

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

(今村 文香) 印

## Comparative Analysis of the Antitumor Immune Profiles of Paired Radiotherapy-naive and Radiotherapy-treated Cervical Cancer Tissues

子宮頸癌放射線症例の治療前後ペア組織を対象とした抗腫瘍免疫応答の比較検討

(学位論文の要旨) 2,000字程度、A4判

## 【背景と目的】

放射線治療は手術、薬物療法と並ぶ3大がん治療法のひとつである。近年、抗腫瘍免疫応答の研究が進み、薬物療法領域では免疫チェックポイント阻害薬などの臨床導出が進んでいる。放射線照射の抗腫瘍免疫応答への寄与とその機序については、主に基礎研究領域で研究が進められてきたが、臨床検体を用いた解析は十分にはおこなわれていない。その原因として、放射線治療症例からの腫瘍組織の採取が比較的困難であること、および、臨床検体の主要な解析手法のひとつである免疫組織化学染色に係る検出感度ならびに同時解析可能な分子数の限界が挙げられる。近年、nCounter法というRNAの測定法が開発された。nCounter法は最低1コピーという高感度を有し、数百種類の遺伝子発現を同時に評価可能である。以上から、本研究は放射線治療前後に腫瘍組織の採取が可能な子宮頸癌を対象として、nCounter法を用いて放射線治療による免疫応答関連遺伝子の発現変化を網羅的に解析することで、放射線治療による腫瘍組織中の免疫応答関連分子の動態を解明することを目的とした。

## 【対象と方法】

2006年から2013年に群馬大学で根治的放射線治療を受けた子宮頸部扁平上皮癌のうち、放射線治療前ならびに10 Gy照射時点で新鮮凍結腫瘍検体が採取された症例を後ろ向きに解析した。対象患者は子宮頸癌放射線治療ガイドラインに基づいて放射線治療単独または同時化学放射線治療を受けた。治療終了後、最低5年間は定期的にフォローアップされた。腫瘍検体からNucleoSpin RNA kit (Macherey-Nagel, Düren, Germany) を用いてRNAを抽出し、吸光度法と電気泳動による品質検定の後、65°Cで16時間ハイブリダイゼーションをおこなった。nCounter PanCancer Immune Profiling Panel (NanoString Technologies社) を用いて770種類の免疫応答関連遺伝子のmRNA発現量を評価し、nSolver ver 3.0 (NanoString Technologies社) を用いて解析した。同一症例における照射前後でのmRNA発現量の差をpaired *t*-testで評価し、Benjamini-Hochberg法を用いてfalse discovery rate = 0.05として $\alpha$ エラーを補正した。

本研究は群馬大学医学部附属病院の倫理審査委員会に承認を受けおこなわれた（承認番号1109）。

## 【結果と考察】

16症例を解析した。年齢の中央値は59.5歳、観察期間の中央値は63か月だった。FIGO 2009分類 I

B期、II期、III期がそれぞれ1例、10例、5例だった。81%（13例）が同時化学放射線治療を受けた。93%（15例）が最大径40 mmを超える腫瘍を有していた。全例の5年全生存率、5年無増悪生存率はそれぞれ86%、75%だった。以上から、本研究の解析症例は根治的放射線治療を受ける局所進行子宮頸癌として典型的であることが示唆された。Paired *t*-testを用いた解析の結果、解析した770種類の免疫応答関連遺伝子のうち、182種類の遺伝子において照射前後で有意な発現量の変化を認めた ( $p < 0.05$ )。182種類の遺伝子のうち、41種類の遺伝子において照射前後でfold change  $> 1.5$  または $< 0.66$ の発現量変化を認めた。Benjamini-Hochberg法を用いた解析の結果、4種類の遺伝子: cytotoxic T-lymphocyte-associated protein (*CTLA4*)、membrane metalloendopeptidase (*MME*)、tumor necrosis factor receptor superfamily member 18 (*TNFRSF18*)、CEA cell adhesion molecule 8 (*CEACAM8*) において照射前後で有意な発現量の変化を確認した ( $q < 0.05$ )。CTLA4は制御性T細胞に発現し、細胞傷害性T細胞の抗腫瘍免疫応答に抑制的に機能することから、本研究結果は放射線治療による腫瘍組織中の制御性T細胞の数または活性の低下を示唆する。*MME*、*TNFRSF18*、*CEACAM8*の抗腫瘍免疫応答への寄与に関しては知見が少ないため、放射線治療における同遺伝子群の発現変動の意義についてはさらなる研究が必要と考えられた。

#### 【結論】

子宮頸癌根治的放射線治療症例における免疫応答関連遺伝子の発現変動を網羅的に解析し、臨床検体における放射線治療後の腫瘍組織中*CTLA4*の発現低下を初めて報告した。

(1543字)