

学位論文題名

Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1  
cancer-testis antigens and T cell infiltration in non-small  
cell lung carcinoma and their prognostic significance

(非小細胞肺癌症例における癌精巣抗原 MAGE-A4、  
NY-ESO-1の発現と T リンパ球浸潤の検討、及び予後との関連)

学位論文内容の要旨

背景と目的

MAGE-A4 と NY-ESO-1 はともに癌精巣抗原に属する腫瘍抗原であり、各種癌に発現をみるが正常組織では精巣にのみ発現しており、強い抗原性を持つため腫瘍特異的免疫療法の有望な標的である。今回我々は現在日本における癌死亡率第一位を占める肺癌症例に対する MAGE-A4 と NY-ESO-1 を標的とした癌ワクチン免疫療法の可能性を検討する目的で、日本人非小細胞肺癌症例における MAGE-A4 と NY-ESO-1 抗原の発現、癌組織への T リンパ球浸潤、およびこれらのファクターと予後との関連について解析した。

方法

北海道大学病院及び関連病院において同意の得られた非小細胞肺癌症例 157 例より採取した腫瘍組織を用い、凍結検体においては MAGE-A4、NY-ESO-1 発現を RT-PCR 法にて検討し、パラフィン封埋標本においては NY-ESO-1、CD4、CD8 それぞれに対するモノクローナル抗体による免疫染色法にて NY-ESO-1 発現と T 細胞浸潤を検討した。157 症例中、RT-PCR 法と免疫染色法の両者を施行したものが 54 症例、RT-PCR 法のみが 87 症例、そして免疫染色法のみを施行できたものが 16 症例であった。臨床データは 157 症例中 125 症例にて解析可能であった。両抗原の発現、T 細胞浸潤と予後等を含む臨床的ファクターとの相関を多変量解析を用いて評価した。NY-ESO-1 の免疫染色においては染色された腫瘍細胞の%により以下のように 4 つにグループを分けた。: group A, 腫瘍細胞中 >50% の細胞で陽性; group B, 11~50% の細胞で陽性; group C, 1~10% の細胞で陽性; group D, 陰性。また CD4、CD8 の免疫染色では腫瘍巣、腫瘍周囲間質それぞれにおいて、200 倍率で 10 視野を count し、その浸潤数上位 5 視野の平均値を求め、この平均値により 2 グループにわけ ((+): high group, (-): low group)、CD4・CD8 細胞の浸潤の多寡により、以下の 4 つにグループ分けした。①CD4/8(+/+), ②CD4/8(+/-), ③CD4/8(-/+), ④CD4/8(-/-)。

## 結 果

RT-PCR の結果、非小細胞肺癌症例の MAGE-A4 発現は 141 例中 40 例(28.4%)、NY-ESO-1 発現は 141 例中 11 例(7.8%)で認められた。これらは共に欧米人に比べると低発現であった(それぞれ 51%および 16~21%)。MAGE-A4 と NY-ESO-1 の共発現は 141 例中 9 例(6.4%)に認められた。組織形では扁平上皮癌において MAGE-A4 と NY-ESO-1 の発現はそれぞれ 41 症例中 22 例(53.7%)、41 症例中 8 例(19.5%)と高い頻度で認められた。

NY-ESO-1 の発現について、RT-PCR 法と免疫染色法の両方が可能であった 54 症例中免疫染色陽性例 4 例だったが、そのうち 1 例は RT-PCR 陰性であった。免疫染色陰性 50 症例中、1 症例は RT-PCR 法では陽性であった。

癌精巢抗原の発現と臨床的ファクターとの関連を調べた。MAGE-A4 発現は 60 歳以上の者でそれ以下の者より有意に高く、組織分類上、扁平上皮癌で有意に高かった。NY-ESO-1 発現は扁平上皮癌で有意に高かった。その他のファクターとは有意な相関は認めなかった。

癌精巢抗原の発現と予後との関連を検討した。MAGE-A4、NY-ESO-1 の発現はともに予後との有意な相関を認めなかった。しかし病期分類で肺癌患者を①early group (stage I + stage II)、②advanced group (stage III + stage IV) の 2 グループに分け、それら 2 グループの癌精巢抗原の発現と予後との関連を検討したところ、MAGE-A4 を発現する advanced group では MAGE-A4 を発現しない advanced group およびその他のグループに比較して有意に生存率が低かった( $P=0.0065$ )。NY-ESO-1 ではこの解析においても特に有意な相関は認められなかった。

肺癌組織への CD4<sup>+</sup> T 細胞、CD8<sup>+</sup> T 細胞の浸潤数と予後、癌精巢抗原発現との関連を検討した。腫瘍巣における CD4<sup>+</sup> T 細胞の浸潤と予後との間に正の相関がみられた。CD8<sup>+</sup> T 細胞浸潤数と予後には相関を認めなかった。しかし、腫瘍巣浸潤細胞の CD4/8(+/+), CD4/8(+/-), CD4/8(-/+), CD4/8(-/-)の 4 つのグループ分けでは CD4/8(+/+)グループにおいて他の 3 グループよりも有意に予後に改善を認めた( $P=0.0370$ )。腫瘍周囲間質への免疫細胞浸潤数においては予後との相関を認めることはできなかった。癌精巢抗原発現と浸潤 T 細胞数との間に有意な相関は認めなかった。

## まとめ

非小細胞肺癌において MAGE-A4、NY-ESO-1 の発現する症例が一定度に認められた。両抗原は腺癌に比して扁平上皮癌において高頻度に発現していた。MAGE-A4 発現は非小細胞肺癌の進行症例における予後増悪因子であることが示唆された。腫瘍巣内への多数の CD4<sup>+</sup> T 細胞浸潤は良好な予後と正の相関を持ち、その中でも CD4<sup>+</sup> T 細胞と CD8<sup>+</sup> T 細胞の両方が多く浸潤している症例が特に予後がよいことが示され、CD4<sup>+</sup> T 細胞と CD8<sup>+</sup> T 細胞の協調した働きが有効な抗腫瘍免疫に重要であることが示唆された。また一方で、癌精巢抗原発現と浸潤 T 細胞数との間に有意な相関は認めなかったことより、MAGE-A4、NY-ESO-1 抗原に対する肺癌患者内の自然な免疫応答は十分なものではなく、これを有効に増強、活性化する必要性が示唆された。以上の事柄より、これら癌精巢抗原に対する反応性 T helper 細胞と cytotoxic T 細胞両方を誘導、活性化する免疫療法や両細胞の移入療法は、その効果が期待される免疫療法であると考えられた。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 秋 田 弘 俊  
副 査 教 授 西 村 孝 司  
副 査 教 授 近 藤 哲

学 位 論 文 題 名

### Expression of the MAGE-A4 and NY-ESO-1 cancer-testis antigens and T cell infiltration in non-small cell lung carcinoma and their prognostic significance

(非小細胞肺癌症例における癌精巢抗原 MAGE-A4、  
NY-ESO-1の発現と T リンパ球浸潤の検討、及び予後との関連)

現在日本における癌死亡率第一位を占める肺癌症例に対する癌精巢抗原 MAGE-A4 と NY-ESO-1 を標的とした癌ワクチン免疫療法の可能性を検討する目的で、日本人非小細胞肺癌症例における MAGE-A4 と NY-ESO-1 抗原の発現、癌組織への T リンパ球浸潤、およびこれらの因子と予後との関連について解析した。

北海道大学病院及び関連病院において採取した非小細胞肺癌手術摘出腫瘍 157 検体において RT-PCR 法と免疫染色法にて癌精巢抗原発現と T 細胞浸潤を検討し、予後等を含む臨床的因子との関係を多変量解析を用いて評価した。CD4、CD8 の免疫染色では腫瘍巣、腫瘍周囲間質それぞれにおいて浸潤数の平均値を求め、2 群にわけ ((+): high group, (-): low group)、CD4・CD8 細胞それぞれの浸潤の多寡により、4 群に分けた。

RT-PCR の結果、非小細胞肺癌症例の MAGE-A4 発現は 141 例中 40 例(28.4%)、NY-ESO-1 発現は 141 例中 11 例(7.8%)で認められ、共に欧米人に比べると低発現であった(それぞれ 51%および 16~21%)。MAGE-A4 と NY-ESO-1 の共発現は 141 例中 9 例(6.4%)に認められた。扁平上皮癌において MAGE-A4 と NY-ESO-1 の発現はそれぞれ 41 症例中 22 例(53.7%)、41 症例中 8 例(19.5%)と高い頻度で認められた。NY-ESO-1 の発現について、RT-PCR 法と免疫染色法の両方が可能であった 54 症例中免疫染色陽性例は 4 例だったが、そのうち 1 例は RT-PCR 陰性であった。免疫染色陰性 50 症例中、1 症例は RT-PCR 法では陽性であった。

癌精巢抗原の発現と臨床的因子との関連を調べた。MAGE-A4 発現は 60 歳以上と扁平上皮癌とで有意に高かった。NY-ESO-1 発現は扁平上皮癌で有意に高かった。その他のファクターとは有意な関係は認めなかった。MAGE-A4、NY-ESO-1 の発現はともに予後との有意な関係を認めなかった。しかし病期分類で肺癌患者を①early group (stage I + stage

II)、②advanced group (stage III+ stage IV) の2グループに分け、癌精巢抗原の発現と予後との関連を検討したところ、MAGE-A4 陽性 advanced group では MAGE-A4 陰性 advanced group およびその他のグループに比較して有意に生存率が低かった(P=0.0065)。NY-ESO-1 ではこの解析においても特に有意な関係は認められなかった。

肺癌腫瘍巣における CD4<sup>+</sup> T 細胞の浸潤と予後との間に正の相関がみられた。CD8<sup>+</sup> T 細胞浸潤数と予後には関係を認めなかった。しかし、腫瘍巣浸潤細胞の CD4/8(+/+), CD4/8(+/-), CD4/8(-/+), CD4/8(-/-)の4つの群分けでは CD4/8(+/+)群において他の3群よりも有意に予後良好だった(P=0.0370)。腫瘍周囲間質への免疫細胞浸潤数においては予後との関係を認めることはできなかった。癌精巢抗原発現と浸潤 T 細胞数との間に有意な関係は認めなかった。

MAGE-A4 発現は非小細胞肺癌の進行症例における予後増悪因子であることが示唆された。腫瘍巣内への多数の CD4<sup>+</sup> T 細胞浸潤は良好な予後と正の相関を持ち、その中でも CD4<sup>+</sup> T 細胞と CD8<sup>+</sup> T 細胞の両方が多く浸潤している症例が特に予後がよいことが示され、CD4<sup>+</sup> T 細胞と CD8<sup>+</sup> T 細胞の協調した働きが有効な抗腫瘍免疫に重要であることが示唆された。また一方で、癌精巢抗原発現と浸潤 T 細胞数との間に有意な相関は認めなかったことより、MAGE-A4、NY-ESO-1 抗原に対する担癌患者内の自然な免疫応答は十分なものではなく、これを有効に増強、活性化する必要性が示唆された。以上の事柄より、これら癌精巢抗原に対する反応性 T helper 細胞と cytotoxic T 細胞両方を誘導・活性化する免疫療法や両細胞の移入療法は、その効果が期待される免疫療法であると考えられた。

口頭発表において副査近藤 哲教授より①欧米人でのこの2種類の癌精巢抗原の発現と組織型との関係について、②癌精巢抗原は腫瘍抗原性が強いはずなのに進行癌症例では予後不良な点に関する考察について、③heterogeneous に発現細胞が存在することは免疫療法に不利に思われるがその点の改善策に関して質問があった。続いて副査西村孝司教授より①実験結果をふまえて今後どのような治療法が望ましいかについて、②その治療法の免疫学的論理の説明について、③欧米人と日本人とで発現率が違う理由に関して質問があった。最後に主査秋田弘俊教授より、①他臓器でも扁平上皮癌に癌精巢抗原の発現が多いか否かについて、②臨床試験症例の選択基準と選択法に関しての質問があったが、いずれの質問に対しても、申請者は主旨をよく理解し自らの研究データと文献的考察を混じえて適切な回答をした。

肺癌症例における MAGE-A4、NY-ESO-1 発現と免疫細胞の浸潤に関する本研究の意義は大きく、また今後の臨床試験への基盤となる資料として有用性も高く、審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有すると判定した。