

学位論文抄録

Survival impact of immune cells infiltrating peritumoral area of hepatocellular carcinoma
(肝細胞癌腫瘍辺縁の免疫細胞が予後に与える影響)

遊 佐 俊 彦

指導教員

馬場 秀夫 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻消化器外科学

Abstract of the Thesis

INTRODUCTION: Inflammatory and immune cells in the tumor microenvironment are reported to be associated with tumor progression in several cancers. In this study, we focused on the tumor localization such as intra- or peri- tumoral areas of hepatocellular carcinoma (HCC), and aimed to investigate how the immune cells are related to patients' prognosis of HCC after curative hepatectomy.

METHODS: Total of 225 patients who underwent initial and curative hepatectomy for HCC from 2004 to 2013 were enrolled in this study. Tumor associated neutrophils (TANs), M2 macrophages (TAMs; tumor associated macrophages), CD8+ T cells, and regulatory T cells (Tregs) were evaluated by immunohistochemistry (IHC), and their relationships with patient clinicopathological characteristics and prognosis were evaluated.

RESULTS: IHC was performed focusing on TAN firstly. We cannot find the relationships between intra- and peri-tumoral TAN and clinicopathological features except for the fibrous capsule and infiltration of tumor to capsule. Next, TAM, CD8+ cells and Treg were evaluated by IHC. At peri-tumoral area, TAN and TAM ($r=0.36$, $p=0.001$) or Treg ($r=0.16$, $p=0.008$) showed a positive correlation, while TAN and CD8+ cell showed a negative correlation ($r=-0.16$, $p=0.02$). As for survival outcomes, at peri-tumoral area, high TAN ($p=0.0398$), low CD8+ cells ($p=0.0275$), and high TAM ($p=0.001$) were significantly associated with worse overall survival (OS). In addition, high TAN ($p=0.010$), and high TAM ($p=0.00125$) were significantly associated with worse disease-free survival (DFS). Finally, we established the risk signature model by combining expression pattern of these cells. The high-risk signature group had significantly worse OS ($p=0.0277$) and DFS ($p=0.0219$) compared to those of the low-risk signature group.

CONCLUSIONS: Our risk signature based on immune cells at peri-tumoral area of HCC can predict patients' prognosis of HCC after curative hepatectomy.

学位論文抄録

[目的] 腫瘍微小環境において、種々の免疫細胞が腫瘍の進展に関与することが知られている。これまで様々な癌腫において、腫瘍関連好中球(Tumor-associated neutrophil:TAN)や腫瘍関連マクロファージ(Tumor-associated macrophage:TAM)、制御性 T 細胞(Treg)は腫瘍促進的に働き、一方で CD8+リンパ球は腫瘍抑制的に働くことが報告されている。本研究では、肝細胞癌(HCC)腫瘍環境における TAN・TAM・Treg・CD8+ cell の浸潤様式とそれら細胞同士の関連が予後に与える影響について検討した。

[方法] 2004 年から 2013 年までに HCC に対し初回肝切除術を施行した 225 例を対象にした。TAN、TAM、Treg、CD8+ cell はそれぞれ抗 CD66b 抗体、抗 CD163 抗体、FOXP3 抗体、抗 CD8 抗体を用いて免疫組織化学染色を行った。①腫瘍内部及び②腫瘍周囲(被膜外縁より 1000 μ m 以内)に存在する免疫染色陽性細胞数をカウントし、中央値を cut off 値として High 群、Low 群の 2 群に分け臨床病理学的因子と予後との関連を検討した。Treg に関しては免疫染色陽性細胞数が少なく、陽性細胞の有無を cut-off とした。また、各免疫細胞相互の浸潤数について関連性を Nearest Template Prediction (NTP) アルゴリズムを用いて評価した。

[結果] ①腫瘍内部における TAN、TAM、Treg、CD8+cell と予後(全生存期間:OS、無再発生存期間:DFS)に優位な関連は認めなかった。②腫瘍周囲環境における TAN-high 群と TAM-high 群は、有意に予後不良であり(TAN OS: $p=0.0398$, DFS: $p=0.010$, TAM OS: $p=0.001$, DFS: $p=0.0125$)、CD8+ cell-high 群は有意に OS が延長した($p=0.0275$)。TAN と TAM($p=0.001$, $r=0.36$)および Treg($p=0.008$, $r=0.16$)は正の相関関係を、TAN と CD8 陽性リンパ球は逆相関関係を認めた($p=0.02$, $r=-0.16$)。各細胞群の浸潤数を基に Risk signature を作成すると、High risk 群は有意に予後不良となった(OS: $p=0.0277$, DFS: $p=0.0219$)。

[考察] 肝細胞癌の腫瘍内と腫瘍周囲における免疫細胞浸潤と予後との関連についてはこれまでもいくつか報告されているが、そのいずれが重要であるかについてのコンセンサスは得られていない。腫瘍周囲環境が予後と関連する一因として、angiogenesis や背景肝の影響などが考えられているが、本研究にて明らかとなったように免疫細胞の関与についても更なるメカニズムの解明が求められる。

[結論] HCC において、腫瘍内ではなく腫瘍周囲環境の免疫細胞は相互に関連し、腫瘍の進展および予後に関与する可能性が示唆された。