引用文献	10位

(2) 原稿はパソコンをご使用の上、専門用語以外は当用漢字、現代かなづかい（平がな）を用い、平易明瞭に句読点は正確にお書き下さい。1枚に40字×40行とし、行間をできるだけあけてプリントアウトして下さい。また、CD-ROM、DVD-ROM等にデータを保存したものを、使用機種、ソフト名を明記の上、一緒にお送り下さい。

(3) 薬品の商品名（欧文）は大文字、学名、一般名は小文字で記載下さい。

(4) 数字は算用数字を用い、度量衡単位はCGS単位でm, cm, mm, cm², ml, l, dl, kg, g, mgなどとして下さい。

(5) 写真は手札型以上の大きさと鮮明であること、文字や矢印を記号する場合はトレーシングペーパーをかけた上に明記して下さい。

(6) 原稿は原則として返却いたしません。写真、図などで返却を要するものにはその旨明記して下さい。

(7) 文献は本文中に引用されたもののみをあげて下さい。本文中の引用箇所には肩番号を付して下さい。

(8) 文献の書き方は次のように統一して下さい。

引用文献、著者名は3人まで記し、それ以上は「他」「et al」として下さい。

外国文献の記載形式はIndex Medicus 所載に準じて下さい。

雑誌の場合→引用番号) 著者名：論文題名、雑誌名、巻数、頁数（西暦年号）

単行本の場合→引用番号) 著者名：論文題名、書名（編者名）、版、頁、発行所名、発行地、（西暦年号）

例 1) 田口鐵男, 古江 尚, 塚越 茂, 他：胃癌の化学療法. 癌と化学療法 7(12) : 109-14, 1980.

2) 幕内雅敏, 長谷川博, 山崎 晋：肝細胞癌の早期診断法. ウイルス肝炎から肝細胞癌へ（服部 信編）, 第2版, 309-28, 癌と化学療法社, 東京, 1982.

3) Umezawa H, Aoyagi T, Suda H, et al: Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase B, produced by Actinomycetes. *J. Antibiotics* 29 : 97-9, 1976.

(9) 文頭は、「はじめに」ではじまり、「おわりに」で結ぶ。

(10) 論文は要旨－はじめに－（対象－方法－成績）－考按－おわりに－文献－表－図の説明－図の順に原稿を構成して下さい。図および表には文中に出る順番に番号を付して下さい。

(11) 項目は次のような記号を用います。

I. …… 1. …… 1) …… a

(12) 原稿には表紙を付し、表題、著者名、所属、機関名、原稿枚数、図表点数を明記して下さい。

一般研究助成者一覧(発刊年度)

- 1981 浅野長一郎 (九州大学理学部)
(1卷) 天木 一太 (日本大学医学部)
加藤 哲郎 (秋田大学医学部)
関口 守正 (東京大学医科学研究所)
寺尾 榮夫 (東京都立駒込病院)
野本亀久雄 (九州大学医学部)
母里 知之 (東海大学医学部)
吉田 修 (京都大学医学部)
- 1982 浅野長一郎 (九州大学理学部)
(2卷) 海老名卓三郎 (東北大学医学部)
小山 博記 (大阪府立成人病センター)
友田 豊 (名古屋大学医学部)
新島 端夫 (東京大学医学部)
藤本 孟男 (愛知医科大学)
松澤 大樹 (東北大学抗酸菌病研究所)
三好 勇夫 (高知医科大学)
- 1983 池田 恵一 (九州大学医学部)
(3卷) 木村 郁郎 (岡山大学医学部)
菅原 克彦 (山梨医科大学)
橘 武彦 (東北大学抗酸菌病研究所)
西平 哲郎 (東北大学医学部)
藤原 大美 (大阪大学医学部)
三橋 重信 (久留米大学医学部)
山本三毅夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1984 大西 克尚 (九州大学医学部)
(4卷) 折田 薫三 (岡山大学医学部)
小磯 謙吉 (筑波大学臨床医学系)
関根 暉彬 (国立がんセンター研究所)
塚田 裕 (北海道大学医学部)
原 泰寛 (国立病院九州がんセンター)
前山 巖 (鳥取大学医学部)
山田 一正 (名古屋大学医学部)
- 1985 犬山 征夫 (慶應義塾大学医学部)
(5卷) 小玉 正智 (滋賀医科大学)
- 東 市郎 (北海道大学免疫科学研究所)
太田 和雄 (愛知県がんセンター)
須賀 昭二 (国立名古屋病院)
高見沢裕吉 (千葉大学医学部)
西 満正 (鹿児島大学医学部)
棟久 龍夫 (長崎大学医学部)
森 武貞 (大阪大学医学部)
涌井 昭 (東北大学抗酸菌病研究所)
井村 裕夫 (京都大学医学部)
古賀 成昌 (鳥取大学医学部)
志田 圭三 (群馬大学医学部)
中西 昌美 (北海道大学医学部)
馬場 恒男 (九州大学生体防御医学研究所)
細川真澄男 (北海道大学医学部)
松田 忠義 (東京都立駒込病院)
- 石引 久弥 (慶應義塾大学医学部)
桑野 信彦 (大分医科大学)
高久 史磨 (東京大学医学部)
螺良 英郎 (徳島大学医学部)
野村 雍夫 (国立病院九州がんセンター)
前田 浩 (熊本大学医学部)
谷内 昭 (札幌医科大学)
- 小野寺時夫 (東京都立駒込病院)
藏本 淳 (広島大学原爆放射能医学研究所)
杉町 圭蔵 (九州大学医学部)
高月 清 (熊本大学医学部)
鶴尾 隆 (癌研・癌化学療法センター)
福西 亮 (愛媛大学医学部)
水落 次男 (東京大学医科学研究所)
- 北村 幸彦 (大阪大学医学部附属癌研究施設)
小林 利次 (産業医科大学)

- 1985 佐々木琢磨 (国立がんセンター)
(5卷) 田中 正夫 (国立名古屋病院血液病センター)
中村 徹 (福井医科大学)
原 耕平 (長崎大学医学部)
藤田 昌英 (大阪大学微生物病研究所)
松谷 雅生 (東京都立駒込病院)
吉田 孝人 (浜松医科大学)
- 1986 内野 治人 (京都大学医学部)
(6卷) 岡部 哲郎 (東京大学医学部)
狩野 恭一 (東京大学医科学研究所)
久保田哲朗 (慶應義塾大学医学部)
坂井 保信 (東京都立駒込病院)
曾根 三郎 (徳島大学医学部)
田中 敬正 (関西医科大学)
橋本 省三 (慶應義塾大学医学部)
浜岡 利之 (大阪大学医学部附属癌研究施設)
- 1987 市橋 秀仁 (藤田学園保健衛生大学医学部)
(7卷) 奥村 康 (順天堂大学医学部)
勝沼 信彦 (徳島大学酵素科学研究センター)
金沢 浩二 (新潟大学医学部)
佐藤 周子 (愛知県がんセンター)
高本 滋 (東京都立駒込病院)
中村 仁信 (大阪大学微生物病研究所)
松本 圭史 (大阪大学医学部)
山口 豊 (千葉大学医学部肺癌研究施設)
- 1988 秋山 伸一 (鹿児島大学医学部附属腫瘍研究施設)
(8卷) 阿部 達生 (京都府立医科大学)
上田 政和 (慶應義塾大学医学部)
小川 恭弘 (高知医科大学)
神奈木玲児 (京都大学医学部)
今 充 (弘前大学医学部)
笹月 健彦 (九州大学生体防御医学研究所)
徳永 徹 (国立予防衛生研究所)
馬場 正三 (浜松医科大学)
- 1989 阿曾 佳郎 (東京大学医学部)
(9卷) 今井 浩三 (札幌医科大学)
- 仙道富士郎 (山形大学医学部)
鳥巢 要道 (九州大学医学部)
新本 稔 (広島大学原爆放射能医学研究所)
原田 実根 (金沢大学医学部)
穂積 本男 (埼玉県立がんセンター研究所)
御厨 修一 (国立病院医療センター)
- 大野 竜三 (名古屋大学医学部)
片野 建之 (癌研・癌化学療法センター)
木村 元喜 (九州大学生体防御医学研究所)
熊本 悦明 (札幌医科大学)
珠玖 洋 (長崎大学医学部)
田中 信男 (東京大学応用微生物研究所)
西田 輝夫 (近畿大学医学部)
羽生富士夫 (東京女子医科大学消化器病センター)
前田 迪郎 (鳥取大学医学部)
大森 弘之 (岡山大学医学部)
小黒 昌夫 (千葉県がんセンター)
加藤 四郎 (大阪大学微生物病研究所)
坂本 純一 (愛知県がんセンター)
鈴木 磨郎 (東北大学抗酸菌病研究所)
峠 哲哉 (広島大学原爆放射能医学研究所)
正岡 徹 (大阪府立成人病センター)
宮崎 保 (北海道大学医学部)
吉田 奎介 (新潟大学医学部)
浅野 茂隆 (東京大学医科学研究所)
今岡 真義 (大阪府立成人病センター)
江藤 澄哉 (産業医科大学)
鎌田 七男 (広島大学原爆放射能医学研究所)
小山 研二 (秋田大学医学部)
斎藤 正男 (東京大学医学部)
谷川 允彦 (福井医科大学)
富永 健 (東京都立駒込病院)
平野 正美 (藤田学園保健衛生大学医学部)
石川 哮 (熊本大学医学部)
岩永 剛 (大阪府立成人病センター)

- 1989 上田 龍三 (愛知県がんセンター研究所) 太田 康幸 (愛媛大学医学部)
 (9卷) 岡田 秀親 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所) 小川 道雄 (大阪大学医学部)
 掛川 暉夫 (久留米大学医学部) 加藤 知行 (愛知県がんセンター)
 金子 明博 (国立がんセンター病院) 斉藤 博 (埼玉医科大学総合医療センター)
 澤木 修二 (横浜市立大学医学部) 高上 洋一 (徳島大学医学部)
 中村 治 (東京都立駒込病院) 藤本 重義 (高知医科大学)
 町田喜久雄 (埼玉医科大学総合医療センター) 松野 正紀 (東北大学医学部)
- 1990 荒井 保明 (愛知県がんセンター) 宮本 幸男 (群馬大学医学部)
 (10卷) 入野 昭三 (香川医科大学) 遠藤 光夫 (東京医科歯科大学医学部附属病院)
 小倉 剛 (徳島大学医学部) 菅 典道 (京都大学医学部附属病院)
 木谷 照夫 (大阪大学微生物病研究所) 池田 昌弘 (順天堂大学医学部)
 島津 久明 (鹿児島大学医学部) 田中 隆一 (新潟大学脳研究所)
 土橋 一慶 (帝京大学医学部) 中島 泉 (名古屋大学医学部)
 新津洋司郎 (札幌医科大学) 西村 泰治 (九州大学生体防御医学研究所)
 垣生 園子 (東海大学医学部) 原 信之 (国立病院九州がんセンター)
 藤本 孟男 (愛知医科大学) 前原 喜彦 (九州大学医学部)
 水谷 修紀 (国立小児医療研究センター)
- 1991 秋吉 毅 (九州大学生体防御医学研究所) 安藤 俊夫 (愛知県がんセンター研究所)
 (11卷) 小川 秋實 (信州大学医学部) 小熊 信夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 小越 章平 (高知医科大学) 加藤 洋 (癌研・癌研究所)
 木村幸三郎 (東京医科大学) 河野 公俊 (大分医科大学)
 佐治 重豊 (岐阜大学医学部) 鈴木 徹 (山口大学医学部)
 田中 良明 (東京都立駒込病院) 平井 久丸 (東京大学医学部)
 藤永 蕙 (札幌医科大学附属がん研究所) 真崎 規江 (大阪府立成人病センター)
 麦島 秀雄 (日本大学医学部) 山内 晶司 (名古屋大学医学部)
 山口 俊晴 (京都府立医科大学) 由良 二郎 (名古屋市立大学医学部)
- 1992 赤沢 修吾 (埼玉県立がんセンター) 秋根 康之 (国立がんセンター中央病院)
 (12卷) 貝原 信明 (鳥取大学医学部) 兼松 隆之 (長崎大学医学部)
 河村 栄二 (北里研究所病院) 菊池 潔 (財慶がんセンター)
 木本 安彦 (大阪大学微生物病研究所附属病院) 葛巻 暹 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
 琴浦 良彦 (京都大学医学部) 斎藤 貴生 (大分医科大学)
 澤武 紀雄 (金沢大学がん研究所) 設楽 信行 (東京都立駒込病院)
 柴田 昭 (新潟大学医学部) 土井 修 (大阪府立成人病センター)
 奈良 信雄 (東京医科歯科大学医学部) 西村 孝司 (東海大学医学部)
 山下 純宏 (金沢大学医学部) 吉開 泰信 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1993 阿部 力哉 (福島県立医科大学) 大榎 泰亮 (岡山大学医学部)

- 1993 片山 憲特 (聖マリアンナ医科大学)
 (13卷) 栗原 稔 (昭和大学附属豊洲病院)
 藪田 精昭 (京都府立医科大学)
 武市 紀年 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
 土田 嘉昭 (東京大学医学部)
 富田 幹夫 (埼玉県立がんセンター研究所)
 濱田 洋文 (癌研・癌化学療法センター)
 平岡 真寛 (京都大学医学部)
 吉田 松年 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1994 相羽 恵介 (癌研・癌化学療法センター)
 (14卷) 今村 正之 (京都大学医学部)
 折笠 精一 (東北大学医学部)
 小柳 知彦 (北海道大学医学部)
 清木 元治 (金沢大学がん研究所)
 直江 知樹 (名古屋大学医学部附属病院)
 浜口 道成 (名古屋大学医学部)
 藤本 修一 (千葉県がんセンター)
 山崎 俊樹 (島根医科大学)
- 1995 岡本 尚 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所)
 (15卷) 佐藤忠比古 (国立郡山病院)
 嶋田 紘 (横浜市立大学医学部)
 田中 公夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
 花井 彩 (大阪府立成人病センター)
 磨伊 正義 (金沢大学がん研究所)
 森 茂郎 (東京大学医科学研究所)
 和氣 徳夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1996 有井 滋樹 (京都大学医学研究科)
 (16卷) 伊東 恭悟 (久留米大学医学部)
 小澤 敬也 (自治医科大学血液医学研究部門)
 佐藤 靖史 (東北大学加齢医学研究所)
 杉本 芳一 (癌研・癌化学療法センター)
 多羅尾和郎 (神奈川県立がんセンター)
 三角 順一 (大分医科大学医学部)
 山脇 成人 (広島大学医学部)
- 1997 西條 長宏 (国立がんセンター研究所)
 (17卷) 瀬戸 加大 (愛知県がんセンター研究所)
- 北島 政樹 (慶應義塾大学医学部)
 小池 克郎 (癌研・癌研究所)
 高見 博 (帝京大学医学部)
 谷村 弘 (和歌山県立医科大学)
 戸井 雅和 (東京都立駒込病院)
 中村 恭一 (東京医科歯科大学医学部)
 平岡 諦 (大阪府立成人病センター)
 堀 勝義 (東北大学加齢医学研究所)
- 池田 恢 (国立がんセンター中央病院)
 岡田 全司 (九州大学生体防御医学研究所)
 菊地 浩吉 (札幌医科大学医学部)
 杉本 徹 (宮崎医科大学)
 田中 憲一 (新潟大学医学部)
 新田 泰三 (順天堂大学医学部)
 松崎 靖司 (筑波大学臨床医学系)
 柳澤 昭夫 (癌研・癌研究所)
 吉田 操 (東京都立駒込病院)
 後藤 重則 (帝京大学生物工学研究センター)
 佐藤 宏 (帝京大学医学部)
 田崎 寛 (慶應義塾大学医学部)
 中村 剛 (長崎大学医療技術短期大学部)
 藤田 潤 (京都大学大学院医学研究科)
 間野 博行 (自治医科大学医学部)
 柳川 堯 (九州大学大学院数理学研究科)
- 石川 治 (大阪府立成人病センター)
 大川 治夫 (筑波大学臨床医学系)
 酒井 正彦 (関西電力病院)
 執印 太郎 (高知医科大学)
 谷 憲三朗 (東京大学医科学研究所)
 松村 保広 (国立がんセンター中央病院)
 宮崎 澄雄 (佐賀医科大学医学部)
 吉村 昭彦 (久留米大学生物科学研究所)
 神保 孝一 (札幌医科大学)
 田中 雅夫 (九州大学医学部)

- 1997 丹後 俊郎 (国立公衆衛生院疫学部)
(17卷) 中川原 章 (千葉県がんセンター)
堀井 明 (東北大学大学院医学系研究科)
- 1998 小山 博史 (国立がんセンター中央病院)
(18卷) 高後 裕 (旭川医科大学)
巽 典之 (大阪市立大学医学部)
名川 弘一 (東京大学医学部)
萩原 正敏 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
不破 信和 (愛知県がんセンター)
村井 勝 (慶應義塾大学医学部)
矢守 隆夫 (癌研・癌化学療法センター)
- 1999 井上 俊彦 (大阪大学大学院)
(19卷) 大瀧 慈 (広島大学原爆放射能医学研究所)
河上 裕 (慶應義塾大学医学部先端医学研究所)
高山 哲治 (札幌医科大学)
土田 正則 (新潟大学医学部)
万代 昌紀 (京都大学医学部)
森脇 久隆 (岐阜大学医学部)
渡邊 武 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2000 井上 正樹 (金沢大学医学部)
(20卷) 河野 文夫 (国立熊本病院)
久保 敦司 (慶應義塾大学医学部)
佐藤 博 (金沢大学がん研究所)
中野 修治 (九州大学大学院)
福本 学 (東北大学加齢医学研究所)
山口 佳之 (広島大学原爆放射能医学研究所)
吉田 知之 (東京医科大学)
- 2001 秋山 太 (癌研・癌研究所)
(21卷) 片野 光男 (九州大学大学院)
澤津橋基広 (佐賀医科大学)
田原 秀晃 (東京大学医科学研究所)
辻 晃仁 (高知県立中央病院)
野島 博 (大阪大学微生物病研究所)
村垣 善浩 (東京女子医科大学脳神経センター)
若杉 尋 (国立がんセンター研究所)
- 2002 秋田 弘俊 (北海道大学大学院)
- 手島 昭樹 (大阪大学医学部)
野田 哲生 (癌研・癌研究所)
松山 裕 (東京大学大学院医学系研究科)
烏野 隆博 (大阪府立成人病センター)
佐藤 昇志 (札幌医科大学医学部)
中島 秀彰 (国立病院九州がんセンター)
登 勉 (三重大学医学部)
畠 清彦 (自治医科大学)
前谷 俊三 (天理よろず相談所医学研究所)
安元 公正 (産業医科大学医学部)
- 大上 研二 (東海大学医学部)
加賀谷有行 (広島大学医学部)
真貝 洋一 (京都大学ウイルス研究所)
田中 淳司 (北海道大学医学部)
野田 政樹 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
向田 直史 (金沢大学がん研究所)
吉貴 達寛 (滋賀医科大学)
- 奥野 清隆 (近畿大学医学部)
神奈木真理 (東京医科歯科大学医歯学総合研究科)
小西 文雄 (自治医科大学大宮医療センター)
田中 紘一 (京都大学大学院)
樋野 興夫 (癌研・癌研究所)
松村 明 (筑波大学臨床医学系)
吉川 秀樹 (大阪大学大学院)
- 東 俊文 (慶應義塾大学医学部)
小林 国彦 (埼玉県立がんセンター)
高橋 宗春 (東京大学医学部附属病院)
玉木 長良 (北海道大学大学院)
中島 格 (久留米大学医学部)
松崎 彰信 (九州大学医療技術短期大学部)
山本 博幸 (札幌医科大学)
- 遠藤 善裕 (滋賀医科大学)

- 2002 鎌野 俊紀 (順天堂大学医学部)
 (22卷) 黄 政龍 (香川医科大学)
 高橋 豊 (金沢大学がん研究所)
 平塚 正弘 (大阪府立成人病センター)
- 2003 上本 伸二 (三重大学医学部)
 (23卷) 神田 善伸 (東京大学医学部)
 河野 浩二 (山梨大学医学部)
 檜原 啓之 (大阪府立成人病センター)
 堀口 裕 (慶應義塾大学医学部)
- 2004 魚住 公治 (鹿児島大学病院)
 (24卷) 清宮 啓之 (癌研・癌化学療法センター)
 田中 文啓 (京都大学医学部)
 古谷 和久 (愛知県がんセンター)
 森 正樹 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2005 熊谷 昌明 (国立成育医療センター)
 (25卷) 國土 典宏 (東京大学医学部附属病院)
 並木 幹夫 (金沢大学医学部附属病院)
 長谷川好規 (名古屋大学医学部附属病院)
 林 慎一 (東北大学医学部)
- 2006 泉本 修一 (大阪大学大学院)
 (26卷) 太田 三徳 (近畿中央胸部疾患センター)
 小林 浩 (奈良県立医科大学)
 澤田 明久 (大阪府立母子保健総合医療センター)
 福岡 和也 (兵庫医科大学)
- 2007 磯本 一 (長崎大学医学部・歯学部附属病院)
 (27卷) 馬屋原健司 (癌研・有明病院)
 篠浦 伸禎 (東京都立駒込病院)
 高見 昭良 (金沢大学医学部附属病院)
- 2008 掛地 吉弘 (九州大学大学院)
 (28卷) 新地 洋之 (鹿児島大学大学院)
 松村 保広 (国立がんセンター東病院)
 吉崎 智一 (金沢大学大学院)
- 2009 出水みいる (九州大学病院)
 (29卷) 塚田 敬義 (岐阜大学大学院)
 長谷川 潔 (東京大学大学院)
 本田 五郎 (東京都立駒込病院)
- 小泉和三郎 (北里大学東病院)
 高橋 慶一 (東京都立駒込病院)
 戸田 正博 (慶應義塾大学医学部)
- 小野寺雅史 (筑波大学臨床医学系)
 弦間 昭彦 (日本医科大学)
 杉山 徹 (岩手医科大学医学部)
 平井 康夫 (癌研・癌研究所)
- 河野 嘉文 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科)
 高山 浩一 (九州大学病院)
 中島 淳 (慶應義塾大学医学部)
 星 宣次 (山形県立中央病院)
 山本 昇 (国立がんセンター中央病院)
- 甲能 直幸 (杏林大学医学部)
 土屋 弘行 (金沢大学大学院)
 萩原 弘一 (埼玉医科大学)
 羽生 大記 (大阪市立大学大学院)
 日野 雅之 (大阪市立大学大学院)
- 井上 啓史 (高知大学医学部)
 大東 弘明 (大阪府立成人病センター)
 佐治 重衡 (東京都立駒込病院)
 竹内 聡 (神戸医療センター)
 藤井 正人 (東京医療センター)
- 上野 清伸 (大阪府立成人病センター)
 椎名秀一朗 (東京大学医学部附属病院)
 新地 洋之 (鹿児島大学医学部・歯学部附属病院)
 細野 亜古 (国立がんセンター中央病院)
- 粕谷 英樹 (名古屋大学医学部)
 竹島 信宏 (癌研・有明病院)
 元雄 良治 (金沢医科大学)
 渡邊 昌彦 (北里大学医学部)
 高野 晋吾 (筑波大学大学院)
- 中森 正二 (大阪医療センター)
 服部 豊 (慶應義塾大学薬学部)
 宮田 博志 (大阪大学大学院)

- 2010 東 治人 (大阪医科大学) 石川 剛 (京都府立医科大学)
(30卷) 庄 雅之 (奈良県立医科大学) 楯 真一 (千葉大学大学院)
谷 眞至 (和歌山県立医科大学) 津田 浩史 (慶應義塾大学医学部)
藤原 義之 (大阪大学大学院) 山口 和也 (岐阜大学医学部)
- 2011 江口 英利 (大阪大学大学院医学系研究科) 菊地 栄次 (慶應義塾大学医学部)
(31卷) 堤 莊一 (群馬大学大学院医学系研究科) 藤谷 和正 (国立病院機構大阪医療センター)
本告 正明 (大阪府立成人病センター) 宮田 康好 (長崎大学病院)
宮田 義浩 (広島大学原爆放射線医科学研究所) 元井 冬彦 (東北大学病院)
山下 継史 (北里大学医学部)
- 2012 浦本 秀隆 (産業医科大学) 葛西 和博 (岩手医科大学医学部)
(32卷) 小西 毅 (がん研究会有明病院) 佐藤 康史 (札幌医科大学)
澤木 正孝 (愛知県がんセンター中央病院) 高橋 秀典 (大阪府立成人病センター)
谷岡 真樹 (兵庫県立がんセンター) 本間 尚子 (東京都健康長寿医療センター研究所)
松木 絵里 (慶應義塾大学病院) 村上 英樹 (金沢大学整形外科)
- 2013 井上 啓史 (高知大学教育研究部) 沖 英次 (九州大学病院)
(33卷) 河合 憲康 (名古屋市立大学大学院医学研究科) 北郷 実 (慶應義塾大学医学部)
黒川 幸典 (大阪大学大学院医学系研究科) 笹田 哲朗 (久留米大学医学部)
島崎 猛夫 (金沢医科大学総合医学研究所) 種村 匡弘 (呉医療センター・中国がんセンター)
野尻 俊輔 (名古屋市立大学病院) 丸橋 繁 (大阪府立成人病センター)
- 2014 木下 学 (大阪府立成人病センター) 小坂 威雄 (慶應義塾大学医学部)
(34卷) 小西 毅 (がん研究会有明病院) 末原 義之 (順天堂大学医学部)
高橋 信 (東北大学加齢医学研究所) 谷内 恵介 (高知大学医学部附属病院)
富田 直人 (横浜市立大学大学院医学研究科) 中前 博久 (大阪市立大学大学院医学研究科)
南谷 泰仁 (東京大学医学部附属病院) 長谷川大一郎 (兵庫県立こども病院)
- 2015 石山 博條 (北里大学医学部) 板野 理 (慶應義塾大学医学部)
(35卷) 里井 壯平 (関西医科大学) 白石 治 (近畿大学医学部)
高張 大亮 (がん研究会有明病院) 内藤 立暁 (静岡県立静岡がんセンター)
西田 純幸 (大阪大学医学部附属病院) 林 洋光 (熊本大学大学院生命科学研究部)
水島 恒和 (大阪大学大学院医学系研究科)
- 2016 伊佐山浩通 (東京大学大学院医学系研究科) 小沼 貴晶 (東京大学医科学研究所附属病院)
(36卷) 佐伯 浩司 (九州大学大学院) 杉村啓二郎 (大阪府立成人病センター)
瀧口 修司 (大阪大学医学系研究科) 藤阪 保仁 (大阪医科大学附属病院)
前田 亮 (藤田保健衛生大学) 若槻 尊 (がん研究会有明病院)
- 2017 秋田 裕史 (大阪国際がんセンター) 泉 浩二 (金沢大学大学院医薬保健学総合研究科)
(37卷) 神田 光郎 (名古屋大学医学部附属病院) 野見 武男 (奈良県立医科大学)
馬場 祥史 (熊本大学大学院生命科学研究部)

2018	池上 徹 (九州大学病院)	後藤太一郎 (山梨県立中央病院)
(38卷)	立石 健祐 (横浜市立大学大学院医学研究科)	谷口 浩二 (慶応義塾大学医学部)
	畠 達夫 (東北大学大学院医学系研究科)	増田 隆明 (九州大学病院別府病院)
2019	北郷 実 (慶應義塾大学医学部)	佐藤 和秀 (名古屋大学高等研究院・名古屋大学大学院医学系研究科)
(39卷)	杉町 圭史 (九州がんセンター)	高野 重紹 (千葉大学大学院医学研究院)
	田辺 真彦 (東京大学医学部附属病院)	宮本 裕士 (熊本大学病院)

がん治療のあゆみ 第40巻

2021年3月25日 印刷
2021年3月31日 発行

非 売 品

発行人 公益財団法人
がん集学的治療研究財団
松 本 晃

お問い合わせは下記にお願いいたします。
〒136-0071 東京都江東区亀戸1-28-6
タニビル3F
電話 (03)5627-7593

印刷所 (株)糸川印刷

本書の内容の一部あるいは全部を無断で、複写機器等いかなる方法によっても複写・複製することは、法律で認められた場合を除き、著者および出版者の権利の侵害になりますので、予め小社の許諾を求めて下さい。