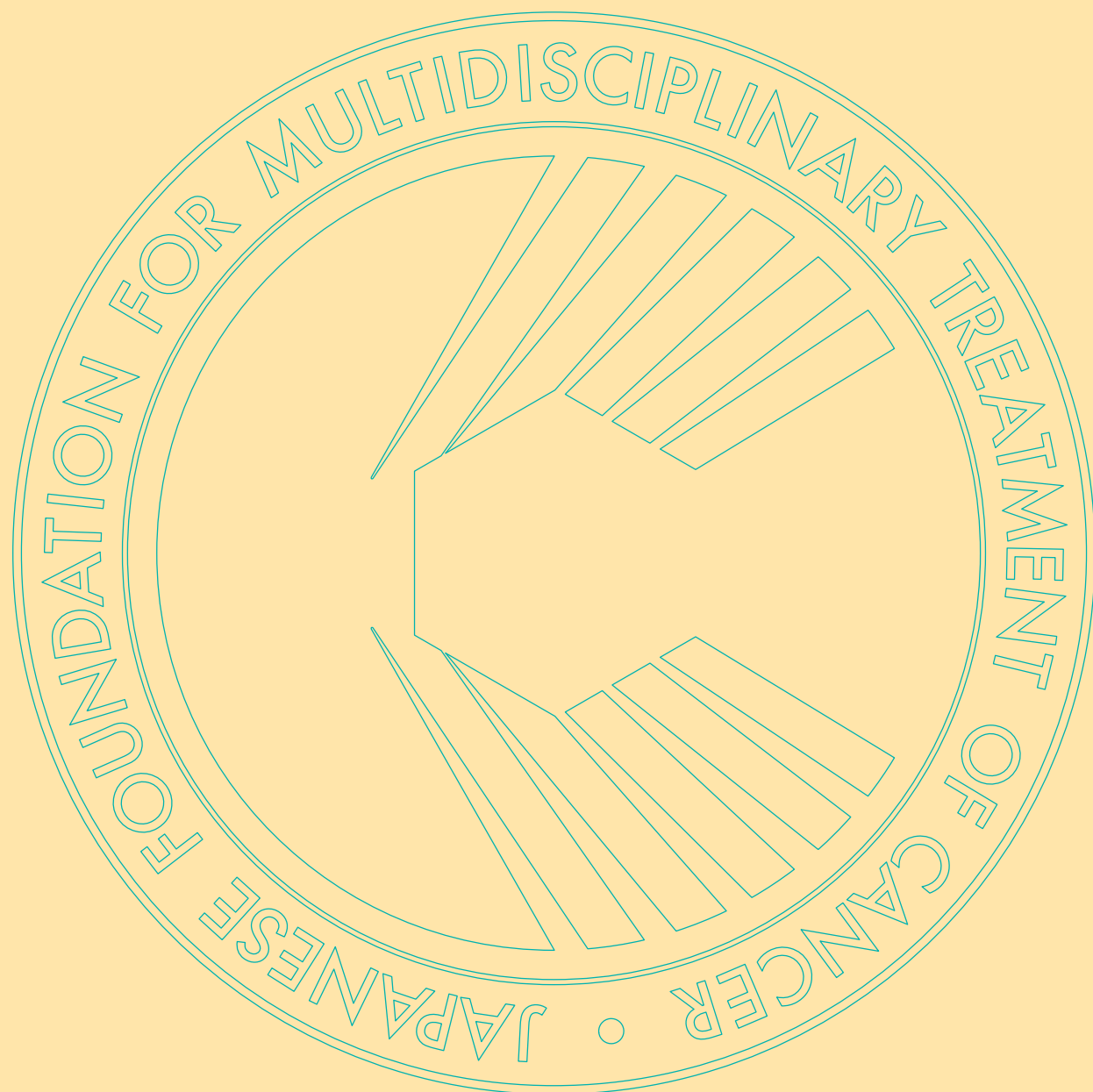


Advances in Cancer Treatment

# がん治療のあゆみ

2022/第42回一般研究助成



42

公益財団法人 がん集学的治療研究財団

## 巻 頭 言

理事長 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43年になりますが、研究事業521件に対しまして総額6億7,200万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42巻」は、2021年度受賞者の研究成果報告であります。応募件数44件（がん薬物療法部門41件、医療機器部門3件）の中から6題の研究が厳選されました。研究内容は1) 食道癌免疫治療における耐性に関するバイオマーカーの研究、2) 中枢神経胚細胞腫におけるノンジャーミノーマ診断に関する研究、3) 膀胱癌治療におけるスタチン系薬剤の併用効果とその作用機序に関する研究、4) 肝細胞癌治療において免疫細胞浸潤を抑制するVETC形成に関連する免疫細胞プロファイリングの研究、5) 食道癌患者に対するHMB投与と骨格筋維持効果に関する研究、6) AIを用い早期肺癌のCT画像からEGFR発現を検出する研究などでありました。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、2022年度の一般研究助成金授与式は、新型コロナウイルス感染拡大防止の観点より、オンラインにて実施いたしました。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参加賜りましたことに心より感謝申し上げます。また、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。

2023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。

2020年度より「がん薬物療法部門」に加え医療環境の変化に対応すべく「医療機器部門」を新設し、2021年度は応募総数44件（がん薬物療法部門41件、医療機器部門3件）の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44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2021年10月27日に第46回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、6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2022年12月16日に第42回一般研究発表会をオンラインにて開催し、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ております。

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にお願いします。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6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 ..... 理事長 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

## 〔がん薬物療法部門〕

●食道がんに対するがん免疫治療の新規バイオマーカー探索とその耐性機序の克服 熊 谷 尚 悟 ..... 1

国立がん研究センター  
先端医療開発センター  
免疫トランスレーショナルリサーチ分野

●中枢神経胚細胞腫の病態解明 —腫瘍マーカーの役割と限界— 高 見 浩 数 ..... 5

東京大学医学部附属病院  
脳神経外科

●膵癌治療における YAP/TAZ を治療ターゲットとした戦略構築  
ならびに Statin の Drug repositioning の有用性に関する検討 林 洋 光 ..... 11

熊本大学病院  
消化器外科

●消化器癌微小環境における免疫細胞プロファイリングに基づく  
革新的治療戦略開発 春 木 孝 一 郎 ..... 18

東京慈恵会医科大学  
外科学講座 肝胆膵外科

●食道癌集学的治療における骨格筋量低下に対する必須アミノ酸  
 $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate の有用性 山 本 美 穂 ..... 27

東海大学医学部医学科  
外科学系消化器外科学

## 〔医療機器部門〕

●Radiomics と AI を用いた早期肺がんの非侵襲的バイオマーカー  
の開発 橋 本 浩 平 ..... 32

公益財団法人がん研究会がん研有明病院  
呼吸器センター外科



# 食道がんに対するがん免疫治療の 新規バイオマーカー探索とその耐性機序の克服

熊谷 尚悟\*

**要旨** PD-1/PD-L1 阻害薬による食道がんに対するがん免疫療法の有効性は科学的に証明された。しかし奏効率は2割〜3割程度であり、治療効果を精度高く予測するバイオマーカーが必要である。PD-1 阻害治療前の食道癌患者検体を多重免疫染色にて解析したところ、制御性 T 細胞の PD-1 高発現が PD-1/PD-L1 阻害薬治療耐性につながる事が判明した。腫瘍浸潤制御性 T 細胞の PD-1 発現が高い腫瘍と低い腫瘍において遺伝子発現解析を実施したところ、腫瘍浸潤制御性 T 細胞の PD-1 発現が高い腫瘍で解糖系に関わる遺伝子発現が高いことが明らかになった。さらに制御性 T 細胞では CD8 陽性 T 細胞とは異なり乳酸を介した特異的な PD-1 発現機構を有していることを発見した。今後、解糖系の亢進した腫瘍に対しては、乳酸代謝経路を阻害する薬剤を併用することで、PD-1/PD-L1 阻害薬治療の効果を高められる可能性が期待される。

## はじめに

近年、免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) のがん治療における効果が科学的に証明され臨床導入された。しかし ICI に耐性の症例も多く、効果予測バイオマーカーや効果を高める治療法の開発が必要である。腫瘍体細胞変異数と抗腫瘍免疫活性との相関も指摘されているが、腫瘍体細胞変異と抗腫瘍免疫活性の関係の詳細は未だ不明な点が多い。がん免疫の本態は CD8 陽性 T 細胞による細胞性免疫だが、一方で自己への免疫応答を抑制制御する仕組みとして制御性 T 細胞が存在し、がん免疫でも重要性が認識されている。腫瘍に浸潤する活性化制御性 T 細胞 (Treg) が多く抗腫瘍免疫応答を抑制し予後不良となる。また Treg は CD8 陽性 T 細胞の過剰な免疫応答を抑えるため、CD8 陽性 T 細胞に随伴し腫瘍に浸潤することが知られている。これまで我々は、腫瘍遺伝子異常が腫瘍局所の代謝環境を編集することで Treg が CD8 陽性 T 細胞より有意に腫瘍局所にとどまり ICI 抵抗性を生み出すことを見出し誌上報告した (Kumagai S, et al. Immunity 2020)。また、さらには抗腫瘍活性を示す CD8 陽性 T 細胞と免疫抑制を示す Treg の PD-1 発現のバランスが抗 PD-1 抗体治療の効果に強く関わっており、極めて有用なバイオマーカーとなることを見出し、誌上報告した (Kumagai S, et al. Nat Immunol 2020)。しかしながら、CD8 陽性 T 細胞と免疫抑制を示す Treg の PD-1 発現の差異がなぜ生まれるのかに関しては、まだその詳細な機序は解明されていない。Treg と CD8 陽性 T 細胞では、同じリンパ球でありながら、PD-1 の発現機構に違いがある可能性が高い。がんは同一病変内でも不均一な性質を持っており、また、最近では腫瘍コア内と腫瘍周辺の間質に浸潤するリンパ球で PD-1 の発現量に違いがあることが報告されている (Umemoto K, et al. Int Immunol 2020)。腫瘍局所内での各リンパ球の局在や抗腫瘍免疫応答を抑える Treg と抗腫瘍効果を持つ CD8 陽性 T 細胞の位置関係が各々の PD-1 発現に影響を及ぼし、さらには ICI 治療反応性の違いを生み出している可能性がある。実際、最近では腫瘍内不均一性と免疫チェックポイント阻害剤の奏効との関係について報告されている (McGranahan N, et al. Science 2016)。食道癌は免疫チェックポイント阻害剤が奏効すると報告されているが (Kato K, et al. Lancet oncol 2019)、食道がんにおいて、腫瘍の遺伝子発現や免疫応答が不均一になっている可能性が十分にあり、治療耐性を導いている可能性がある。本研究では抗 PD-1 抗体治療を受けた食道がん患者の検体を多重免疫染色を用いて、病理



切片を詳細に評価することで、抗PD-1抗体治療耐性を導く機序の詳細を解明し、新規バイオマーカーや治療開発につなげることを目的とした。

## 方法・結果

PD-1阻害剤治療を実施した食道がん患者87例のPD-1阻害治療前のFFPE検体を用いて多重免疫染色を実施した。既報における胃がんや肺がんでの検討と同様に (Kumagai S, et al. Nat Immunol 2020), PD-1阻害治療に奏功する症例では腫瘍に浸潤するCD8陽性T細胞におけるPD-1発現は高く、PD-1阻害治療に奏功しない症例ではTregにおけるPD-1発現が有意に高まっていることが判明した。またPD-1陽性TregがPD-1陽性CD8陽性T細胞に近接していることが治療効果と綿密にかかわっている可能性があることも見出した (図1)。

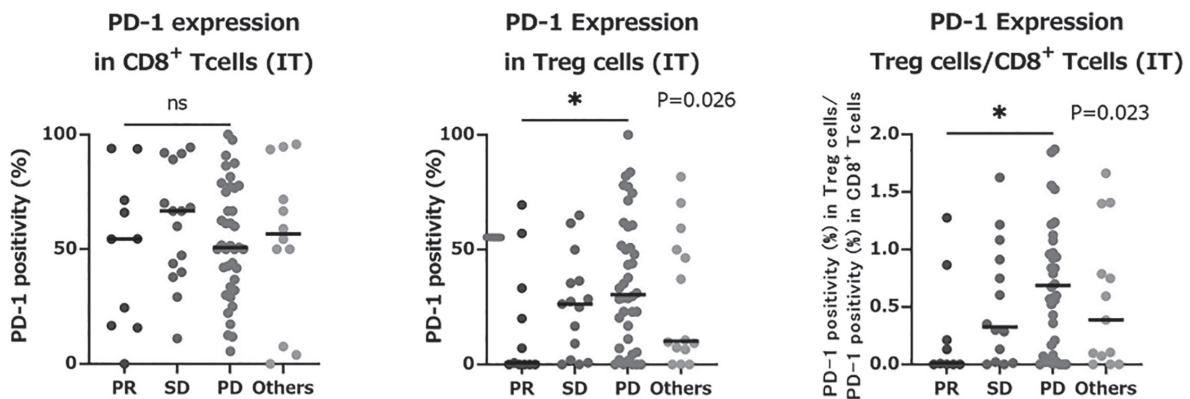


図1 食道がんにおけるPD-1阻害治療前のFFPE検体を用いた解析

さらに我々は腫瘍に浸潤するTregにPD-1が発現する機構に関して詳細に検討することとした。外科的手術により切除された固形がん検体から腫瘍浸潤リンパ球を抽出し、フローサイトメトリーを用いて解析した。また、同時に次世代シーケンサーを用いてがん組織での遺伝子発現の網羅的解析を実施した。腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高い腫瘍と低い腫瘍とを比較したところ、腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高い腫瘍でMYC発現が高まり、MYCが制御する解糖系に関わる遺伝子発現が高いことが明らかになった。次に解糖系が高まっている腫瘍においてなぜ腫瘍浸潤制御性T細胞においてPD-1発現が高まるのかを検討するため、腫瘍浸潤リンパ球の網羅的遺伝子発現解析を実施して比較検討した。腫瘍浸潤PD-1陽性制御性T細胞では他のリンパ球と比較して乳酸トランスポーターであるMCT1 (遺伝子名SLC16A1)の発現が高まっていることを見出し、腫瘍の解糖系の最終代謝産物である乳酸を制御性T細胞が取り込むことでPD-1発現を高めている可能性が示唆された。乳酸が制御性T細胞上のPD-1発現を誘導する機序を検討するため、低糖環境下で乳酸濃度を漸増させ様々なT細胞を刺激した (図2)。

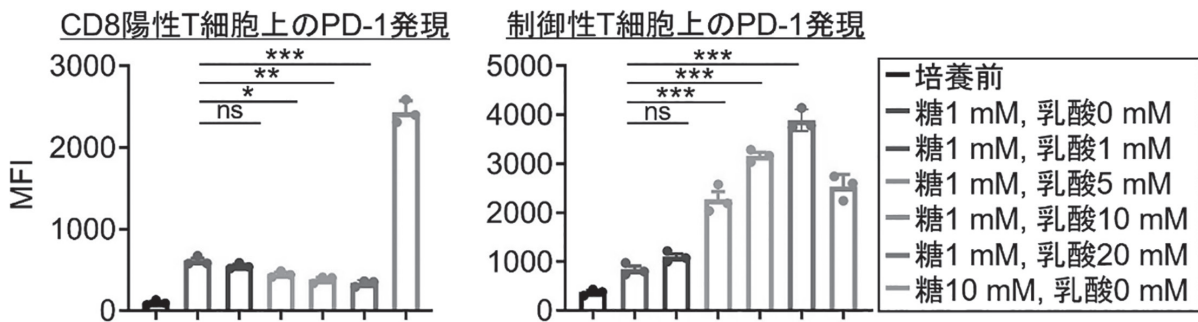


図2 各リンパ球のPD-1発現と乳酸の関係

エフェクターT細胞（CD8陽性T細胞）では低糖環境下で乳酸濃度の上昇に伴いPD-1発現は低下したのに対して、制御性T細胞ではPD-1発現が高まった。つまり、制御性T細胞ではCD8陽性T細胞とは異なり乳酸を介した特異的なPD-1発現機構を有していることを発見した。

さらに、MYC強発現腫瘍において解糖系が亢進し乳酸濃度が高まっているかを、マウスモデルを用いて検討した。野生型マウスにMYCを強制発現したMC38を接種した。MYC強発現腫瘍では解糖系関連分子発現が高まり、それに伴いその他の腫瘍と比較して乳酸濃度が上昇していた。また、MYC強発現腫瘍では腫瘍浸潤エフェクターT細胞（CD8陽性T細胞）のPD-1発現は低下している一方で、制御性T細胞のPD-1発現が高まっていた。抗PD-1抗体治療に抵抗性を示すとともに、hyper progressionに繋がっていると考えられ、本機序の重要性が示された。進行胃がんもしくは肺がんがあり、抗PD-1抗体治療を受けた患者さんのデータを後方視的に解析したところ、MYC過剰発現があると抗PD-1抗体治療の無増悪生存期間が有意に短くなることが示された。MYCを強制発現したMC38腫瘍を接種したマウスにMCT1阻害薬を投与したところ、腫瘍浸潤エフェクターT細胞（CD8陽性T細胞）のPD-1発現は上昇する一方で、制御性T細胞のPD-1発現は減弱した（図3）。

MCT1阻害薬を抗PD-1抗体と併用することで、肝臓腫瘍において抗PD-1抗体治療に対する抵抗性を改善でき新たな治療標的として臨床開発につながる可能性が示唆された。

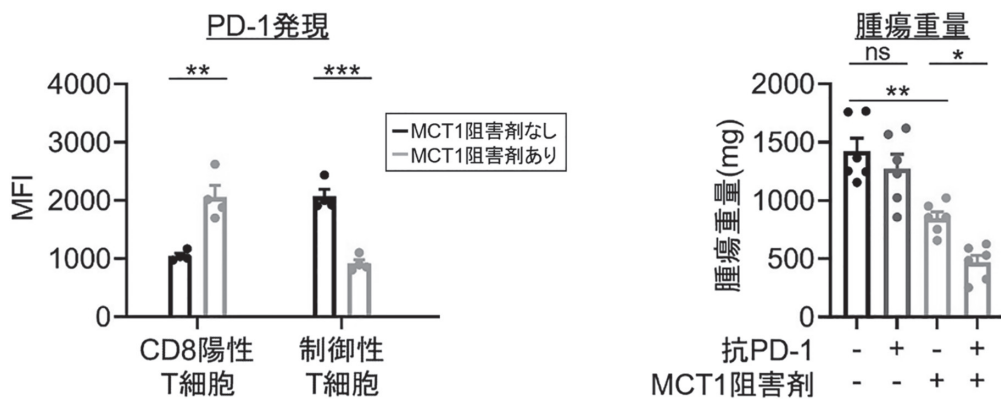


図3 各臓器におけるMCT1阻害治療効果

### おわりに

これまで、PD-1/PD-L1阻害薬を始めとした免疫チェックポイント阻害薬治療は様々ながん種において、治療効果が証明されてきた。一方で、免疫チェックポイント阻害薬が奏功しない患者も多く、治療効果を高める必要がある。我々は胃がんや肺がん検体を検討することによりTregに発現するPD-1はPD-1阻害治療の耐性に関わっていることを報告してきたが（S Kumagai et al. Nat Immunol 2020）、食道がんにおいてもTregに発現するPD-1はPD-1阻害治療の耐性に関わっていることが判明した。さらには、PD-1陽性TregがPD-1陽性CD8陽性T細胞に近接していることが治療効果と綿密にかかわっている可能性があることも本研究において見出した。さらには、MYC強発現腫瘍は免疫チェックポイント阻害薬治療が効きづらいことが知られていたが、本研究により、MYC強発現腫瘍を始めとした解糖系が亢進した腫瘍においては、乳酸代謝を介して腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高まり、PD-1/PD-L1阻害薬が奏効しづらくなっていることが明らかになった。

今後、MYC強発現腫瘍を有する患者では、乳酸代謝経路を阻害する薬剤を併用することで、PD-1/PD-L1阻害薬治療の効果を高められる可能性が期待される。がん患者さんを対象にした臨床開発に向けて検討を重ね、新たながん免疫治療法への展開を目指す。以上の研究成果は米国科学雑誌「Cancer Cell」電子版に掲載された（S Kumagai et al. Cancer Cell. 2022 40 (2):201-218.）。



## 文 献

- 1) Kumagai S, et al. An Oncogenic Alteration Creates a Microenvironment that Promotes Tumor Progression by Conferring a Metabolic Advantage to Regulatory T Cells. *Immunity*. **53**(1) : 187-203, 2020.
- 2) Kumagai S, et al. The PD-1 expression balance between effector and regulatory T cells predicts the clinical efficacy of PD-1 blockade therapies. *Nat Immunol*. **21**(11) : 1346-58, 2020 Nov.
- 3) Umemoto K, et al. The potential application of PD-1 blockade therapy for early-stage biliary tract cancer. *Int Immunol*. **32**(4) : 273-81, 2020.
- 4) McGranahan N, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science*. **351**(6280) : 1463-9, 2016.
- 5) Kato K, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced oesophageal squamous cell carcinoma refractory or intolerant to previous chemotherapy (ATTRACTION-3): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. **20**(11) : 1506-17, 2019.
- 6) S Kumagai et al. Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments. *Cancer Cell*. **40**(2) : 201-18, 2022.

# 中枢神経胚細胞腫の病態解明 —腫瘍マーカーの役割と限界—

高見 浩数\*

**要旨** 中枢神経系胚細胞腫 (CNS GCT) は稀で病態の解明が不十分である。臨床的にはノンジャーミノーマの診断における腫瘍マーカー (HCG, AFP) の有用性と解釈が未解決問題の1つである。本研究では病理組織診断と腫瘍マーカーの両方のデータがある162症例を対象とした。生検および外科的切除はそれぞれ85, 77例で施行された。77の切除例のうち35例で腫瘍マーカーが陽性だった。このうち17例 (49%) では病理においてノンジャーミノーマ成分は確認されず、ジャーミノーマ, 奇形腫, またはその両方で構成されていた。胎児性癌1例は唯一のマーカー陰性のノンジャーミノーマだった。85の生検症例のうち18例 (21%) はマーカー陽性だった。このうち7例は病理にノンジャーミノーマ成分を有さず, 限られた組織サンプルでの限界を示唆した。病理組織診断と腫瘍マーカーのどちらか単独では, 正確にノンジャーミノーマを診断できず, 両者を統合してより重い方を重視して診断するべきと考えられた。

## はじめに

中枢神経系胚細胞腫 (germ cell tumor: GCT) は, 主に小児, 青年, および若年成人に発生する悪性腫瘍であり, いくつかの異なる組織型を含む。最も頻度が高いのはジャーミノーマであり, 50-60%を占める。広義のノンジャーミノーマ (non-germinomatous GCT: NGGCT) は, 成熟・未熟奇形腫, 悪性形質転換を伴う奇形腫, 卵黄嚢腫, 胎児性癌, 絨毛癌を含む。一般的にジャーミノーマの予後は良好の一方, NGGCTは治療抵抗性であり, より強力な化学療法と放射線治療を要する<sup>1)</sup>。

血清および脳脊髄液中の腫瘍マーカー (ヒト絨毛性ゴナドトロピン [HCG] およびアルファフェトプロテイン [AFP]) は, 診断, 治療反応の評価, および治療後の再発の検出に有用である<sup>2)</sup>。一般的にGCTの確定診断には病理診断が必要ではあるが, 腫瘍マーカーの上昇, 画像の特徴, および臨床所見に基づき, 病理組織診断を省略する場合がある<sup>3)</sup>。特に欧米ではそれが一般的となっている。これは腫瘍マーカーの上昇を示すほとんどの症例が悪性成分 (卵黄嚢腫, 胎児性癌, 絨毛癌, 悪性形質転換を伴う奇形腫, これらをこれ以降, 悪性NGGCTと呼称する) を有するNGGCTであるという事実によって裏付けられている。しかし, 病理組織診断の根拠のない治療は, 本来は適応のない強力な放射線化学療法をジャーミノーマや奇形腫に対して行う潜在的な危険性があり, また最適な腫瘍マーカーのカットオフに関して一致した意見もない<sup>4)</sup>。一方で病理組織診断には, 微小な腫瘍検体に基づく診断によって偽陰性の結果 (under-diagnosis) をもたらすリスクもある。地理的には, 日本ではマーカー陽性例でも病理組織診断がより重視されており<sup>5)</sup>, 欧米諸国ではマーカーレベルが高いことで診断的に十分であると日常的に考えられておりそれに基づき様々な臨床試験への登録も行われている<sup>6)</sup>。これまでに腫瘍マーカーと病理組織データを統合した診断は検証されていない。

これらに基づき, 本研究の主な目標は, マーカー陽性症例が本当にノンジャーミノーマであるのかを十分な量の組織に基づいて行われた病理診断を用いて検証し, また生検によって得られた微小組織に基づいた病理診断とマーカーによる診断がどの程度一致するのかを検証した。

\* 東京大学医学部附属病院 脳神経外科

## 対象と方法

頭蓋内 GCT ゲノム解析コンソーシアム (iGCT コンソーシアム) データベースにおける 154 例の初発原発頭蓋内 GCT をこの研究に含めた。中央病理診断は 1 人の専門神経病理学者 (中里洋一先生) によって実施された。国立がん研究センターの倫理委員会と各施設の倫理審査委員会によって承認された。米国メイヨークリニックで 1988 年から 2017 年に治療された連続した頭蓋内 GCT の後ろ向きコホート研究により、80 例の初発原発性症例が得られ、これらの病理組織診断は自院で施行された。研究は自院での倫理審査委員会で審査、承認された。これらのうち、病理組織診断およびベースラインの腫瘍マーカーを有するすべての症例を対象にした。結果、iGCT コンソーシアムの 122 例とメイヨークリニックの 40 例の合計 162 例が含まれた。

## 成績

### 3.1 腫瘍切除例における病理組織と腫瘍マーカー値の比較

腫瘍マーカーの一方または両方のデータがあり、外科的切除が行われた 77 例を対象とした。病理組織型と腫瘍マーカー値の比較を図 1 に示す。NGGCT では血清、CSF の両方で、両方のマーカーで一般的に非常に高い値を示した。ジャーミノーマでは HCG 値は診断閾値である 100 IU/l 未満がほとんどだが、中等度の上昇を示した症例もあった。AFP の上昇が 1 例に見られ (血清 AFP 85 ng/ml)、4 歳男児の松果体症例であるが、全脳室照射とシスプラチン+エトポシドの化学療法後 196 か月の追跡期間中に再発しなかった。

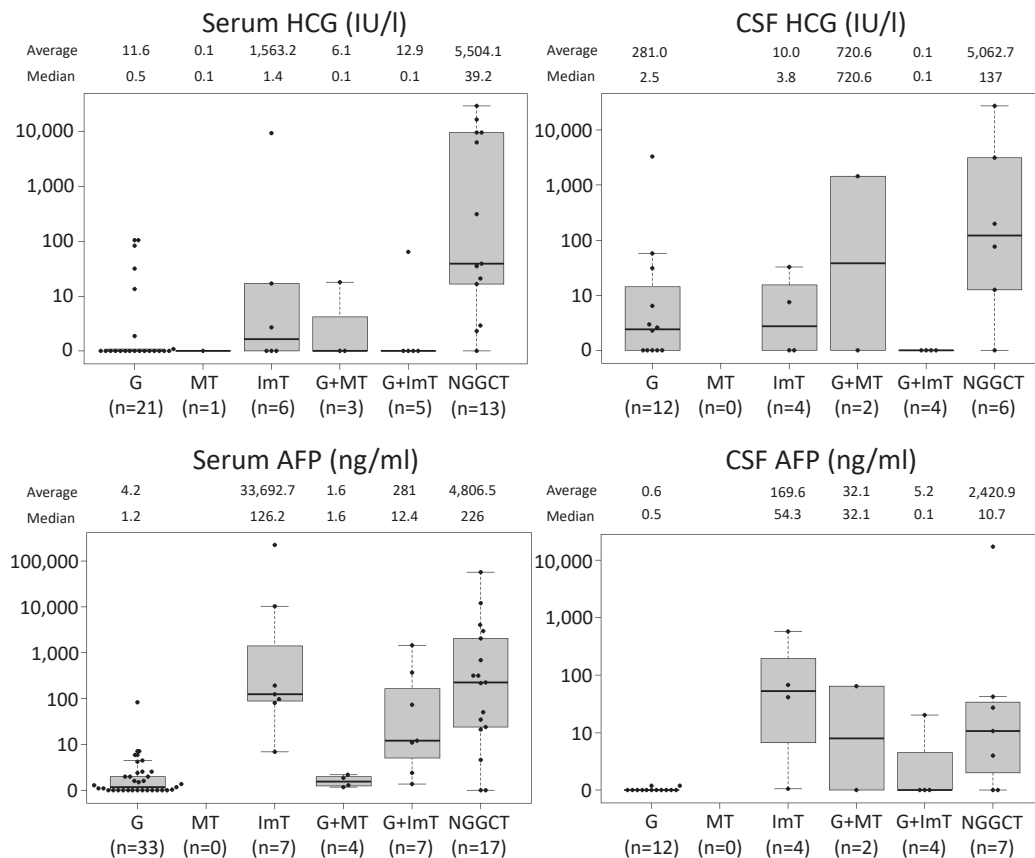


図 1 切除術を行った 77 例における、病理組織診断ごとの腫瘍マーカー  
ジャーミノーマは HCG の上昇が見られることが多く、奇形腫は AFP の上昇が見られることが多い。  
G: ジャーミノーマ, MT: 成熟奇形腫, ImT: 未熟奇形腫, NGGCT: ノンジャーミノーマ

未熟奇形腫では軽度のHCGの上昇が見られたが、1例を除く全ての症例の値は正常範囲内であった。未熟奇形腫のほとんどではNGGCTと同様に血清とCSFの両方でAFPの上昇が見られた。これは、ジャーミノーマと未熟奇形腫の混合性症例におけるAFPの上昇にも反映されている。

### 3.2 マーカー陽性切除症例における組織像の分布

腫瘍マーカーが診断閾値 (HCG>100IU/l または AFP>10ng/ml) を超え、また切除術を行った症例は35例 (45%) であった。これらの症例の大部分 (n=18, 51%) は、悪性成分を含むNGGCTだった。他の17例 (49%) はジャーミノーマが5例、未熟奇形腫が8例、成熟奇形腫+ジャーミノーマが1例、未熟奇形腫が3例だった (図2)。臨床所見、治療記録、経過観察の詳細は表1にまとめた。このうち3例 (未熟奇形腫2例、ジャーミノーマ1例) は周術期死亡、2例 (未熟奇形腫および未熟奇形腫+ジャーミノーマ) は治療後5、12カ月でそれぞれ再発し、1例は治療後33カ月でgrowing teratoma syndromeにより死亡した。シスプラチン含有化学療法レジメンおよび脳室照射 (またはそれ以上) の照射後、追跡期間4~227カ月 (中央値63) で11例が再発しなかった。

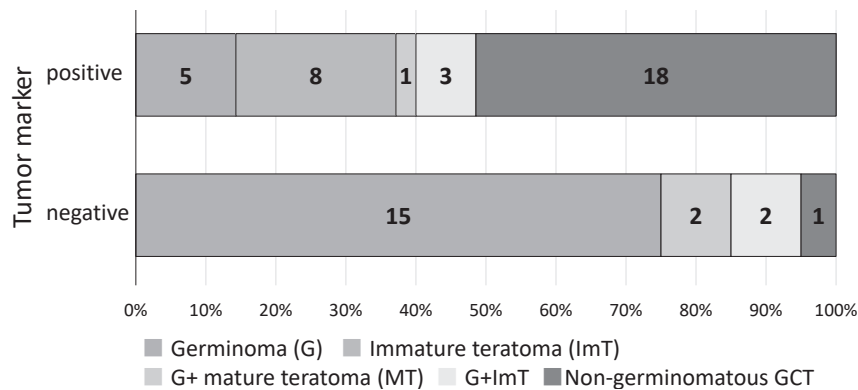


図2 腫瘍マーカー陽性の症例 (2つの腫瘍マーカーのうち少なくともどちらか一方、血清または脳脊髄液の少なくとも一方) と腫瘍マーカー陰性の症例 (どちらの腫瘍マーカーも陰性) の分布。腫瘍マーカー陽性の約半分 (35例中17例, 49%) では病理組織上、悪性成分は見られなかった。

表1 腫瘍切除が行われた症例における、腫瘍マーカーが陽性で病理組織において悪性成分の見られなかった17例の臨床的特徴

Histopathologic Diagnosis	Tumor Location	Age (years)	Sex	Serum Total HCG (IU/L)	CSF Total HCG (IU/L)	Serum AFP (ng/mL)	CSF AFP (ng/mL)	EOR	Chemotherapy	Radiation Therapy	Recurrence	Alive or Dead	F/U (months)
ImT	Ventricle	0	F			10,481		STR	None	None	No	Dead	0
ImT	Frontal lobe	0	F	2.7		224,865		PR	None	None	No	Dead	0
G	Neurohypophysis + ventricle	24	M		3267.5	1.3	0.8	STR	None	None	No	Dead	0
ImT	Basal ganglia	13	M			126.2	66.9	GTR	PE	WBI + local	No	Alive	4
ImT + G	Pineal	11	M	0.1	0.1	372.8	20.2	GTR	PE	WVI + local	No	Alive	5
ImT	Pineal	16	M	0.1	32.4	192.2	568.59	GTR	PE, ICE, VP16, VBL, TIP	WBI + local	Yes	Dead	5
ImT + G	Pineal	16	M	64		74.5		STR	CARE	WVI	Yes	Dead	12
G	Pineal	25	M	13.4	31			STR	No data	No data	No	Alive	22
ImT	Pineal	11	M	0.1	0.1	80.7	1.06	STR	PE	WBI + local	No	Dead	33
ImT	Pineal	4	M	17.2	0.1			GTR	PE	WVI + local	No	Alive	40
ImT	Pineal	10	M	0.1	7.49	97	41.76	GTR	PE	WBI + local	No	Alive	61
G	Temporal lobe	16	M	105.6		2.6		STR	PE	WBI	No	Alive	63
ImT	Pineal	0	M	9359		6.9		GTR	ICE	CSI + local	No	Alive	86
G + MT	Pineal	14	M	18	1441	2.2	64	STR	ICE	CSI + local	No	Alive	87
G	Pineal	17	M	32	58	1.1	0.1	STR	PE	CSI + local	No	Alive	141
G	Pineal	4	M	0.8		85		GTR	PE	WVI	No	Alive	196
MT + ImT + G	Pineal	12	M	0.1	0.1	12.4	0.1	GTR	PE	No data	No	Alive	227

CSF; cerebrospinal fluid, EOR; extent of resection, F/U; follow-up, G; germinoma, MT; mature teratoma, ImT; immature teratoma, M; male, F; female, GTR; gross total resection, STR; subtotal resection, PR; partial resection, PE; cisplatin + etoposide, ICE; ifosfamide + cisplatin + etoposide, VBL; vinblastine, TIP; paclitaxel + ifosfamide + cisplatin, CARE; carboplatin + etoposide, WBI; whole-brain irradiation, WVI; whole-ventricular irradiation, CSI; craniospinal irradiation, local; local irradiation.

### 3.3 マーカー陰性切除例における組織像の分布

腫瘍マーカーが陰性で切除術を施行した症例は20例であった。19例(95%)では、NGGCT成分は同定されなかった(図2)。マーカー陰性のNGGCT症例の1つは、胎児性癌を伴うジャーミノーマだった。

### 3.4 HCGおよびAFPによる症例の分布

合計77例に少なくとも1つの腫瘍マーカーと生検よりも大きい外科的切除標本による病理診断があった(図3)。マーカー陰性の症例のほとんどはNGGCTではなかったが、マーカー陽性例はNGGCTに加えてジャーミノーマ、成熟奇形腫、および未熟奇形腫の混合だった。感度、特異度、および陽性/陰性適中率は表2の通りであった。

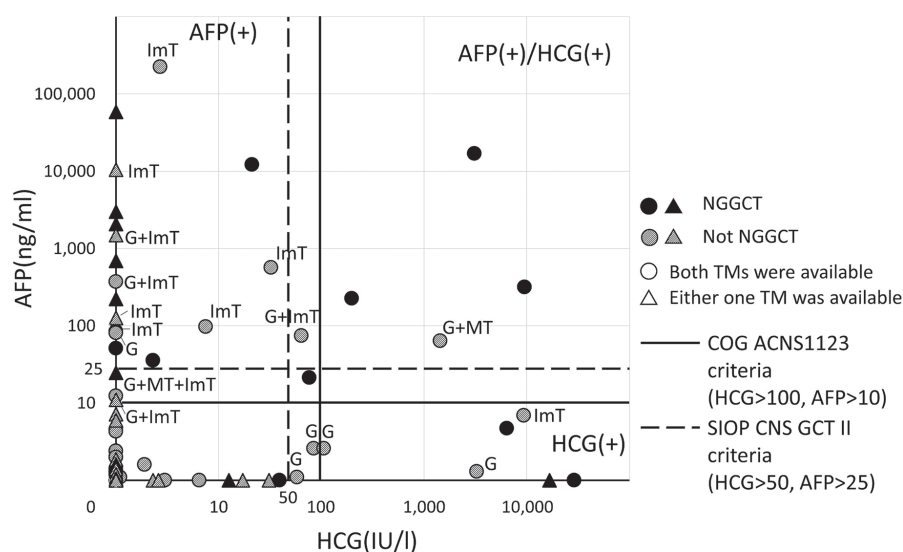


図3 切除の行われた77例におけるHCGとAFPの値の分布

実線はCOG ACNS1123試験におけるノンジャーミノーマのカットオフ値、点線はSIOP CNS GCTII試験におけるノンジャーミノーマのカットオフ値を示す。どのような線を引いても悪性成分を有するノンジャーミノーマを腫瘍マーカーだけで分けることができないことがわかる。

TM: 腫瘍マーカー, G: ジャーミノーマ, MT: 成熟奇形腫, ImT: 未熟奇形腫, NGGCT: ノンジャーミノーマ

表2 腫瘍切除が行われた症例における、腫瘍マーカーと病理組織における悪性成分の有無について、感度、特異度、陽性・陰性適中度

Tumor markers	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
HCG $\geq$ 100 IU/L	61.5% 8/13	82.1% 32/39	53.3% 8/15	86.5% 32/37
AFP $\geq$ 10 ng/mL	83.3% 15/18	78.0% 39/50	57.7% 15/26	92.9% 39/42
Either or both	94.7% 18/19	52.8% 19/36	51.4% 18/35	95.0% 19/20

HCG; human chorionic gonadotropin, AFP; alpha fetoprotein, PPV; positive predictive value, NPV; negative predictive value.

### 3.5 生検症例における腫瘍マーカーと病理組織との相関

85例の生検症例のうち、50例で両方の腫瘍マーカー値を有していた。11例(13%)が腫瘍マーカーの上昇と悪性NGGCT病理所見を示した。7例(8%)は、腫瘍マーカーの上昇の一方で、病理組織診断上は悪性NGGCTは陰性だった。32例(38%)は腫瘍マーカーが陰性で悪性NGGCTも陰性だった。7例のミスマッチ症例は、ジャーミノーマ5例、成熟奇形腫+ジャーミノーマ1例、未熟奇形腫+成熟奇形腫腫1例であった。



## 考 按

この研究は大規模な多施設国際研究コホートによる、切除検体のサイズを考慮して病理組織診断と腫瘍マーカーを比較した最初のものである。病理組織診断と検査データを組み合わせることによって診断精度が向上するということが、また生検からの少量の標本から行う病理診断には under-diagnosis の可能性があるということを示している。これはすなわち、腫瘍マーカー陽性から生じる over-diagnosis による過度な治療と、生検から得られた病理診断による under-diagnosis による不十分な治療の可能性があるということにつながる。

この研究ではジャーミノーマと奇形腫、特に未熟奇形腫は悪性成分を有さずとも腫瘍マーカーが上昇することを示した。主に HCG 上昇はジャーミノーマで見られ、AFP 上昇は奇形腫で見られた。HCG は絨毛癌の腫瘍マーカーとして確立している一方、ジャーミノーマも RNA レベルでは HCG を発現していることが知られている<sup>7)</sup>。この研究では切除された 20 例のジャーミノーマのうち 1 例しか再発がなかったため、マーカー陽性例と陰性例における表現型の違いについては解析できなかった。過去の報告ではマーカー陽性のジャーミノーマは陰性のものに比べて予後が悪いという報告もある一方、HCG 産生ジャーミノーマは他のジャーミノーマと予後は同等とする報告もある。結果として、HCG 上昇を伴うジャーミノーマはノンジャーミノーマとして治療されるべきではなく、腫瘍マーカー単独での診断では過度な治療になりすぎることに注意が必要と言える。

未熟奇形腫の治療は議論がある。マーカー陰性で組織学的に証明された未熟奇形腫は欧米では外科的切除のみが行われる。日本では未熟奇形腫は予後中間群と考え、カルボプラチンおよびエトポシドによる化学療法と全脳室照射による治療がなされる。これは切除単独または限られた放射線照射では再発リスクが高いという認識に基づく。さらに未熟奇形腫の発生年齢は、病態と密接に関連している可能性がある。ゲノムとエピゲノムの特徴から全身の胚細胞腫が 7 つのサブタイプに分かれるという説によると、6 歳未満の未熟奇形腫と卵黄嚢腫はジャーミノーマおよび NGGCT とは異なるサブタイプとして分類されている<sup>8)</sup>。過去の症例報告には、乳児に生じた未熟奇形腫症例が化学療法単独で治療ができたとしている<sup>9)</sup>。したがって乳幼児の未熟奇形腫およびマーカー陽性の未熟奇形腫はしっかりと治療が必要であると考えられる。一方でマーカー陰性未熟奇形腫の治療戦略は今後も検討が必要と思われる。

もう 1 つ興味深い結果は、50 の生検症例において腫瘍マーカーの上昇にもかかわらず病理像で悪性組織が認められなかった 7 例に関するものである。これらの症例のうち 3 例はジャーミノーマで HCG が上昇し、4 例は AFP が上昇し、うち 1 例のみが病理像で未熟奇形腫を示した。ジャーミノーマでの AFP の上昇はないため、病理診断の under-diagnosis が原因と考えられ、針生検によって得られた少量のサンプルの限界を示した。

この研究はいくつかの制限がある。統合されたデータベースは国内の複数の施設と米国の 1 施設の症例から構成され、施設間の日常診療と臨床検査にばらつきがある可能性がある。これにより補正できていない交絡またはシステムティックエラーが生じている可能性がある。またこの研究は、病理組織学と腫瘍マーカーの関係という比較的狭い問題に焦点を当てており、他の重要な臨床的解析は行っていない。最後に、切除標本から得られた病理診断データは明らかに有利ではあるが、これは切除ファーストプロトコルにおける合併症率上昇を上回るほどの有益性があるかどうかは疑問のため、症候性の大きな腫瘍でない限り、ほとんどの場合では組織診断の最も好ましい方法としての針生検に依存する必要性があることは変わらない。研究結果と併せて、これらの考慮事項は腫瘍マーカーの上昇についての慎重かつ思慮深い解釈の必要性を強調する。miRNA などの代替診断法は、将来、より高感度で特異的な診断手段として血清マーカーと CSF マーカーの両方の可能性を高めるためにさらに調査する必要がある。

## おわりに

生検そして外科的切除標本のそれぞれにおける腫瘍マーカーと病理組織学的所見との関係に関する新しい分析を報告した。病理組織的に悪性成分がないマーカー陽性症例の小さいながらも意味のあるサブグループであり、病理組織診断なしに治療を行った場合、一部のジャーミノーマまたは奇形腫は過度な治療がなされる医原性リスクが高いことを示している。そのため、病理組織において悪性成分を含まないマーカー陽性 GCT 症例を他の NGGCT と同じくらい集中的に治療すべきかどうかという問題、特に HCG 上昇症例においては未解決のままである。並行して、針生検で病理所見で悪性成分を含まない一方で有意な AFP 上昇がある症例も特定し、under-sampling による潜在的に過小な治療の可能性もあることを示した。すなわち若くて脆弱な患者集団への不必要なリスクを最小限に抑えながらも治療効果を最大化するために、腫瘍マーカーと病理診断を両方用いることが重要であると言える。

## 文 献

- 1) Takami H, Fukuoka K, Fukushima S, et al. Integrated clinical, histopathological, and molecular data analysis of 190 central nervous system germ cell tumors from the iGCT Consortium. *Neuro-oncology* **21**: 1565-77, 2019.
- 2) Murray MJ, Bartels U, Nishikawa R, Fangusaro J, Matsutani M, Nicholson JC. Consensus on the management of intracranial germ-cell tumours. *Lancet Oncol* **16**: e470-e7, 2015.
- 3) Frappaz D, Dhall G, Murray MJ, et al. EANO, SNO and Euracan consensus review on the current management and future development of intracranial germ cell tumors in adolescents and young adults. *Neuro-Oncology* **24**: 516-27, 2022.
- 4) Takami H, Nakamura H, Ichimura K, Nishikawa R. Still divergent but on the way to convergence: clinical practice of CNS germ cell tumors in Europe and North America from the perspectives of the East. *Neuro-Oncology Advances* **4**: vdac061, 2022.
- 5) Nakamura H, Takami H, Yanagisawa T, et al. The Japan society for neuro-oncology guideline on the diagnosis and treatment of central nervous system germ cell tumors. *Neuro-oncology* **24**: 503-15, 2022.
- 6) Frappaz D, Dhall G, Murray MJ, et al. Intracranial germ cell tumors in Adolescents and Young Adults: European and North American consensus review, current management and future development. *Neuro-oncology* 2021.
- 7) Takami H, Fukushima S, Fukuoka K, et al. Human chorionic gonadotropin is expressed virtually in all intracranial germ cell tumors. *J Neurooncol* **124**: 23-32, 2015.
- 8) Oosterhuis JW, Looijenga LH. Human germ cell tumours from a developmental perspective. *Nature Reviews Cancer* **19**: 522-37, 2019.
- 9) Garrè ML, El-Hossainy MO, Fondelli P, et al. Is chemotherapy effective therapy for intracranial immature teratoma?: A case report. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society* **77**: 977-82, 1996.

# 膵癌治療における YAP/TAZ を治療ターゲットとした戦略構築 ならびに Statin の Drug repositioning の有用性に関する検討

林 洋光\*, 上村 紀雄\*, 馬場 秀夫\*

**要旨** 膵癌は極めて予後不良な消化器癌の一つであり、抗がん剤との相乗効果を示すような薬剤の併用による multi anti-cancer drug の治療戦略が必要であると考えられる。スタチンは脂質異常症の第一選択薬だが、Drug repositioning として悪性腫瘍に対する抗腫瘍効果が報告されている。本研究により、スタチンが Hippo-pathway の構成成分であり癌促進因子である YAP/TAZ の発現を低下させアポトーシスを伴う細胞増殖抑制効果を誘導すること、抗がん剤とスタチンの併用により細胞増殖抑制効果が増強されること、腫瘍免疫抵抗性に寄与する PD-L1 の発現低下を引き起こすこと、などを同定した。膵癌において、抗がん剤や免疫チェックポイント阻害剤とスタチンの併用療法は有効な複合的免疫治療となりえる可能性が示唆された。

## はじめに

### 1. 臨床的重要性 – 膵癌 –

膵癌の癌関連死亡は増加しており、現在先進国における癌関連死亡の4位であり、今後数年以内に2位となると予想されている。近年の画像診断や新規薬物療法の発展にも関わらず、膵癌の5年生存率は未だに10%を下回り、予後不良な消化器癌の一つである。進行膵癌に対する最も強力な抗がん剤レジメンとして知られる FOLFIRINOX 療法でさえ、生存期間中央値 10.7ヶ月、奏効率 39%というのが現状である<sup>1)</sup>。また、有害事象も大きく治療継続困難となる症例も多い。そこで、抗がん剤単独ではなく、抗がん剤との相乗効果を示すような薬剤による補助療法を併用する multi anti-cancer drug の治療戦略が必要であると考えられる。

### 2. Hippo pathway

Hippo pathway は、細胞接触や機械刺激を感知し、細胞増殖を抑制しアポトーシスを促進することにより器官のサイズを制御するシグナル伝達経路として同定された<sup>2)</sup>。がん研究においては、腫瘍抑制シグナルとして注目されており、膵癌を含め多くの癌腫で Hippo pathway の破綻が報告されている<sup>3)</sup>。Hippo pathway の破綻は下流に位置する転写共役因子である YAP/TAZ の発現上昇ならびに核内への移行を引き起こし、細胞増殖に関わる種々の遺伝子の転写が促進される。われわれはこれまでに、消化器癌において TAZ/YAP の発現プロファイルは癌種によって異なり、これらのタンパク質が癌進展において役割を果たしていることを示唆し、肝細胞癌において TAZ から YAP への発現シフトは癌幹細胞能獲得に寄与し、化学療法抵抗性に寄与することを同定した<sup>4)</sup>。また、胃癌において CAF の（癌関連線維芽細胞）の細胞外小胞は、 $\beta 1$  インテグリンを安定化させることにより FAK-YAP 活性化を誘導し、薬剤耐性の獲得に寄与することを報告している<sup>5)</sup>。

---

\*熊本大学病院 消化器外科

### 3. スタチン

#### • スタチンの抗腫瘍効果

スタチンは脂質異常症の第一選択薬であり、世界で最も汎用されている薬剤の一つである。メバロン酸経路の律速酵素である HMG-CoA 還元酵素を阻害し胞内のコレステロールの生合成を抑制し、血中 LDL- コレステロールの細胞内への取り込み促進し、血中 LDL- コレステロールを低下させ、動脈硬化性疾患を予防する。一方で、以前からスタチンによる抗腫瘍効果に関する臨床論文が多数報告されている。最近でも上皮性卵巣癌において、特に BRCA1/2 変異遺伝子キャリア対象に、HMG-CoA 還元酵素阻害と卵巣がんリスク低下の関連が示された<sup>6)</sup>。われわれはこれまでにスタチンの抗腫瘍効果に関して、大腸癌における EZH2 発現抑制を介した腫瘍増殖抑制効果<sup>7)</sup>や肝細胞癌における TAZ 発現抑制による腫瘍増殖抑制効果<sup>8)</sup>を報告している。

### 目 的

本研究の目的は、スタチンは YAP/TAZ を介して膵癌細胞に対して直接的な抗腫瘍効果を示すとともに PD-1 および PD-L1 の発現低下をも引き起こし抗腫瘍免疫の是正による免疫を介した間接的な抗腫瘍効果をも有する、という仮説に基づいて、分子生物学的メカニズムを解明し予後不良な膵癌における新たな治療戦略の礎を築く、ことである。ひいては、抗腫瘍剤や免疫チェックポイント阻害剤とスタチンの併用療法の可能性を示し、多施設での臨床試験で検証し臨床応用に繋げたい。最終目標は、極めて予後不良な膵癌に対する集学的治療において新しいエビデンスの構築ひいては長期予後を改善することである。

### 方法と結果

2004 年～2017 年の膵癌切除例 200 例におけるスタチン内服歴の有無と臨床病理学的因子の関連ならびに長期予後との関連について統計学的手法を用いて検討を行った。背景因子について以下に示す (表 1)。膵切除後全生存期間に関する因子について Cox 比例ハザードモデルを用いて単変量および多変量解析を行ったところ、スタチン内服は膵癌切除後の予後良好に寄与する独立した予後因子であることを確認した (表 2)。

表 1 膵癌切除例の背景因子 (N=200)

臨床因子	中央値 (範囲) もしくは症例数 (%)
年齢 (才)	69 (36-90)
男性	108 (54%)
CEA (ng/nL)	2.4 (0.2-112)
CA19-9 (U/L)	53.3 (0.1-4764)
出血量 (g)	652 (10-13153)
手術時間 (min)	493 (120-1221)
T-stage (T3, T4) *	170 (85%)
リンパ節転移陽性	107 (53.4%)
術後合併症 (CDCs>III) :	56 (28%)
術後補助化学療法	164 (82%)
Statin 内服あり	47 (23.4%)

CDCs, Clavien-Dindo classifications. \*UICC (7th edition)



表2 膵切除後全生存期間に関する因子についての単変量および多変量解析 (N=200).

臨床因子	単変量解析			多変量解析		
	HR	95%CI	P 値	HR	95%CI	P 値
年齢 > 70	1.12	0.75-1.66	0.56			
性別 (男性)	1.43	0.96-2.14	0.08			
CEA (> 3.4 ng/mL)	1.54	1.01-2.32	0.046			NS
CA19-9 (> 37 U/L)	2.29	1.48-3.67	0.001			NS
出血量 (> 550g)	1.51	1.04-2.20	0.028			NS
手術時間 (> 700 min)	1.14	0.79-1.65	0.47			
T stage (T3, T4) *	1.99	1.17-3.22	0.013	2.55	1.30-5.39	0.002
リンパ節転移陽性	2.23	1.54-3.60	<0.001	1.16	1.07-2.53	0.009
術後合併症 (CDCs > III)	1.27	0.84-2.01	0.25			
術後補助化学療法	0.75	0.45-1.30	0.29			
Statin 内服あり	0.61	0.37-0.96	0.024	0.59	0.35-0.93	0.021

HR, hazard ratio; NS, not significant; CDCs, Clavien-Dindo classification. \*UICC (7th edition)

膵癌切除例におけるスタチン内服が良好な長期予後に寄与する分子生物学的メカニズムを解明するにあたって、膵癌細胞株を用いてスタチン投与による YAP/TAZ の発現変化に focus して *in vitro* の検討を行った。5 種類のスタチン (simvastatin, pravastatin, fluvastatin, rosuvastatin, atorvastatin) を膵癌細胞株 (MiaPaca-2, Panc-01, PK-8, AsPC-1) に添加し、細胞増殖能を growth assay で検討したところ (図 1), dose dependent ならびに time dependent にスタチン投与による細胞増殖抑制効果を認めた。

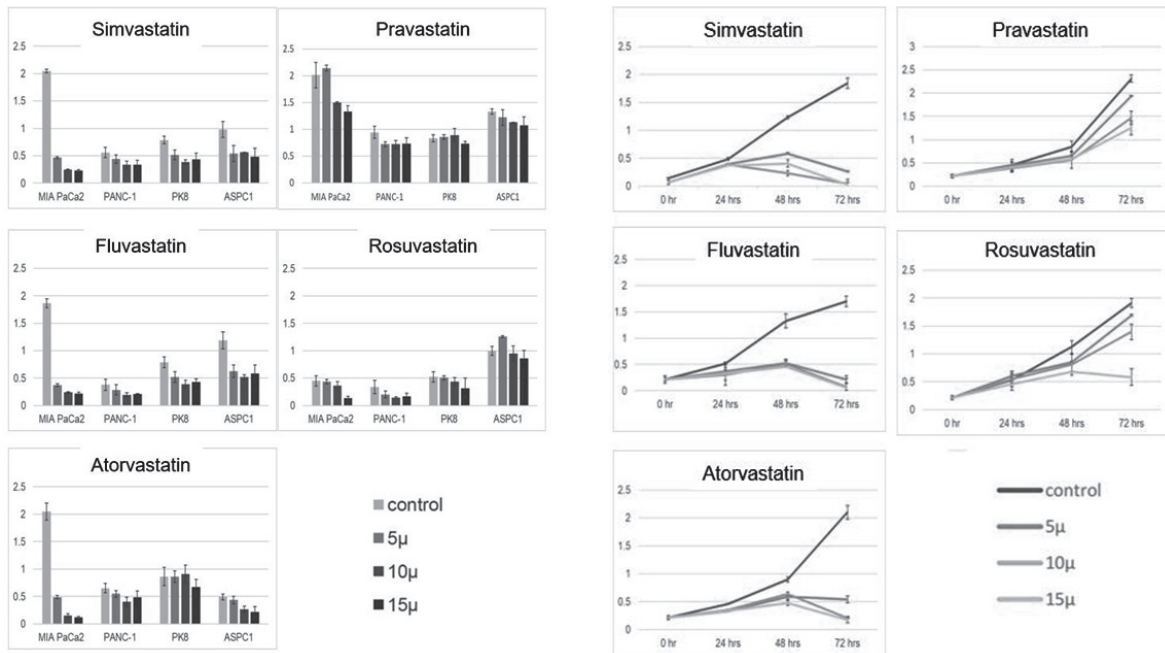


図1 スタチン (5 種類) による膵癌細胞株に対する細胞増殖抑制効果 (growth assay)

続けて、膵癌細胞株に対するスタチン投与による YAP/TAZ の発現変化ならびに細胞内シグナル変化について western blot 法を用いて検討を行った (図 2)。細胞増殖抑制効果の強い simvastatin と効果の弱い pravastatin では、興味深いことに YAP/TAZ の発現抑制効果に差を認め、simvastatin でより強い YAP/TAZ の発現抑制効果を認めた。また、細胞内シグナルにおいては、simvastatin で MAPK (p38, JNK, Erk1/2) の活性化と Akt シグナルの低下を認め、アポトーシス細胞死の指標である Cleaved caspase-3 の発現亢進を認めた。以上より、simvastatin は MAPK の活性化と Akt シグナルの抑制を介してアポトーシスを誘導していることが示唆された。



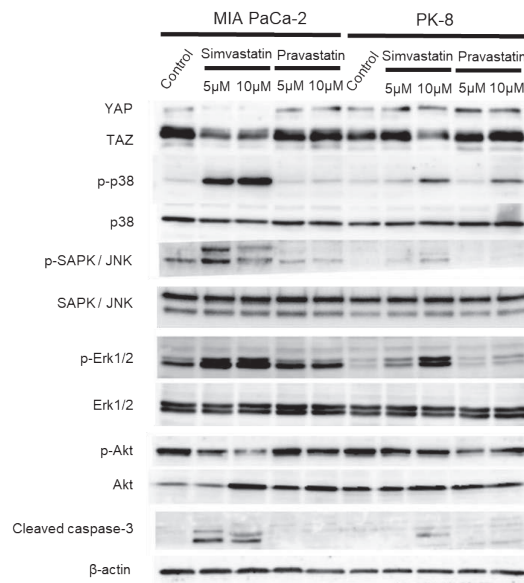


図2 スタチン投与による膵癌細胞株に対する YAP/TAZ の発現変化と細胞内シグナル変化 (western blot)

次に、Simvastatin による YAP/TAZ 発現抑制効果がアポトーシスを誘導するメカニズムをさらに解明するために、p38 阻害剤と JNK 阻害剤を用いて検討を行った (図3)。p38 阻害剤の併用では、Simvastatin による YAP/TAZ の発現抑制ならびに Cleaved PARP の誘導、Akt の脱リン酸化は阻害されなかったが、JNK 阻害剤の併用では、YAP/TAZ の発現低下、Cleaved caspase-3 の誘導、Akt の脱リン酸化が阻害された。さらに JNK 阻害剤の併用により Simvastatin による細胞増殖抑制効果は減弱した (図4)。このことより Simvastatin は JNK pathway の活性化を介して YAP/TAZ の発現抑制ひいてはアポトーシスを誘導していると考えられた。さらに、Simvastatin と膵癌薬物治療における key drug である oxaliplatin の併用は、simvastatin 単独および oxaliplatin 単独と比べて細胞増殖抑制効果が増強された (図4)。

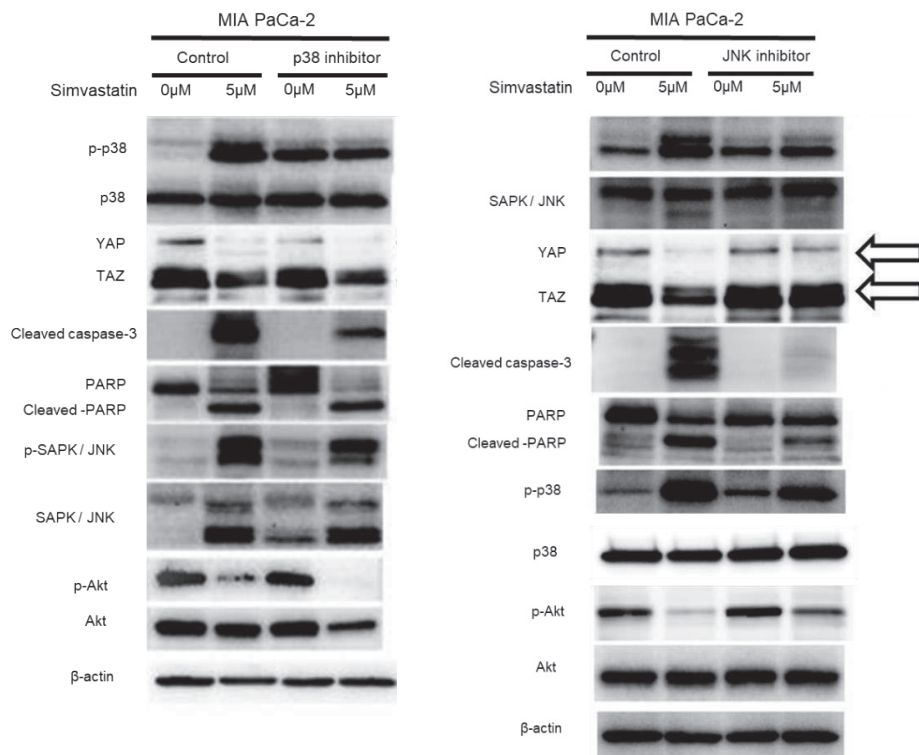


図3 Simvastatin は JNK pathway を介して YAP/TAZ の発現低下とアポトーシスを引き起こす

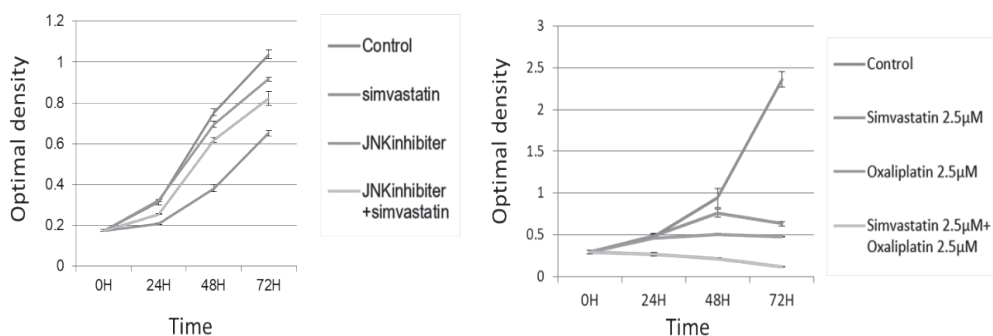


図4 Simvastatin は JNK 阻害剤との併用により細胞増殖抑制効果が減弱し、oxaliplatin との併用によって細胞増殖抑制効果が増強する

近年、スタチンは免疫系への作用も有することで注目されている。Xia らは、スタチンは抗原提示細胞における Rab5 を含む GTPase のゲラニルゲラニル化を阻害し、抗原保持の延長、抗原提示の増強、T 細胞活性化をもたらす、抗 PD-1 抗体との相乗効果を示した<sup>9)</sup>(Yun Xi, et al. Cell, 2018)。Vieira- Silva らは、スタチンは肥満患者において腸内細菌叢に作用し、全身性の炎症反応を改善することを報告した<sup>10)</sup>。近年、様々な癌種で PD-L1 や PD-1, CTLA-4 をターゲットにした免疫チェックポイント阻害剤が臨床応用され、癌治療に大きな変化をもたらした。

われわれは、スタチンが膵癌細胞株における PD-L1 発現に与える影響について in vitro で検討を行った。膵癌細胞株 (MIA PaCa-2) に対するスタチン投与による PD-L1 の発現変化について western blot 法ならびに FACS 解析を用いて検討を行った (図 5)。Simvastatin は pravastatin と比べてより強い PD-L1 の発現抑制効果を認め (図 5a), FACS 解析において細胞表面の PD-L1 発現も Simvastatin 投与により低下していた (図 5b)。さらに興味深いことに 5 種類のスタチン投与により、程度の差はあるがすべて control と比べて細胞表面の PD-L1 発現が低下した (図 5c)。スタチンが PD-L1 の発現を低下させ

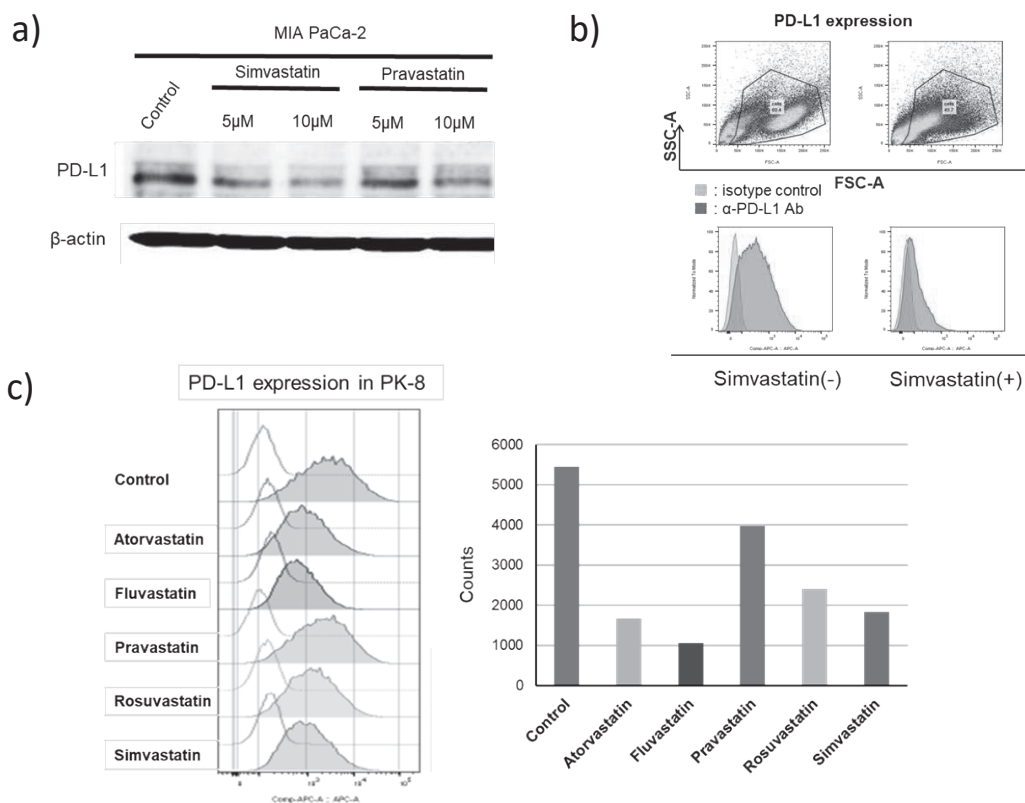


図5 スタチン投与による PD-L1 発現抑制効果

るメカニズムについて YAP/TAZ に注目して検討を行った (図 6)。YAP/TAZ の過剰発現株を作成し、Simvastatin を投与したところ、PD-L1 の発現低下は阻害された。そこで、siRNA テクニックで YAP/TAZ を発現抑制すると、siYAP では PD-L1 の発現低下は認めなかったが、siTAZ ならびに siYAP/TAZ により PD-L1 の発現は低下した。このことより、Simvastatin による PD-L1 発現抑制は TAZ の発現低下を介して引き起こされていることが示唆された。さらに、C57BL/6 マウスにマウス膵癌細胞株 Panc-02 を皮下移植した in vivo model における検討では、Simvastatin を anti-PD-1 と併用することにより anti-PD-1 による腫瘍増大 (hyperprogressive disease) が抑制された (図 7)。

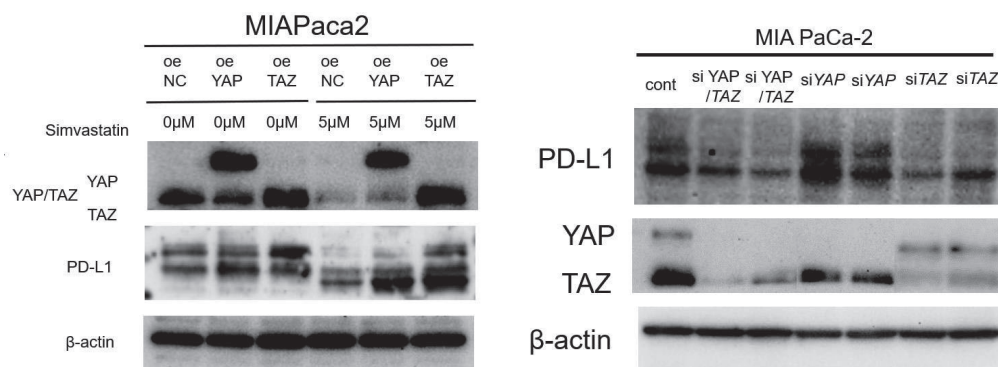


図 6 Simvastatin は TAZ の発現低下を介して PD-L1 の発現を抑制する

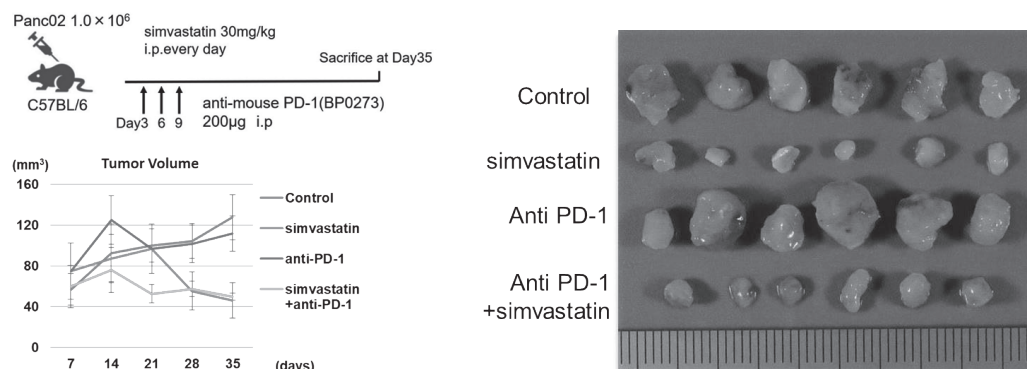


図 7 Simvastatin を anti-PD-1 と併用することにより anti-PD-1 による腫瘍増大 (hyperprogressive disease) を抑制する

## 考 察

スタチンは脂質異常症の第一選択薬であるが、Drug repositioning として悪性腫瘍に対する抗腫瘍効果が報告されている。申請者らはこれまでにスタチンの抗腫瘍効果に関して、肝細胞癌や大腸癌においてスタチン服用者は非服用者と比べて再発が少なく長期生存が得られること、そのメカニズムとしてがん抑制シグナルである Hippo-pathway を介した抗腫瘍効果やヒストンメチル基転移酵素を構成するタンパク質として知られる EZH2 を介した抗腫瘍効果について報告してきた<sup>7) 8)</sup>。本研究では、膵癌切除例におけるスタチン内服による予後改善効果をまず確認した。さらに in vitro での検討により、スタチンが JNK pathway の活性化を介して Hippo-pathway の構成成分であり癌促進因子である YAP/TAZ の発現を低下させること、ひいてはアポトーシスを伴う細胞増殖抑制効果を引き起こすこと、抗癌剤 (oxaliplatin) とスタチンの併用により細胞増殖抑制効果が増強されること、主に TAZ の発現低下によって腫瘍免疫抵抗性に寄与する PD-L1 の発現低下を引き起こすこと、などを同定した。同種移植マウスモデル (syngeneic model) においては、スタチン投与により有意に腫瘍縮小効果を認め、さらに免疫チェックポイント阻害剤との併用では臨床上的問題となる anti-PD-1 抗体による腫瘍増大 (hyperprogressive disease) を抑制する

が抑制された。スタチンの免疫チェックポイントに対する効果についてはこれまでに報告なく、スタチンによるPD-L1の発現変化における詳細な分子メカニズムの解明は、腫瘍免疫と代謝に関する新たな知見を与えるだけでなく、臨床的に新たな治療薬の開発に繋がる可能性を有している。現在、免疫チェックポイント阻害薬は癌治療の大きな柱になっており、さらに免疫チェックポイント阻害薬単独から、その他の薬剤との併用による複合的免疫治療の開発が進められており、膵癌でもスタチンと免疫チェックポイント阻害薬の併用は有効な複合的免疫治療となりえる可能性が示唆された。

本研究成果により、すでに他疾患において臨床使用されているスタチンのDrug repositioningにより、極めて予後不良な膵癌の集学的治療の開発と、速やかな臨床試験による検証、臨床応用が期待されるとともに今後の課題である。

## おわりに

本研究によって、難治癌である膵臓がんの分子生物学的理解が深まるとともに、スタチンのDrug repositioningによる新規治療ストラテジーの確立によって膵癌治療の進歩に貢献できることを期待いたします。

本研究にご理解をいただき多大なご支援をいただきましたがん集学的治療研究財団の皆様に深謝申し上げます。現在、本研究成果を国際誌に論文投稿中でありすことも最後にご報告させていただきます。

## 文 献

- 1) Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med.* **364**(19) : 1817-25, 2011 May 12.
- 2) Wu S, Huang J, Dong J, Pan D. hippo encodes a Ste-20 family protein kinase that restricts cell proliferation and promotes apoptosis in conjunction with salvador and warts. *Cell.* **114**(4) : 445-56, 2003 Aug 22.
- 3) Hayashi H, Uemura N, Zhao L, et al. Biological Significance of YAP/TAZ in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma. *Front Oncol.* **11** : 700315, 2021.
- 4) Hayashi H, Higashi T, Yokoyama N, et al. An Imbalance in TAZ and YAP Expression in Hepatocellular Carcinoma Confers Cancer Stem Cell-like Behaviors Contributing to Disease Progression. *Cancer Res.* **75**(22) : 4985-97, 2015 Nov 15.
- 5) Uchihara T, Miyake K, Yonemura A, et al. Extracellular Vesicles from Cancer-Associated Fibroblasts Containing Annexin A6 Induces FAK-YAP Activation by Stabilizing beta1 Integrin, Enhancing Drug Resistance. *Cancer Res.* **80**(16) : 3222-35, 2020 Aug 15.
- 6) Yarmolinsky J, Bull CJ, Vincent EE, et al. Association Between Genetically Proxied Inhibition of HMG-CoA Reductase and Epithelial Ovarian Cancer. *JAMA.* **323**(7) : 646-55, 2020 Feb 18.
- 7) Ishikawa S, Hayashi H, Kinoshita K, et al. Statins inhibit tumor progression via an enhancer of zeste homolog 2-mediated epigenetic alteration in colorectal cancer. *Int J Cancer.* **135**(11) : 2528-36, 2014 Dec 1.
- 8) Higashi T, Hayashi H, Kitano Y, et al. Statin attenuates cell proliferative ability via TAZ (WWTR1) in hepatocellular carcinoma. *Med Oncol.* **33**(11) : 123, 2016 Nov.
- 9) Xia Y, Xie Y, Yu Z, et al. The Mevalonate Pathway Is a Druggable Target for Vaccine Adjuvant Discovery. *Cell.* **175**(4) : 1059-73 e21, 2018 Nov 1.
- 10) Vieira-Silva S, Falony G, Belda E, et al. Statin therapy is associated with lower prevalence of gut microbiota dysbiosis. *Nature.* **581**(7808) : 310-5, 2020 May.



# 消化器癌微小環境における免疫細胞プロファイリングに基づく 革新的治療戦略開発

春木 孝一郎\*

**要旨** 近年、肝細胞癌における免疫チェックポイント阻害剤、血管新生阻害薬の複合免疫療法の進歩により、癌微小環境における免疫細胞の評価は予後だけでなく、治療効果予測などその重要性は高まっている。肝細胞癌では免疫細胞浸潤を抑制する Vessels Encapsulating Tumor Clusters (VETC) も報告されており、本研究では肝細胞癌における VETC 評価と免疫細胞プロファイリングを行い、肝細胞癌切除例において VETC が独立した再発、予後不良因子であることを示した。さらに肝細胞癌では腫瘍先進部および腫瘍中心部と比較して、CD8<sup>+</sup>細胞、CD163<sup>+</sup>細胞が多く存在し、VETC 形成では腫瘍中心部の CD8<sup>+</sup>細胞、CD163<sup>+</sup>細胞が有意に減少することを明らかにした。腫瘍先進部・中心部の CD8<sup>+</sup>細胞は単変量解析では予後と関係を認めしたが、多変量解析では独立した予後因子とはならなかった。今後さらに肝細胞癌微小環境研究を進めることで、癌微小環境の理解を促進し、VETC をターゲットとした新規治療戦略を構築することが期待される。

## はじめに

肝細胞癌は世界で第7位の主要な悪性腫瘍であり、癌死亡原因の2位を占める疾患である。再発や難治性の症例が多く、依然として予後不良な悪性腫瘍である。近年、肝細胞癌における治療はパラダイムシフトを迎えており、分子標的薬に加えて血管新生阻害薬と免疫チェックポイント阻害薬の複合免疫療法が治療の柱としての地位を確立した。複合免疫療法は癌微小環境をターゲットとした治療であり、その発展に伴い、肝細胞癌微小環境の解明は不可欠である。

肝細胞癌微小環境における Vessels Encapsulating Tumor Clusters (VETC) は、腫瘍を CD34 陽性の血管構築が取り囲む構造であり、EMT とは独立した転移機構に関係し<sup>1)</sup>、予後不良因子として報告された<sup>2)</sup>。一方で、VETC 形成は PD-L1 発現と関係しているという報告もあり<sup>3)</sup>、免疫細胞浸潤回避に寄与している可能性が示唆されている。本研究では、肝細胞癌微小環境における VETC 形成および免疫細胞浸潤の評価を行うことで、肝細胞癌微小環境の理解を促進し、VETC をターゲットとした新規治療戦略を構築することを目的とする。

## 対 象

本研究は東京慈恵会医科大学附属病院において2008年1月から2009年12月までに肝細胞癌に対する初回肝切除を施行した患者を対象とした後方視的研究であり、他の悪性疾患、術死、および術前治療により免疫組織化学染色による評価が困難であった症例を除外した229例を対象とした。患者は死亡もしくはフォロー終了まで観察された。本研究は東京慈恵会医科大学倫理委員会により承認された(承認番号#33-020)。

\*東京慈恵会医科大学 外科学講座 肝胆膵外科



## 方 法

### 1. CD34, CD8, CD163 免疫組織化学染色

ホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより4 $\mu$ mの厚さの切片を作成した。CD34, CD8はVENTANA BenchMark XT (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland) を用いて、脱パラフィン、抗原賦活化、下記抗体にて一次抗体反応、二次抗体反応、DAB発色およびヘマトキシリンによる核の染色までの一連の工程を行った。抗原賦活化はEDTAベースのCC1溶液(pH 8.5)の中で100 $^{\circ}$ C・60分間行った。一次抗体との反応時間は37 $^{\circ}$ C・32分間、二次抗体との反応時間は37 $^{\circ}$ C・8分間とした。その後はI-VIEW DABユニバーサルキット (Roche Diagnostics) を用いてDAB発色(LSAB法)までを行った。一次抗体は抗CD34抗体(clone MY10, Becton Dickinson, San Jose, CA, USA, 1:25), 抗CD8抗体(clone SP57, Roche, Basel, Switzerland, 1:1)を用いた。CD163はVENTANA Discovery Ultra (Roche Diagnostics), を用いて同様に行った。CC1溶液による抗原賦活化(95 $^{\circ}$ C・36分間), 一次抗体として抗CD163抗体(clone 10D6, Leica Biosystems, 1:200)との反応時間は37 $^{\circ}$ C・32分間、二次抗体(I-VIEW DABユニバーサルキット)との反応時間は37 $^{\circ}$ C・8分間とした。

### 2. VETC 評価およびCD8<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup> 細胞評価

40倍視野でCD34陽性の血管構造で腫瘍がクラスター状に取り込まれる構造が観察された症例をVETC陽性と定義した。CD8およびCD163の免疫組織化学染色を行ったスライドはLeica Aperio AT2 (Leica Biosystems, Nussloch, Germany) を用いて20xでスキャンし、デジタル化を行った。スキャンさ

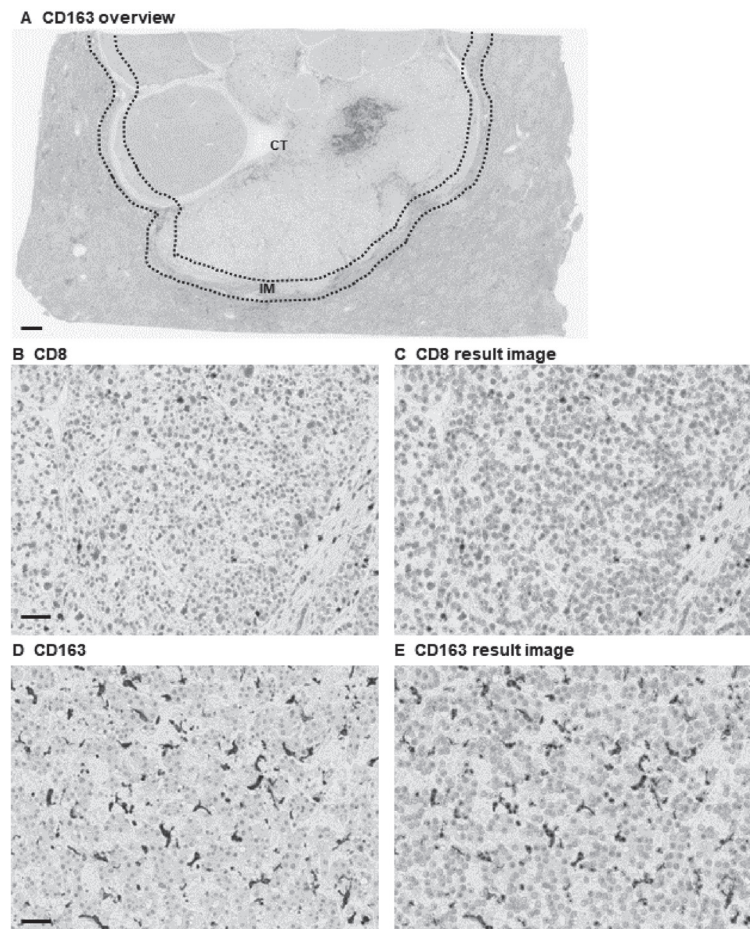


図1 QuPathを用いた解析

れたイメージはデジタル病理解析のオープンソースソフトウェアである QuPath v0.3.2<sup>4)</sup>を用いて病理医が陽性細胞の同定、カウントを行った。評価は腫瘍先進部 (invasive margin: IM) と腫瘍中心部 (tumor center: CT) に分けて行い、IM は腫瘍先進部から 1mm の範囲とした (図 1)。腫瘍先進部および腫瘍中心部それぞれの陽性細胞密度 (cell/mm<sup>2</sup>) を計算し、33% タイル値を用いて、Low, Intermediate, High の 3 群に分類した。

### 3. 統計解析

すべての統計解析は IBM<sup>®</sup> SPSS statistics version 25.0 (IBM Japan, Tokyo, Japan) を用いて行い、有意水準は  $\alpha=0.05$  とした。データは中央値、四分位範囲 (interquartile range: IQR)、比で表し、連続変数は Mann-Whitney U 検定、Wilcoxon の符号付き順位検定、カテゴリー変数はカイ 2 乗検定を行った。臨床病理学的因子と無再発生存、全生存の関係を COX 比例ハザードモデルを用いて検討し、多変量解析は変数減少法にて行った。生存曲線では Kaplan-Meier 法により累積生存割合を推定し、検定はログランク検定を行った。

## 成 績

### 1. 肝細胞癌切除例の臨床病理学的特徴

VETC 形成は 78 例 (34%) に見られた。CD8<sup>+</sup> 細胞は CT で 91 (IQR: 38-205) cells/mm<sup>2</sup>, IM で 235 (IQR: 140-388) cells/mm<sup>2</sup>, CD163<sup>+</sup> 細胞は CT で 507 (IQR: 295-814) cells/mm<sup>2</sup>, IM で 586 (IQR: 377-850) cells/mm<sup>2</sup> であり、いずれも IM で有意に多かった ( $p<0.001$ ,  $p=0.034$ ) (表 1)。

表 1 肝切除症例の臨床病理学的特徴

Variables	Median (IQR) or Ratio (%)
Age (years)	68 (61-75)
Gender	
Female	47 (21%)
Male	182 (79%)
HBsAg, positive	46 (20%)
HCVAb, positive	66 (29%)
ICG <sub>R15</sub> (%)	14 (9-21)
Child-Pugh grade	
Grade B	19 (8%)
Grade A	210 (92%)
Serum AFP (ng/ml)	8 (4-53)
Serum PIVKA-II level (mAU/ml)	65 (23-865)
Tumor differentiation	
Moderate/poor	186 (81%)
Well	43 (19%)
Tumor size (cm)	3.5 (2.2-5.8)
Tumor number	
Multiple	42 (18%)
Solitary	187 (82%)
Microvascular invasion, yes	41 (18%)
VETC, positive	78 (34%)
CD8 <sup>+</sup> CT (cells/mm <sup>2</sup> )	91 (38-205)
CD8 <sup>+</sup> IM (cells/mm <sup>2</sup> )	235 (140-388)
CD163 <sup>+</sup> CT (cells/mm <sup>2</sup> )	507 (295-814)
CD163 <sup>+</sup> IM (cells/mm <sup>2</sup> )	586 (377-850)

Abbreviations: AFP, alpha-fetoprotein; CT, tumor center; HBsAg, hepatitis B surface antigen; HCVAb, hepatitis C virus antibody; ICG<sub>R15</sub>, retention rate of indocyanine green at 15 min; IM, invasive margin; IQR, interquartile range; PIVKA-II, protein induced by vitamin K absence or antagonist-II; VETC, vessels encapsulating tumor clusters.

2. VETC 形成と免疫細胞浸潤, 臨床病理学的特徴

VETC 陽性では腫瘍中心部の CD8<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup> 細胞浸潤が有意に減少していた ( $p < 0.001$ ,  $p = 0.024$ )。腫瘍先進部の CD8<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup> 細胞浸潤は共に少ない傾向を認めた ( $p = 0.061$ ,  $p = 0.064$ ) (図 2)。

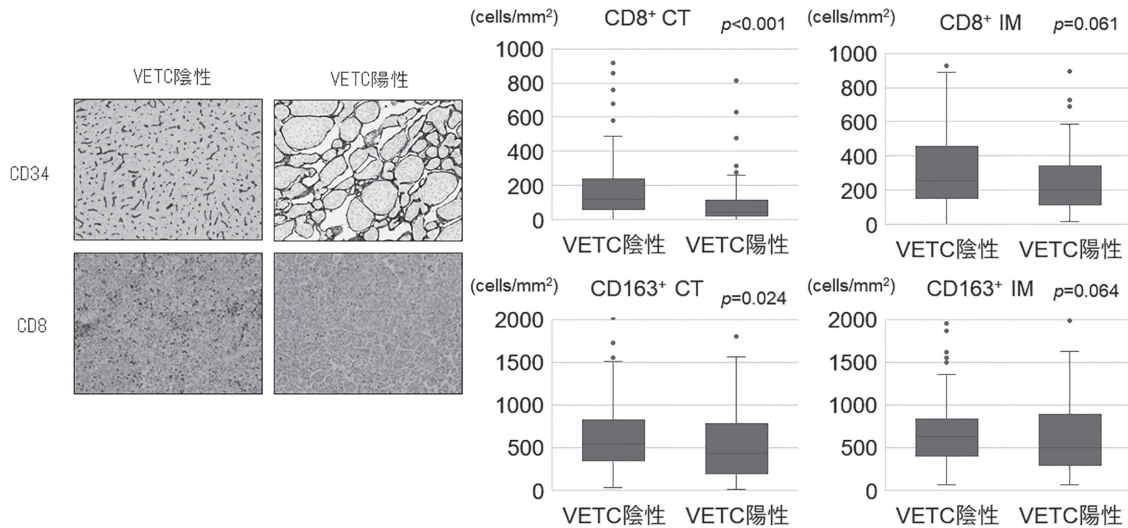


図 2 VETC 形成と免疫細胞浸潤

さらに VETC 陽性では陰性症例と比較し, PIVKA-II が高値で ( $p < 0.001$ ), 中・低分化癌が多く ( $p = 0.002$ ), 腫瘍径が大きく ( $p < 0.001$ ), 多発腫瘍が多く ( $p = 0.02$ ), 脈管侵襲が多かった ( $p < 0.001$ )。

表 2 VETC 形成の有無による臨床病理学的特徴

Variables	VETC		p-value
	Negative (n=151)	Positive (n=78)	
Age (years)	69 (61-74)	68 (60-76)	0.61
Gender			0.30
Female	34 (23%)	13 (17%)	
Male	117 (77%)	65 (83%)	
HBsAg, positive	33 (22%)	13 (17%)	0.35
HCVAb, positive	45 (30%)	21 (27%)	0.65
ICG <sub>15</sub> (%)	15 (9-21)	12 (9-20)	0.20
Child-Pugh grade			0.46
Grade B	14 (9%)	5 (6%)	
Grade A	137 (91%)	73 (94%)	
Serum AFP (ng/ml)	8 (4-43)	8 (4-90)	0.46
Serum PIVKA-II level (mAU/ml)	40 (20-320)	217 (34-1,677)	0.001
Tumor differentiation			0.002
Moderate / poor	114 (75%)	72 (92%)	
Well	37 (25%)	6 (8%)	
Tumor size (cm)	3.0 (2.0-5.0)	4.8 (3.0-7.5)	<0.001
Tumor number			0.02
Multiple	26 (17%)	16 (21%)	
Single	125 (83%)	62 (79%)	
Microvascular invasion, yes	16 (11%)	25 (32%)	<0.001
CD8 <sup>+</sup> CT (cells/mm <sup>2</sup> )	120 (65-238)	44 (22-118)	<0.001
CD8 <sup>+</sup> IM (cells/mm <sup>2</sup> )	259 (153-454)	203 (120-339)	0.061
CD163 <sup>+</sup> CT (cells/mm <sup>2</sup> )	545 (356-820)	435 (211-772)	0.024
CD163 <sup>+</sup> IM (cells/mm <sup>2</sup> )	633 (407-832)	499 (302-896)	0.064

Abbreviations: AFP, alpha-fetoprotein; CT, tumor center; HCC, hepatocellular carcinoma; HBV, hepatitis B virus; HCV, hepatitis C virus; ICG<sub>15</sub>, retention rate of indocyanine green at 15 min; IM, invasive margin; PIVKA-II, protein induced by vitamin K absence or antagonist-II; VETC, vessels encapsulating tumor clusters.

VETC は再発 ( $p=0.001$ ), 予後不良と有意に関係していた ( $p=0.001$ ) (図3)。 $CD8^+CT$  Low は再発 ( $p=0.037$ ), 予後不良 ( $p=0.017$ ) と,  $CD8^+IM$  Low は再発と有意に関係していた ( $p=0.007$ ) (図4)。一方で  $CD163^+$  は  $CT$ ,  $IM$  共に再発・予後と有意な関係は認めなかった ( $p>0.07$ ) (図5)。

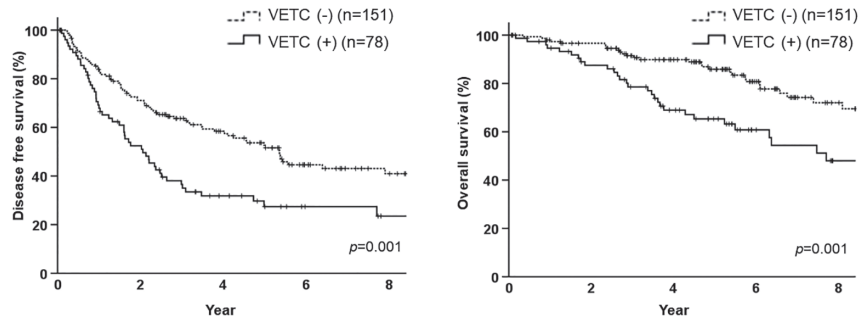


図3 VETC と予後

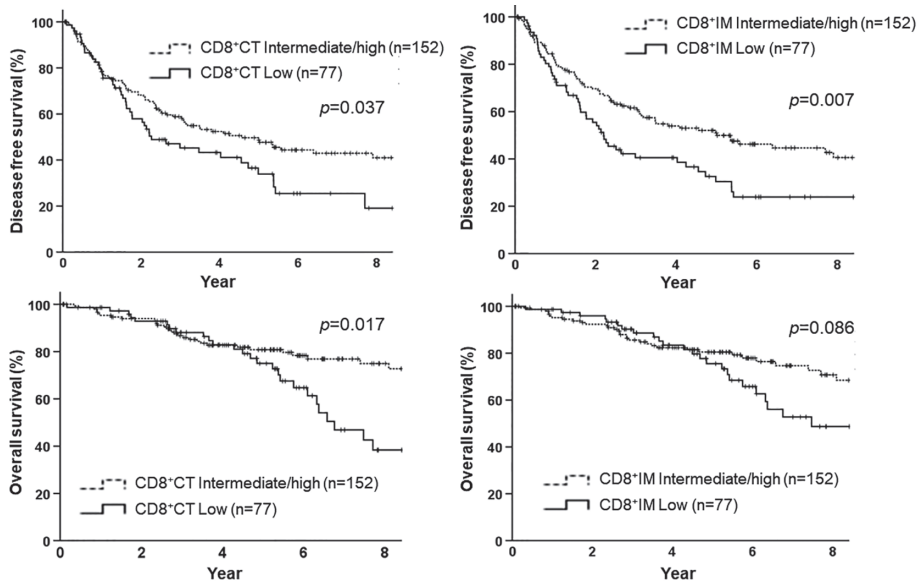


図4  $CD8^+CT$ ・ $IM$  と予後

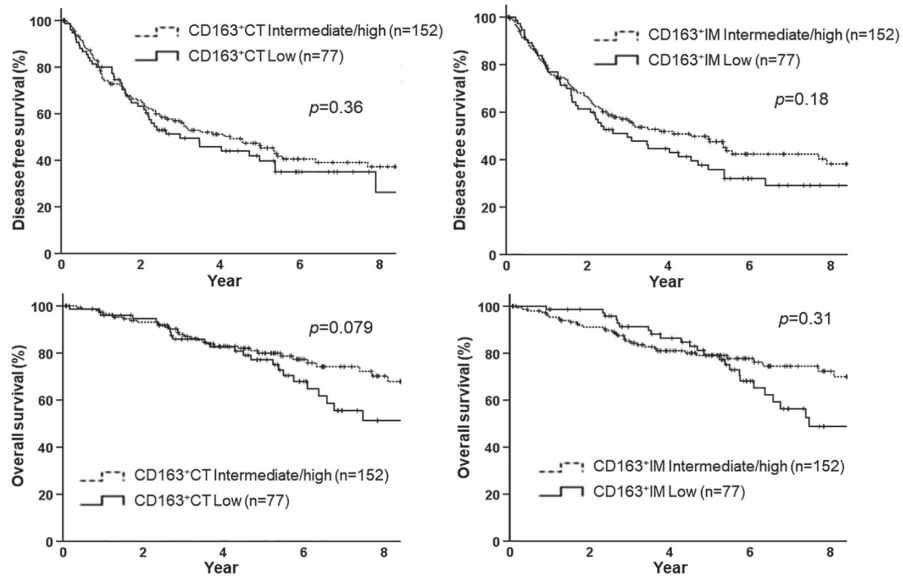


図5  $CD163^+CT$ ・ $IM$  と予後



### 3. 無再発生存に関わる因子の検討

単変量解析では性別 ( $p=0.006$ ), HBsAg ( $p=0.03$ ), PIVKA-II  $\geq 200$  mAU/ml ( $p=0.02$ ), 腫瘍径  $> 5$  cm ( $p=0.002$ ), 多発腫瘍 ( $p<0.001$ ), 脈管侵襲 ( $p=0.02$ ), VETC ( $p=0.001$ ), CD8<sup>+</sup>CT ( $p=0.004$ ), CD8<sup>+</sup>IM ( $p=0.008$ ) が有意な再発因子であった。多変量解析では性別 ( $p=0.002$ ), HBsAg ( $p=0.008$ ), AFP  $\geq 20$  ng/ml ( $p=0.001$ ), 多発腫瘍 ( $p<0.001$ ), VETC ( $p=0.02$ ) が独立した再発因子であった (表 3)。

表 3 無再発生存に関わる因子の検討

Variables	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR (95% CI)	<i>p</i> -value	HR (95% CI)	<i>p</i> -value*
Age $\geq 65$ years	1.17 (0.81-1.68)	0.42		NS
Gender, female	0.47 (0.27-0.80)	0.006	0.40 (0.22-0.71)	0.002
HBsAg, positive	0.59 (0.36-0.95)	0.03	0.51 (0.31-0.83)	0.008
HCVAb, positive	1.08 (0.90-1.31)	0.41		NS
ICG <sub>R15</sub> $\geq 15\%$	1.24 (0.87-1.75)	0.24		NS
Child-Pugh grade, grade B	1.04 (0.56-1.94)	0.89		NS
Serum AFP $\geq 20$ ng/ml	1.30 (0.91-1.86)	0.15	1.94 (1.31-2.89)	0.001
Serum PIVKA-II level $\geq 200$ mAU/ml	1.56 (1.09-2.23)	0.02		NS
Tumor differentiation, moderate/poor	1.27 (0.82-1.97)	0.28		NS
Tumor size, $> 5$ cm	1.80 (1.25-2.60)	0.002		NS
Tumor number, multiple	2.65 (1.79-3.92)	$<0.001$	2.75 (1.80-4.18)	$<0.001$
Microvascular invasion, yes	1.66 (1.08-2.56)	0.02		NS
VETC, positive	1.84 (1.29-2.62)	0.001	1.53 (1.06-2.22)	0.02
CD8 <sup>+</sup> CT, low	1.47 (1.02-2.12)	0.04		NS
CD8 <sup>+</sup> IM, low	1.63 (1.14-2.32)	0.008		NS
CD163 <sup>+</sup> CT, low	1.18 (0.82-1.70)	0.37		NS
CD163 <sup>+</sup> IM, low	1.28 (0.89-1.83)	0.19		NS

Abbreviations: AFP, alpha-fetoprotein; CI, confidence interval; CT, tumor center; HBsAg, hepatitis B surface antigen; HCV-Ab, hepatitis C virus antibody; HR, hazard ratio; ICG<sub>R15</sub>, retention rate of indocyanine green at 15 min; IM, invasive margin; VETC, vessels encapsulating tumor clusters.

### 4. 全生存に関わる因子の検討

単変量解析では HBsAg ( $p=0.02$ ), 低・中分化癌 ( $p=0.01$ ), 腫瘍径  $> 5$  cm ( $p=0.008$ ), 多発腫瘍 ( $p=0.007$ ), 脈管侵襲 ( $p=0.02$ ), VETC ( $p=0.001$ ), CD8<sup>+</sup>CT ( $p=0.02$ ) が有意な予後因子であった。

表 4 全生存に関わる因子の検討

Variables	Univariate analysis		Multivariate analysis	
	HR (95% CI)	<i>p</i> -value	HR (95% CI)	<i>p</i> -value*
Age $\geq 65$ years	1.25 (0.74-2.13)	0.40		NS
Gender, female	0.47 (0.20-1.10)	0.08		NS
HBsAg, positive	0.39 (0.18-0.85)	0.02	0.29 (0.13-0.69)	0.005
HCVAb, positive	1.23 (0.95-1.60)	0.12		NS
ICG <sub>R15</sub> $\geq 15\%$	1.43 (0.86-2.39)	0.17		NS
Child-Pugh grade, grade B	1.72 (0.82-3.63)	0.15		NS
Serum AFP $\geq 20$ ng/ml	1.51 (0.90-2.54)	0.11		NS
Serum PIVKA-II level $\geq 200$ mAU/ml	1.18 (0.70-1.99)	0.55		NS
Tumor differentiation, moderate/poor	3.30 (1.32-8.24)	0.01	2.97 (1.17-7.52)	0.02
Tumor size, $> 5$ cm	2.03 (1.21-3.40)	0.008		NS
Tumor number, multiple	2.14 (1.23-3.71)	0.007	1.91 (1.09-3.35)	0.02
Microvascular invasion, yes	1.77 (0.97-3.23)	0.06		NS
VETC, positive	2.31 (1.39-3.83)	0.001	1.78 (1.05-3.00)	0.03
CD8 <sup>+</sup> CT, low	1.86 (1.11-3.12)	0.02		NS
CD8 <sup>+</sup> IM, low	1.57 (0.94-2.63)	0.09		NS
CD163 <sup>+</sup> CT, low	1.58 (0.95-2.63)	0.08		NS
CD163 <sup>+</sup> IM, low	1.31 (0.78-2.19)	0.31		NS

Abbreviations: AFP, alpha-fetoprotein; CI, confidence interval; CT, tumor center; HBsAg, hepatitis B surface antigen; HCV-Ab, hepatitis C virus antibody; HR, hazard ratio; ICG<sub>R15</sub>, retention rate of indocyanine green at 15 min; IM, invasive margin; VETC, vessels encapsulating tumor clusters.



多変量解析では HBsAg ( $p=0.005$ ), 低・中分化癌 ( $p=0.02$ ), 多発腫瘍 ( $p=0.02$ ), VETC ( $p=0.03$ ) が独立した予後因子であった (表 4)。

## 5. VETC と免疫細胞浸潤と予後

VETC で層別化し,  $CD8^+CT$ ,  $CD8^+IM$ ,  $CD163^+CT$ ,  $CD163^+IM$  の無再発生存, 全生存との関係を解析した。VETC 陽性かつ  $CD8^+IM$  Low は再発と関係していた (図 6)。さらに VETC 陽性の症例の中では  $CD163^+IM$  Low は再発, 予後不良の傾向を認めた (図 7)。

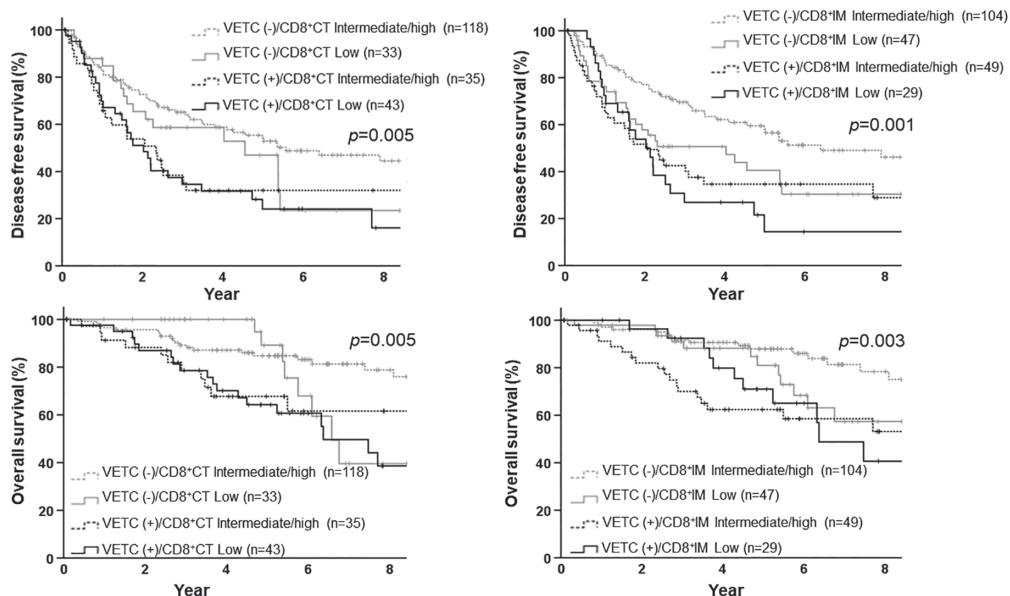


図 6 VETC/CD8 CT・IM と予後

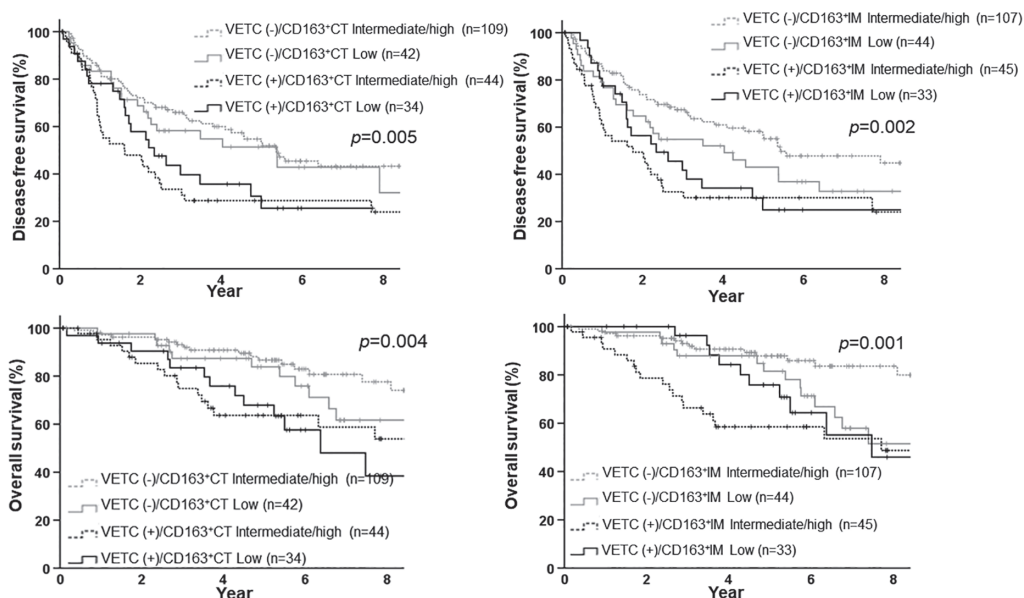


図 7 VETC/CD163 CT・IM と予後

## 考 按

本研究により, 肝細胞癌における VETC 形成は予後不良であることが確認され, さらに VETC 形成が免疫細胞の種類を問わず, 特に腫瘍中心部の免疫細胞浸潤を抑制している可能性が示唆された。肝細胞癌

では腫瘍先進部には腫瘍中心部より免疫細胞浸潤が多くみられ、腫瘍先進部の CD8<sup>+</sup> リンパ球は、腫瘍中心部よりも再発と関係している可能性が示唆されたが、いずれも独立した予後因子とはならなかった。さらに VETC 陽性例で腫瘍先進部の CD8<sup>+</sup> リンパ球の再発との関係が示唆された。また CD163<sup>+</sup> マクロファージは肝細胞癌全体においては予後良好の傾向を示したが、VETC 陽性例では予後不良を示した。これらの結果から、免疫細胞浸潤の意義は腫瘍先進部と中心部で異なる可能性が示唆され、さらに免疫細胞浸潤の抑制に働くと考えられる VETC をターゲットとした治療法の開発は、肝細胞癌における癌微小環境を改善し、免疫チェックポイント阻害剤の効果を向上させる可能性があると考えられた。

我々の結果では VETC 陽性肝細胞癌では PIVKA-II 高値、中・低分化癌、大きな腫瘍径、多発腫瘍、脈管侵襲と関係しており、臨床病理学的悪性度が高い腫瘍が多かった。過去の報告でも AFP 高値、低分化癌、腫瘍径、脈管侵襲と関係しており、矛盾しない結果であった<sup>2)</sup>。VETC 陽性肝細胞癌では内皮細胞に取り囲まれた腫瘍クラスターが、血行性に転移を来し生着する EMT を介さない機構による遠隔転移形成に関わり、予後不良であると報告されている<sup>1)</sup>。一方で、VETC 形成は PD-L1 発現と関係しており<sup>3)</sup>、免疫細胞の疲弊化および浸潤回避に寄与している可能性が報告されている。VETC と免疫細胞浸潤の関係に関しては、肝移植症例を用いた報告では VETC 陽性肝細胞癌で有意に CD3<sup>+</sup> 細胞浸潤が低下していた<sup>5)</sup>。これまでに免疫細胞浸潤の位置による検討はされていないため、本研究では腫瘍先進部と腫瘍中心部の免疫細胞浸潤に関して評価した。その結果、VETC 陽性肝細胞癌では腫瘍中心部で CD8<sup>+</sup> に加えて、M2 マクロファージである CD163<sup>+</sup> 細胞が有意に減少しており、腫瘍先進部では両細胞共に減少している傾向を認めた。この結果からは、VETC は腫瘍中心部への免疫細胞浸潤をブロックしている可能性が示唆された。VETC を形成する肝細胞癌の分子生物学的特徴を RNA シークエンスで検証した研究では VETC 陽性肝細胞癌では T 細胞受容体、B 細胞受容体、インターフェロン $\gamma$ 、インターフェロン $\alpha$  など免疫を賦活化するシグナルが抑制されていることが明らかとなっており<sup>6)</sup>、これらの修飾により VETC 陽性肝細胞癌の微小環境が改善する可能性がある。VETC 陽性肝細胞癌では FGFR が活性化していることも報告されており、FGFR を抑制するレンバチニブなどの分子標的薬は VETC に対する治療となりうると考えられている<sup>6)</sup>。

免疫チェックポイント阻害薬、複合免疫療法の発展に伴い、肝細胞癌における免疫微小環境の評価は注目を集めている。肝細胞癌の 25% に免疫細胞浸潤が豊富な “Immune class” が存在し、さらに Immune class は活性型と疲弊型に分類され、疲弊型は TGF- $\beta$  シグナルとの関係が示唆されており<sup>7)</sup>、同サブタイプに対しては抗 PD-L1 抗体による治療の有効性が期待される。さらに  $\beta$  カテニンシグナルは免疫回避を誘導し、抗 PD-1 抗体治療に対して抵抗性を示すことが報告されている<sup>8)</sup>。免疫細胞と血管新生をもとにした肝細胞癌のサブクラス分類では免疫細胞浸潤が少なく、血管新生が多いサブタイプが VETC、VETC が多いとされる病理学的所見である macrotrabecular-massive パターンと関係していると報告されており、免疫細胞のみでなく、血管新生も含めた癌微小環境の解析の重要性が示唆されている<sup>9)</sup>。今後は肝細胞癌の網羅的解析で明らかとなった TP53 や  $\beta$  カテニンを中心とした遺伝子変異による分子サブタイプ<sup>10)</sup> に加えて、癌微小環境での免疫細胞浸潤、腫瘍血管新生を含めた包括的解析の重要性が増しており、今後の検討として多重蛍光免疫組織染色による免疫細胞同士の相互作用、さらに Omics 解析により分子サブタイプとの関連の研究を進めていき、肝細胞癌微小環境のさらなる解明と共に VETC を標的とした新規治療戦略の構築を目指した検討をする予定である。

## おわりに

本研究では肝細胞癌における VETC の臨床的意義および腫瘍先進部、腫瘍中心部の CD8<sup>+</sup>、CD163<sup>+</sup> 細胞浸潤パターンと VETC との関係性を明らかにした。今後の研究により VETC をターゲットとした微小環境に対する新規治療戦略構築を目指したい。

## 文 献

- 1) Fang JH, Zhou HC, Zhang C, et al. A novel vascular pattern promotes metastasis of hepatocellular carcinoma in an epithelial-mesenchymal transition-independent manner. *Hepatology* **62**: 452-65, 2015.
- 2) Renne SL, Woo HY, Allegra S, et al. Vessels Encapsulating Tumor Clusters (VETC) Is a Powerful Predictor of Aggressive Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology* **71**: 183-95, 2020.
- 3) Itoh S, Yoshizumi T, Yugawa K, et al. Impact of Immune Response on Outcomes in Hepatocellular Carcinoma: Association With Vascular Formation. *Hepatology* **72**: 1987-99, 2020.
- 4) Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep* **7**: 16878, 2017.
- 5) Kawasaki J, Toshima T, Yoshizumi T, et al. Prognostic Impact of Vessels that Encapsulate Tumor Cluster (VETC) in Patients who Underwent Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. *Ann Surg Oncol* **28**: 8186-95, 2021.
- 6) Zhang P, Ono A, Fujii Y, et al. The presence of vessels encapsulating tumor clusters is associated with an immunosuppressive tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* **151**: 2278-90, 2022.
- 7) Sia D, Jiao Y, Martinez-Quetglas I, et al. Identification of an Immune-specific Class of Hepatocellular Carcinoma, Based on Molecular Features. *Gastroenterology* **153**: 812-26, 2017.
- 8) Ruiz de Galarreta M, Bresnahan E, Molina-Sánchez P, et al.  $\beta$ -Catenin Activation Promotes Immune Escape and Resistance to Anti-PD-1 Therapy in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Discov* **9**: 1124-41, 2019.
- 9) Kurebayashi Y, Ojima H, Tsujikawa H, et al. Landscape of immune microenvironment in hepatocellular carcinoma and its additional impact on histological and molecular classification. *Hepatology* **68**: 1025-41, 2018.
- 10) Shimada S, Mogushi K, Akiyama Y, et al. Comprehensive molecular and immunological characterization of hepatocellular carcinoma. *EBioMedicine* **40**: 457-70, 2019.

# 食道癌集学的治療における骨格筋量低下に対する 必須アミノ酸 $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate の有用性

山本 美穂\*

**要旨** 骨格筋量の低下は悪性腫瘍において独立した予後因子であるとされている。 $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) は、必須アミノ酸であるロイシンの代謝産物であり、強力な筋蛋白合成作用を有している。本研究では食道扁平上皮癌の悪液質における骨格筋量減少に対する HMB の効果を明らかにすることを目的とし、食道扁平上皮癌悪液質マウスモデルに HMB の投与を行い、骨格筋量の維持・増加に関する効果の検証を行った。食道扁平上皮癌移植マウスに HMB を投与した群は、蒸留水を投与した群に比べて、握力と腓腹筋重量が有意に高値であった。HMB 投与群の握力と腓腹筋重量は、非移植群に比較し有意差を認めなかった。食道扁平上皮癌移植マウスに HMB を投与すると、非移植群と同等に握力や腓腹筋重量が維持されると考えられた。食道癌患者に対する HMB の投与は骨格筋維持に有効である可能性が示唆された。

## はじめに

骨格筋量の低下は悪性腫瘍において独立した予後因子であるとされている<sup>1)</sup>。悪性腫瘍における悪液質は、腫瘍の炎症に起因し、骨格筋量低下の原因となる。食道癌は、浸潤性の増殖と急速な腫瘍増大を示す予後不良の疾患である。食道癌の予後改善のために骨格筋量を維持・増加することは重要な課題である。 $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) は、必須アミノ酸であるロイシンの代謝産物であり、非常に強力な筋蛋白合成作用を有している。悪液質を伴う食道癌患者の骨格筋減少に対する HMB の効果は明らかとなっていない。本研究では、食道扁平上皮癌の悪液質における骨格筋量減少に対する HMB の効果を明らかにすることを目的とし、食道扁平上皮癌悪液質マウスモデルに HMB の投与を行い、骨格筋量の維持・増加に関する効果の検証を行った。

## 方 法

9週齢のヌードマウス 10匹の皮下に食道扁平上皮癌細胞 (TE-8) を  $5 \times 10^6$ /body 移植し、食道扁平上皮癌マウスモデルを作製した。この食道扁平上皮癌移植マウス 10匹に非移植マウス 3匹を加え、13匹のマウスを対象とした。これを① 非移植群 (3匹)、② 蒸留水投与群 (食道扁平上皮癌モデルマウスに 200 $\mu$ l の蒸留水を週 5 日投与 : 5 匹)、③ HMB 投与群 (食道扁平上皮癌モデルマウスに HMB 50mg/kg を 200 $\mu$ l の蒸留水で溶解し週 5 日投与 : 5 匹) の 3 群に分類した。観察期間は 44 日とし、体重と四肢の握力、腫瘍径 (長径  $\times$  短径<sup>2</sup>/2) を 7 日毎に測定した。握力測定にはマウス用握力測定装置を用いた。HMB は移植 1 時間前から経口投与を開始し、1 日 1 回、週 5 日投与 2 日休薬とし、44 日目まで投与を行った。最終投与後に、体重、握力、腫瘍径の測定を行った後に犠死させ、骨格筋組織 (両側腓腹筋) を摘出し重量を測定した。2 群間の比較においては t 検定またはマンホイットニーの U 検定を行い、多群間の比較においては分散分析、多重比較 (Tukey 法) を行った。体重、握力は反復測定による解析を行った。

\* 東海大学医学部 消化器外科



## 成 績

12匹のマウスは予定観察期間である44日目に犠死させ、採材を行った。HMB投与群の1匹のマウスは、腫瘍の自壊により43日目に死亡したため、43日目の体重・握力測定と44日目の採材を行うことができなかった。

移植前のマウスの状態を図1に示す。移植前の体重、握力は3群間で差を認めなかった（体重： $P=0.22$ ，握力： $P=0.76$ ）。腫瘍量の変化は、食道扁平上皮癌移植マウスである蒸留水投与群、HMB投与群の2群間において有意差を認めなかった（図2a、 $P=0.33$ ）。44日目の採材時の腫瘍の重量は、蒸留水投与群、HMB投与群の2群間において有意差を認めなかった（図2b、 $P=0.42$ ）。

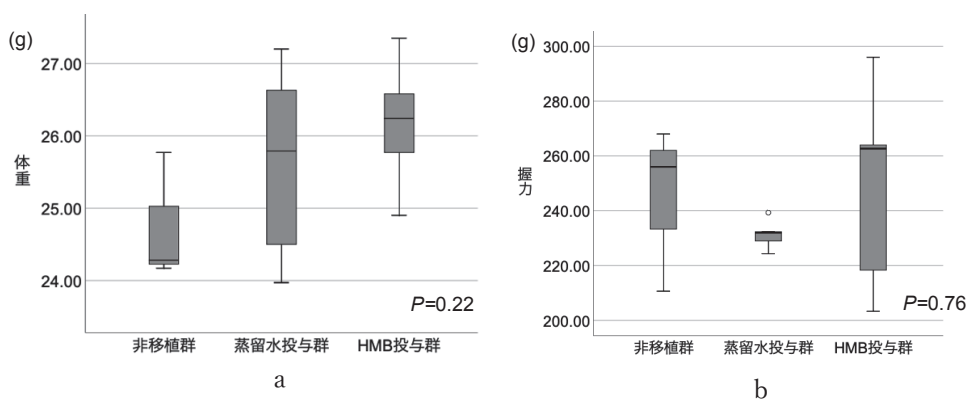


図1 移植前マウスの状態. a: 体重, b: 握力

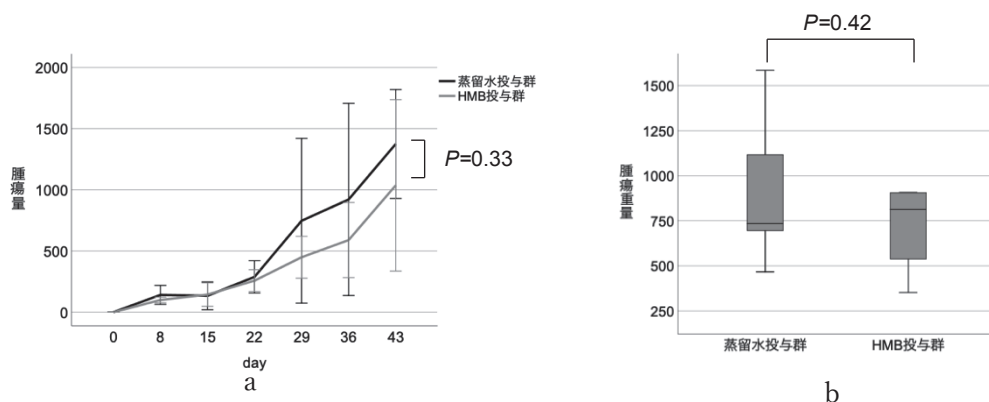


図2 腫瘍量. a: 腫瘍量の変化, b: 腫瘍重量 (採材時)

マウスの体重は、観察期間の後半において食道扁平上皮癌移植マウスで減少し、非移植群で維持される傾向があったが、統計学的な有意差を認めなかった（図3. 非移植群 vs 蒸留水投与群： $P=1.0$ ，非移植群 vs HMB投与群： $P=0.61$ ，蒸留水投与群 vs HMB投与群： $P=0.52$ ）。握力の変化を図4に示す。握力において、HMB投与群は蒸留水投与群に比べ有意に高値であった（ $P<0.01$ ）。また非移植群の握力は蒸留水投与群に比べて有意に高値であった（ $P=0.01$ ）。HMB投与群と非移植群の握力は有意差を認めなかった（ $P=0.99$ ）。マウス握力測定時の体重の影響を考慮し、握力を体重で標準化し検討を行った（図5）。体重で標準化した握力において、HMB投与群は蒸留水投与群に比べ有意に高値であった（ $P=0.03$ ）。HMB投与群と非移植群、非移植群と蒸留水投与群の握力は有意差を認めなかった（HMB投与群 vs 非移植群： $P=0.94$ ，非移植群 vs 蒸留水投与群： $P=0.08$ ）。腓腹筋重量は、HMB投与群は蒸留水投与群に比べて有意に高値であった（ $P=0.05$ ）。体重における腓腹筋重量の割合は、HMB群は蒸留水投与群に比べ、有意に高値であった（図6、 $P<0.01$ ）。



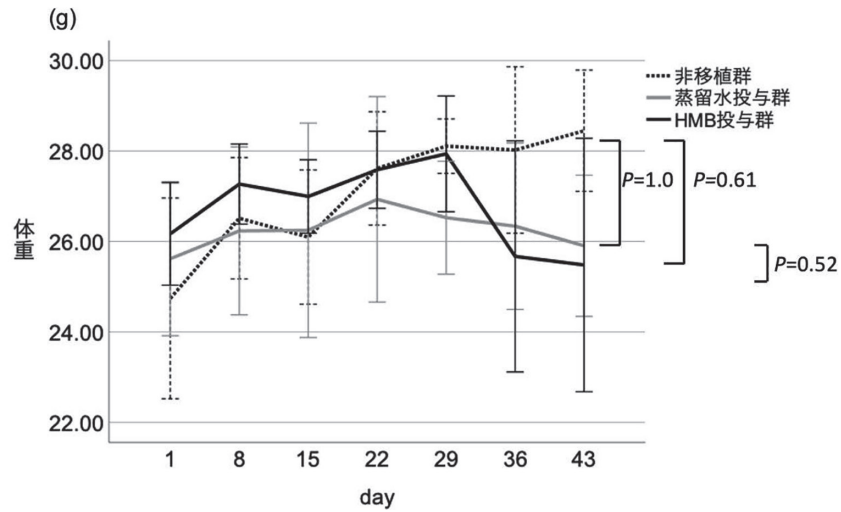


図3 体重の変化

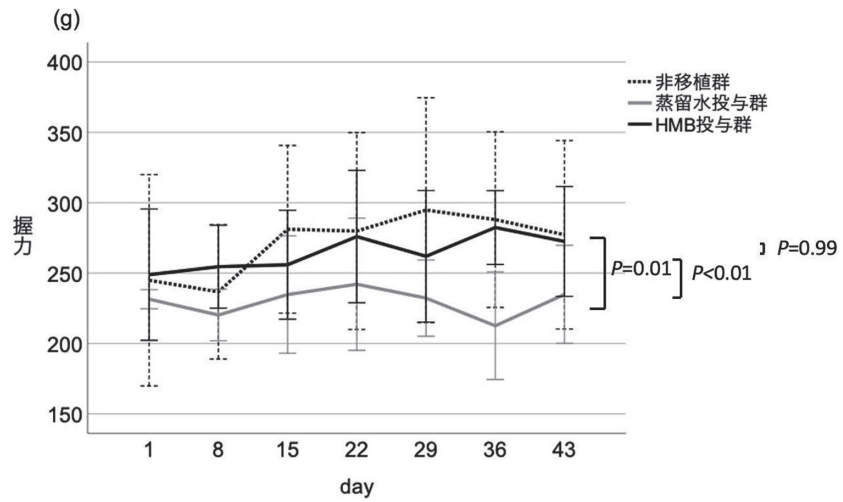


図4 握力の変化

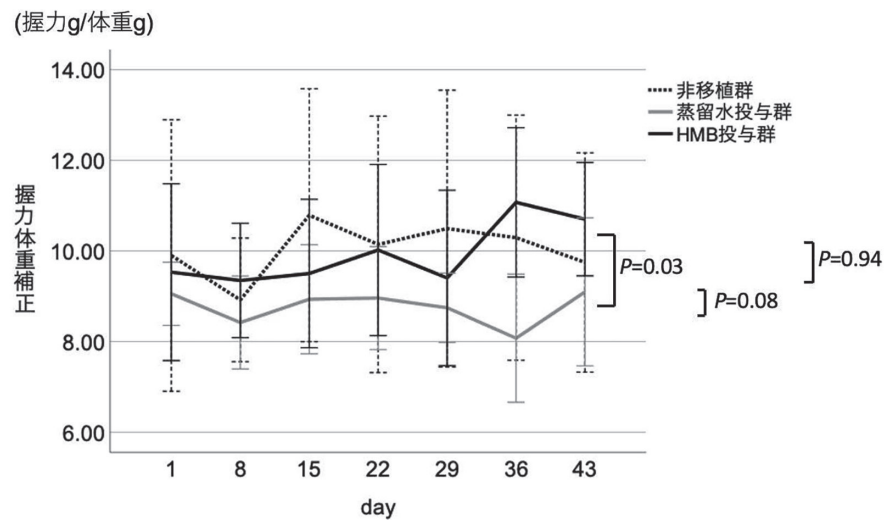


図5 握力の変化 (体重補正)

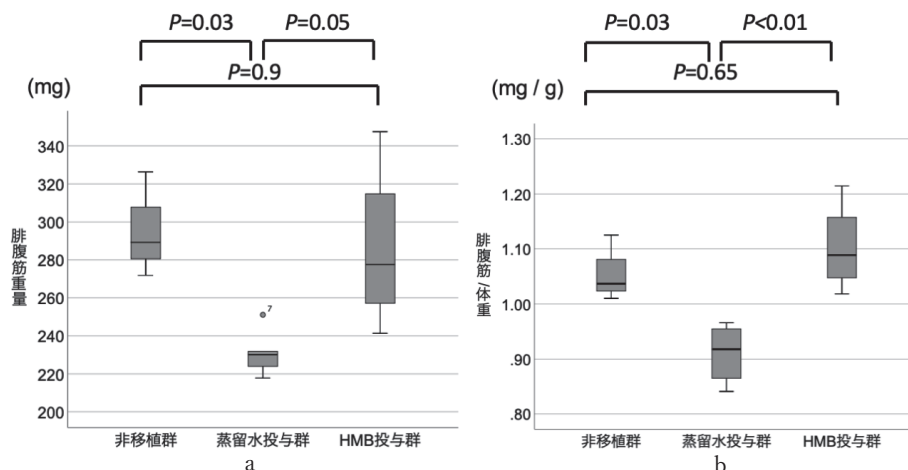


図6 腓腹筋の状態. a: 腓腹筋重量, b: 腓腹筋体重補正 (腓腹筋/体重)

## 考 按

今回の検討において、食道扁平上皮癌移植マウスに HMB を投与した群は、蒸留水を投与した群に比べて、有意に握力が高値であった。また、採材時の腓腹筋重量や体重における腓腹筋重量の割合は、HMB 投与群は蒸留水投与群に比べて有意に高値であった。HMB 投与群の握力と腓腹筋重量は、非移植群に比較し有意差を認めなかった。食道扁平上皮癌移植マウスに HMB を投与すると、非移植群と同等に握力や腓腹筋重量が維持されたと考えられた。

近年、骨格筋量低下や身体能力低下を意味するサルコペニアが注目されている。サルコペニアの原因の一つが、がん悪液質である。悪性腫瘍患者は、全身性・局所性の炎症が亢進した状況にあり、代謝異常による蛋白質およびエネルギーの減少が認められ、この状態が悪液質である<sup>2)</sup>。悪液質は著明な骨格筋減少を来す。骨格筋量低下、サルコペニアの進行は悪性腫瘍患者の独立した予後因子であるという報告は多い<sup>1)</sup>。

食道癌は、浸潤性の増殖と急速な腫瘍増大を示す悪性度の高い腫瘍である。表在食道癌手術患者においては、サルコペニア患者は非サルコペニア患者に比べて予後不良と報告されている<sup>3)</sup>。食道癌の術前化学療法中に骨格筋量は有意に減少し、術前化学療法を終了した手術前に骨格筋量が低下している症例は、全生存率・無再発生存率ともに予後不良である<sup>4)</sup>。食道癌患者は経口摂取不良、活動性低下、治療の侵襲など複合的な要因で、骨格筋減少が進むと考えられる。手術、化学療法、化学放射線療法など、食道癌の集学的治療は侵襲が大きく、骨格筋減少の原因となっている。本研究では、骨格筋減少の原因として、全身性・局所性の炎症から生じる悪液質に着目した。結果において、食道扁平上皮癌移植マウスは非移植群のマウスに比べて体重が減少する傾向にあり、また蒸留水を投与した食道扁平上皮癌移植マウスは腓腹筋重量の著明な減少を認めていたため、悪液質による骨格筋減少が進んでいたと考えられる。HMB を投与した食道扁平上皮癌モデルマウスは非移植群と同等に握力や腓腹筋重量が維持されていたことから、食道扁平上皮癌モデルにおける悪液質による骨格筋減少に対し、HMB が有用である可能性が示唆された。

骨格筋は絶えず蛋白の異化と同化を行う組織である。正常な筋蛋白の代謝には、アミノ酸、とくに必須アミノ酸の供給が不可欠である。必須アミノ酸や運動は筋細胞に直接働いて蛋白合成を刺激する。その中でも分枝鎖アミノ酸であるロイシンは最も強力な蛋白合成作用を持っており、mTOR 経路を通じて、筋蛋白の合成を促す<sup>5)</sup>。悪液質による侵襲下では、炎症性サイトカインにより mTOR 経路の不活性化が生じ、骨格筋合成が低下する。また、筋蛋白分解系であるユビキチンプロテアソーム経路、オートファジー経路、アポトーシス経路が亢進するため骨格筋蛋白の分解が進む<sup>6)</sup>。 $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate (HMB) は、ロイシンの代謝産物で、摂取したロイシンの約 5% が HMB に代謝される。HMB は非常に強力な筋蛋白合成作用を有しており、その作用はロイシンよりも強いとされている<sup>7)</sup>。HMB は、mTOR 経路の活

性化（筋蛋白同化促進）、成長ホルモン・Insulin like growth factor-1 増加（筋蛋白同化促進、分解抑制）、コレステロール合成促進（組織修復亢進）、筋衛星細胞の増殖促進（筋再生亢進）、筋小胞体から Ca の放出亢進、オートファジー活性の抑制、過剰な炎症反応の抑制などの作用があり、骨格筋減少の抑制に有効と考えられる<sup>8)</sup>。しかし、食道癌患者の悪液質に伴う骨格筋減少に対する HMB の効果は未だ明らかとなっていない。今回の結果は、悪液質の状態にある食道扁平上皮癌マウスに対する HMB の有効性が示唆され、臨床応用への根拠となり得ると考えられる。

今回 HMB を投与した 1 匹のマウスにおいて、皮下に移植した腫瘍が自壊し、43 日目に死亡したため最終の体重・握力の測定と採材を行うことができなかった。衰弱していく悪液質モデルにおいて、評価のタイミングを図ることは困難であり、本研究の limitation と考えられる。全 13 匹のマウスの体重・握力の測定が可能であった、36 日目までの測定値で解析しても、握力は HMB 投与群が蒸留水投与群に比べて有意に高値であったため、腫瘍による悪液質が進行する時期において HMB の投与が有効である可能性が示唆された。今後は摘出した腓腹筋組織における蛋白分析を行い、骨格筋細胞におけるシグナル伝達などさらなる検討をすすめていく必要があると考えられる。

HMB はサプリメントとして市販されている。HMB は必須アミノ酸であるロイシンの代謝産物であり、蛋白質が多い食品に含まれるが、食品から経口摂取できるのは非常に微量である。HMB のサプリメントは、簡便かつ安全に多くの悪性腫瘍患者において応用可能であることから、非常に汎用性の高い支持療法となり得る。HMB 投与により骨格筋量が維持することが可能であれば、多くの癌サーバイバーの日常生活を改善し、社会機能を維持することに貢献できる可能性があると考えられる。

## おわりに

食道扁平上皮癌移植マウスに HMB を投与すると、非移植群と同等に握力や腓腹筋重量が維持されると考えられた。侵襲の大きい食道癌の集学的治療における骨格筋低下に対し、HMB の投与が有効である可能性が示唆された。

## 文 献

- 1) Harada K, Ida S, Baba Y, et al : Prognostic and clinical impact of sarcopenia in esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* **29** : 627-63, 2016.
- 2) Argiles JM, Anker SD, Evans WJ et al : Consensus on cachexia definitions. *J Am Med Dir Assoc* **11** : 229-30, 2010.
- 3) Oguma J, Ozawa S, Kazuno A et al : Prognostic significance of sarcopenia in patients undergoing esophagectomy for superficial esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* **32** : doy104, 2019.
- 4) Yamamoto M, Ozawa S, Koyanagi K et al : Usefulness of skeletal muscle measurement by computed tomography imaging in patients with esophageal cancer: Changes in skeletal muscle mass due to neoadjuvant therapy and effect on prognosis. *Surg Today*. in press 2022.
- 5) Matsui Y, Takayanagi S, Ohira T et al : Effect of a leucine-enriched essential amino acids mixture on muscle recovery. *J Phys Ther Sci*. **31** : 95-101, 2019.
- 6) 大野 雄康, 斎藤 雅史, 藤浪 好寿・他 : 【重症患者の長期予後を見据えた栄養療法と運動療法】 侵襲下における骨格筋タンパク質の異化と同化, および骨格筋新生. *外科と代謝・栄* **54** : 139-42, 2020.
- 7) Wilkinson DJ, Hossain T, Hill DS et al : Effects of leucine and its metabolite  $\beta$ -hydroxy- $\beta$ -methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism : *J Physiol*. **591** : 2911-23, 2013.
- 8) Holeček M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions: *J cachexia sarcopenia and muscle*. **8** : 529-41, 2017.

# Radiomics と AI を用いた早期肺がんの 非侵襲的バイオマーカーの開発

橋本 浩平\*

**要旨** 近年肺がんの術前治療の効果が検証されているが、治療効果予測バイオマーカーの検出には侵襲的な検査を要する。画像特徴量から上皮成長因子受容体 (EGFR) 変異の検出が可能か検証した。根治的肺切除術を受けた c-stage I / II 肺腺癌を対象とした。術前の胸部 CT を用い、腫瘍、腫瘍縁、腫瘍外領域から計 3951 の radiomics 特徴量を抽出した。EGFR 変異を検出するため機械学習ベースの radiomics モデルを構築した。複合モデルとして radiomics 特徴量と臨床特徴量を組み込みこんだ。クロスバリデーションで検証し AUC で評価した。99 例中手術検体の EGFR 変異は 46 例 (46.5%) に検出された。各検証セッションで 4 つの (中央値) radiomics 特徴量が選択された。radiomics モデルと複合モデルにおける平均 AUC はそれぞれ 0.75 と 0.83 であった。複合モデルにおける上位 2 つの特徴量は、腫瘍外と腫瘍から抽出された radiomics 特徴量であり臨床特徴量と比した影響の大きさが示唆された。この非侵襲的な画像ベースの技術は、将来の術前治療の指針になる可能性がある。

## はじめに

分子標的療法と免疫療法は、進行期肺がんの治療を著しく改善させ、一次治療として定着した<sup>1)</sup>。これらの治療は、治療効果予測バイオマーカーに基づいて選択される (precision medicine)。近年では、未だ治療成績に改善の余地のある早期肺がんに対する術前分子標的療法／免疫療法の効果が検証されている<sup>2) 3)</sup>。現在、治療効果予測バイオマーカーとしての遺伝子変異 (Epidermal growth factor receptor: EGFR 変異など) と免疫マーカー (Programmed death-ligand 1: PD-L1 など) の検出には、生検や手術など侵襲的な検査を要する。しかしながら、手術の対象となる早期肺がんでは、生検のアクセスが困難であることも多く、解析に耐うる十分量の生検検体が得られないことも稀ではない。さらに生検には合併症を伴う<sup>4)</sup>。従って、治療効果予測バイオマーカーに基づいて術前補助療法の選択が行われるようになる近未来で、非侵襲的なバイオマーカーの価値は高い。Radiomics は画像検査から多系統の特徴量を定量的に抽出し臨床情報と結びつける新しい手法である<sup>5)</sup>。本研究は、肺癌患者の CT 画像を用いた radiomics 特徴量から、機械学習モデル (artificial intelligence : AI の一手法) を用いて、非侵襲的な治療効果予測バイオマーカーの開発する事を目的とした。

## 対象と方法

### I. 対象

本後方視研究は、2016 年 3 月から 12 月までに治癒目的の肺切除術を受けた c-stage I / II 肺腺癌の連続する症例を対象とした。EGFR 遺伝子変異は、パラフィン包埋手術検体からエクソン 18, 19, 20, 21 を標的とした PCR キット (cobas<sup>®</sup> EGFR Mutation Test v2, Roche, Basel, Switzerland) を用いて解析した。倫理申請の承認を受け、同意書は後方視のため免除された。(2021-GA-1064)

\* 公益財団法人がん研究会がん研有明病院 呼吸器センター外科



## II. セグメンテーション

術前の胸部造影CTアキシャル画像（肺野表示，厚さ1.25mm）において，Eclipseソフトウェア ver. 8.6 or ver. 10.0（Varian Medical Systems, Palo Alto, CA）を用いて原発巣を含むスライスに分割した。腫瘍（腫瘍境界内），腫瘍縁（腫瘍境界から±3mm以内），腫瘍外（腫瘍外から腫瘍境界までの+10mm）を領域として定義した（図1）。腫瘍縁と腫瘍外の境界は，ソフトウェアの自動化機能を用いて算出した。

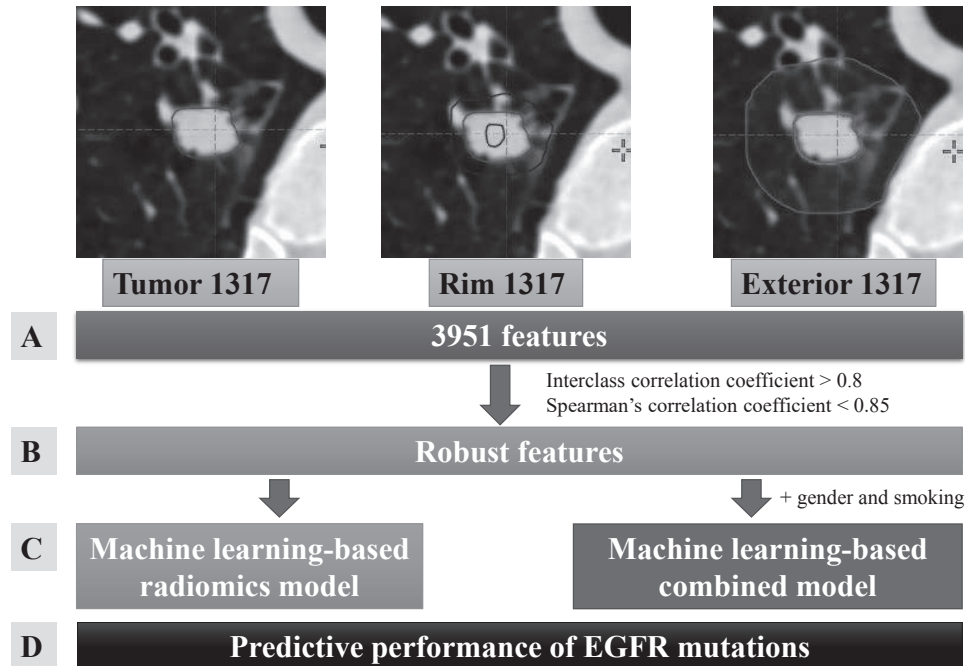


図1 研究デザイン

## III. radiomics 特徴量抽出

特徴抽出の前に，すべてのCT画像は3次元特徴を計算するためにB-splinesを用いて $1 \times 1 \times 1 \text{mm}^3$ の等方性グリッドに再サンプリングされた。CT画像の変換にはLoG（Laplacian of Gaussian）フィルタ（ $\sigma=0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5\text{mm}$ ）およびレベルごとに8分解（HHH, HHL, HLH, HLL, LHH, LHL, LLH, LLL）のウェーブレットフィルタが使用された。PyRadiomics version 3.0x.<sup>6)</sup>を用い，各領域から108個のオリジナルの特徴量（first-order statistics,  $N=18$ ; shape,  $N=15$ ; texture,  $N=75$ ）1209個のフィルター特徴（LoG,  $N=465$ , ウェーブレット,  $N=744$ ）の合計3951個のradiomics特徴（ $N=1317 \times 3$ ）が抽出された。

## IV. 特徴量の選択とモデルの構築

2人の医師間で算出したクラス間相関係数（ICC）が0.8以上を再現性の高い特徴とみなした。重複した特徴を排除するため，2つの組み合わせの特徴間のスピアマンの相関係数（SCC）を算出し，SCCが0.85以上の特徴を除外した。モデル構築の前に，各特徴はZスコアを用いて標準化された。EGFR変異を検出するために，機械学習ベースのradiomicsモデル（特徴選択にはBorutaアルゴリズム，予測にはRandom Forestを使用）が構築された。この複合モデルには，臨床的特徴（性別と喫煙歴）だけでなく，radiomics特徴量の両方が組み込まれている。性別と喫煙歴は，臨床的に検証されたEGFR変異の予測因子であるため選択された<sup>7)</sup>。本研究におけるその他の臨床変数は，over fittingを避けるために含まなかった。



## V. モデルの性能評価と統計解析

性能の検証は 5-fold cross-validation で行い、予測モデルの評価には Area Under the curve (AUC) を使用した。臨床特性の比較は、連続変数とカテゴリ変数について、それぞれ t 検定または Mann-Whitney 検定、Fisher's exact 検定を用い、実施した。AUC の比較は Delong の検定を用いて行った。統計解析は R ソフトウェアと GraphPad Prism version 8 (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) を用いて実施した。すべての P 値は両側であり、 $P < .05$  は統計的に有意であるとみなした。

## 結 果

### 患者の臨床的特徴

本研究では 99 名の患者を登録した。患者の特徴を表 1 にまとめた。手術検体中の EGFR 変異は 46 例 (46.5%) で検出された。野生型と比較して、EGFR 変異を有する患者は、女性が有意に多く、喫煙歴 (現在または過去) が少なかった。さらに、組織のサブタイプにも群間で有意差が存在した ( $P=0.005$ )。手術の様式やリンパ節転移の状態については、両群間に有意差はなかった。EGFR 変異患者のうち、26 名 (54.2%) が exon 21 L858R を、19 名 (39.5%) が exon 19 deletions を、1 名 (2.1%) が uncommon mutation として exon 21 L861Q を呈した。exon 21 L858R 変異を有する患者 26 名のうち、2 名 (4.2%) は de novo exon 20 T790M も有していた。

表 1

Variables	Total (n=99)	EGFR wild (n=53)	EGFR mutation (n=46)	P value
Age (y)	66 ± 11	67 ± 10	63 ± 11	.06
Gender: Female (%)	65 (66.7)	29 (54.7)	36 (78.2)	.02
Smoking: Yes (%)	41 (41.4)	32 (60.3)	9 (19.6)	.01
c-stage (%)				.76
Stage IA	80 (80.8)	42 (79.2)	38 (82.6)	
Stage IB	9 (9.1)	4 (7.5)	5 (10.9)	
Stage IIA	4 (4.0)	3 (5.7)	1 (2.2)	
Stage IIB	6 (6.1)	4 (7.5)	2 (4.3)	
Mode of surgery (%)				.36
Sublobar resection	14 (14.1)	9 (17.0)	5 (10.9)	
Lobectomy	83 (83.8)	42 (79.2)	41 (89.1)	
Pneumonectomy	2 (2.0)	2 (3.8)	0 (0)	
Pathological diagnosis (%)				.09
pN0	83 (83.8)	43 (81.1)	40 (87.0)	
pN1	8 (8.1)	7 (13.2)	1 (2.1)	
pN2	8 (8.1)	3 (5.7)	5 (10.9)	
Histology (%)				.005
AIS/MIA	12 (12.1)	6 (11.3)	6 (13.0)	
Papillary	54 (54.5)	21 (37.5)	33 (71.7)	
Lepidic	14 (14.1)	10 (18.9)	4 (8.7)	
Solid	19 (19.2)	16 (30.2)	3 (6.5)	

Values are presented as n (%) or mean ± SD. EGFR, epidermal growth factor receptor, AIS, Adenocarcinoma in situ, MIA, minimally invasive adenocarcinoma.

### 特徴量の選択と診断性能

ICC を評価した後、腫瘍の領域から抽出した 1317 の特徴量を 1267 の特徴量に削減した (合計で 3955 の特徴量を 3901 の特徴量に削減した)。さらに、3901 の特徴量を SCC 解析により重複を除外して 453 に

絞り込んだ。ICC と SCC をクリアした 453 特徴のうち、Boruta アルゴリズムを用いて各検証セッションから中央値で 4 つ（範囲 2~8）の radiomics 特徴量が選択された。トレーニングセットでは、radiomics モデルと複合モデルの平均 AUC はそれぞれ 0.78（範囲, 0.64-0.94）および 0.74（範囲, 0.70-0.80）であった。検証セットでは、複合モデルは平均 AUC が 0.83（範囲, 0.74-0.95）と許容できる予測性能を示し、radiomics モデル（平均 AUC, 0.75, 範囲, 0.65-0.82）よりも高い傾向があった。しかし、Delong の検定では、AUC の差は統計的に有意にはならなかった (P=0.052)。

**機械学習モデルを用いて選択された特徴の重要性**

5-fold cross-validation を行い、radiomics モデルから 15 個の radiomics 特徴量と複合モデルから 2 個の臨床的特徴量を含む 17 個の特徴量を選択した。図 2 は、複合モデルにおける radiomics 特徴量と臨床的特徴量のランキングを表す。各特徴量を、各モデルで 1 位にランクされた特徴の平均係数に対するパーセンテージ値に変換された。radiomics 特徴量のうち 2 つ（腫瘍外からの wavelet-LHL\_firstorder\_90Percentile と腫瘍からの wavelet-HH\_gldm\_DependenceVariance）の平均係数が、関連する臨床特徴（性別、喫煙歴）の平均係数より優れており、臨床特徴よりも radiomics 特徴量が EGFR 変異検出に対して高い影響を持っている可能性が示唆された。

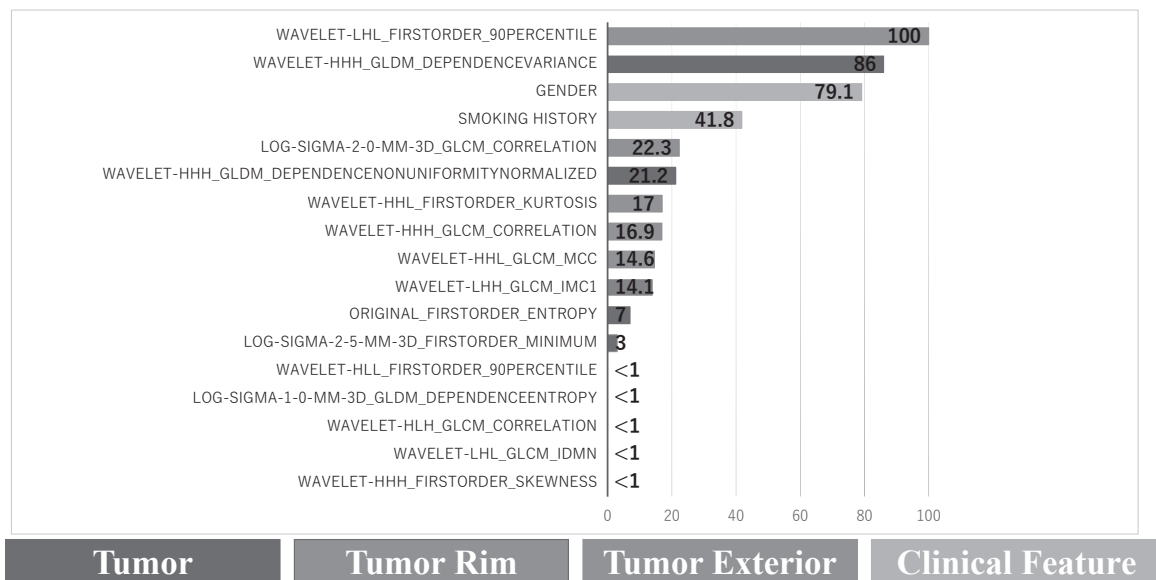


図 2 複合モデルにおいて Bourta アルゴリズムで選択された特徴量のランキング

**考 按**

本研究では、radiomics 特徴量を用いて手術可能な早期肺癌の EGFR 変異を予測することが可能であることを示し AUC が 0.75 であった。統計的な差はなかったが、確立された EGFR 変異の臨床的予測因子（性別、喫煙歴）と組み合わせることにより、AUC は 0.83 まで改善された。我々は機械学習モデルを利用して、radiomics 特徴量から抽出された多数の特徴量の中から重要な特徴量を選択し、予測モデルを生成した。古典的には、すりガラス陰影（ground glass opacity）の有無が EGFR 変異に関連する CT の特徴として知られているが<sup>8)</sup>、すりガラス陰影の内部（あるいは外部）の微妙な変化は、人間の目には区別がつかない場合がある。radiomics は、このような微小な変化を変異の確率に変換している可能性がある。

この研究にはいくつかの限界がある。第一に本研究は単一施設の後方視的な研究でありサンプルサイズが比較的小さいことである。我々はクロスバリデーションを行ったが、大規模なサンプルセットでさらに

検証する必要がある。さらに、EGFR 変異プロファイルは人種によって異なることがよく知られているため、我々のモデルは他の地域や人種で異なるパフォーマンスを示す可能性がある。したがって、多国籍および複数の人種の研究において、このモデルをさらに検証する必要がある。第二に、肺扁平上皮癌のEGFR 変異のEGFR-TKI への治療効果予測値が比較的稀で不確かなことを考慮して腺癌のみに注目したが、腺癌は現時点では侵襲性生検後にしか確認できない。しかし、腺癌はNSCLC の最も頻度の高いタイプであり、この予測モデルはNSCLC の組織型に関する radiomics 予測モデルと組み合わせることができるかもしれない。また日常診療では、腫瘍の生検を行っても腫瘍の存在診断しかできず、遺伝子や免疫染色などのサンプルが十分でないことがある。そのような場合、我々の画像バイオマーカーは有用であると考えられる。第三に、我々は特徴量を抽出するために手作業で腫瘍の境界を画定しているが、これは誤差の原因となる可能性がある。観察者間のばらつきを減らすためにICC を行ったが、radiomics はわずかな変化にも敏感であるため結果に影響を与えた可能性がある。これに対しては、今後自動検出技術を取り入れることで観察者間のばらつきを軽減できる可能性がある。

### おわりに

radiomics 特徴量は、肺腺癌の術前にEGFR 変異の検出に役立つ可能性がある。認識可能な腫瘍の境界の外側にも重要なシグナルが存在する可能性がある。この非侵襲的な画像ベースの技術で肺癌の遺伝子変異を検出することは、将来の precision medicine としての術前療法の指針になる可能性がある。

### 文 献

- 1) Mok TS, Wu YL, Thongprasert S, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med.* **361**(10) : 947-57, 2009.
- 2) Forde PM, Spicer J, Lu S, et al. Neoadjuvant Nivolumab plus Chemotherapy in Resectable Lung Cancer. *N Engl J Med.* Published online April 11, 2022. doi:10.1056/NEJMoa2202170
- 3) Tsuboi M, Weder W, Escriu C, et al. Neoadjuvant osimertinib with/without chemotherapy versus chemotherapy alone for EGFR-mutated resectable non-small-cell lung cancer: NeoADAURA. *Future Oncol.* Published online July 19, 2021. doi:10.2217/fo-2021-0549
- 4) Asano F, Aoe M, Ohsaki Y, et al. Deaths and complications associated with respiratory endoscopy: a survey by the Japan Society for Respiratory Endoscopy in 2010. *Respirology.* **17**(3) : 478-85, 2012.
- 5) Lee G, Lee HY, Park H, et al. Radiomics and its emerging role in lung cancer research, imaging biomarkers and clinical management: State of the art. *Eur J Radiol.* **86**(2017) : 297-307, 2017.
- 6) van Griethuysen JJM, Fedorov A, Parmar C, et al. Computational Radiomics System to Decode the Radiographic PhenotypeRadiomics System for Image Characterization. *Cancer Res.* **77**(21) : e104-7, 2017.
- 7) Aye PS, Tin Tin S, McKeage MJ, et al. Development and validation of a predictive model for estimating EGFR mutation probabilities in patients with non-squamous non-small cell lung cancer in New Zealand. *BMC Cancer.* **20**(1) : 658, 2020.
- 8) Cheng Z, Shan F, Yang Y, et al. CT characteristics of non-small cell lung cancer with epidermal growth factor receptor mutation: a systematic review and meta-analysis. *BMC Med Imaging.* **17**(1) : 5, 2017.

## 研究経過報告書執筆要項

(1) 研究記録集出版のため、下記の基準で論文（日本語）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、図表は Microsoft PowerPoint, Excel）
引用文献	10位

(2) 標準形式（Microsoft Word, CSV, テキスト）または PDF 形式（文字の取り出しが可能な形式）で保存し、電子メール（soumu@jfmc.or.jp）に添付、または、メモリーカード等の外部メディアに記録してご提出ください。

(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, cm<sup>2</sup>, 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. ウィ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.  
イタリック

(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)  
(38卷) 立石 健祐 (横浜市立大学大学院医学研究科)  
畠 達夫 (東北大学大学院医学系研究科)
- 2019 北郷 実 (慶應義塾大学医学部)  
(39卷) 杉町 圭史 (九州がんセンター)  
田辺 真彦 (東京大学医学部附属病院)
- 2020 岩槻 政晃 (熊本大学大学院)  
(40卷) 高森 信吉 (九州がんセンター)  
森根 裕二 (徳島大学大学院医歯薬学研究部)
- 2021 今井 克憲 (熊本大学大学院)  
(41卷) 富樫 庸介 (岡山大学学術研究院医歯薬学域)  
吉見 昭秀 (国立がん研究センター 研究所)
- 後藤太一郎 (山梨県立中央病院)  
谷口 浩二 (慶応義塾大学医学部)  
増田 隆明 (九州大学病院別府病院)  
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)  
高野 重紹 (千葉大学大学院医学研究院)  
宮本 裕士 (熊本大学病院)  
庄司 文裕 (九州医療センター)  
廣野 誠子 (和歌山県立医科大学)
- 〔がん薬物療法部門〕 北沢 将人 (信州大学医学部附属病院)  
〔がん薬物療法部門〕 間野 洋平 (九州がんセンター)  
〔医療機器部門〕 豊川 剛二 (福岡病院)

がん治療のあゆみ 第42巻

2023年3月25日 印刷  
2023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  
山岸久一

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。