



Title	Circulating tumor-associated antigen-specific IFN γ ⁺ 4-1BB ⁺ CD8 ⁺ T cells as peripheral biomarkers of treatment outcomes in patients with pancreatic cancer
Author(s)	村上, 弘大
Citation	大阪大学, 2024, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/98663
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	村上 弘大
論文題名 Title	Circulating tumor-associated antigen-specific IFN γ ⁺ 4-1BB ⁺ CD8 ⁺ T cells as peripheral biomarkers of treatment outcomes in patients with pancreatic cancer (膵癌患者の治療効果を反映する末梢血バイオマーカーとしての腫瘍関連抗原特異的IFN γ ⁺ 4-1BB ⁺ CD8 ⁺ T細胞反応の活用)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕	
近年、膵癌では集学的治療が広く試みられているが、これらの治療は免疫細胞に影響を及ぼす可能性が考えられる。これまで膵癌における末梢血単核球細胞(PBMC)中CD8⁺ T細胞を用いた研究は、腫瘍関連抗原(TAA)特異的なCD8⁺ T細胞を対象としたものは少なく、臨床的治療効果との関連については検討された報告はない。そこで本研究は、膵癌患者由来PBMCを用いて、TAA特異的CD8⁺ T細胞反応を高感度に検出できる実験系を確立し、TAA特異的CD8⁺ T細胞反応がさまざまな治療効果を予測可能な血中バイオマーカーとなり得るかを評価することを目的とした。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
初めに、膵癌で発現するTAAを選択するために、膵癌ペプチドワクチンとして報告のあるCEA(<i>CEACAM5</i>)、MUC1、TERT、WT1に加え、他癌で報告のあるNY-ESO-1(<i>CTAG1A</i>)、TRP2(<i>DCT</i>)を候補として検討した。RNAシーケンスの公開データベース(Cancer cell line encyclopedia)では<i>CEACAM5</i>、<i>MUC1</i>、<i>TERT</i>、<i>WT1</i>の発現を認め、<i>CTAG1A</i>、<i>DCT</i>の発現は認めなかった。さらに6種の膵癌細胞株(BxPC3、MiaPaCa2、Panc1、PSN1、SUIT2、TYPK1)でqRT-PCRによるmRNA発現を確認したところ、これら4種の発現は、<i>CTAG1A</i>、<i>DCT</i>と比較して、少なくとも1種類以上の細胞株で有意に上昇していた。そのため、以降の実験では、これらCEA、MUC1、TERT、WT1抗原に対するCD8⁺ T細胞反応に着目することとした。	
次に、膵癌患者由来PBMCを用いて、TAA特異的CD8⁺ T細胞の検出感度を上げるために、これら4種のTAAを標的とするオーバーラッピングペプチド(2 μg/mL/for each peptide)で刺激し、IL-2(20U/mL)存在下で10日間培養した。TAA特異的CD8⁺ T細胞の検出は、フローサイトメトリーでIFNγと4-1BBを指標とし、TAA刺激なしの各マーカー陽性率から差し引き0.01%以下は検出なしと扱った。膵癌患者(57症例)の治療開始前PBMCを用いてTAA特異的CD8⁺ T細胞反応を検討したところ、IFNγ⁺は34症例(60%)、4-1BB⁺は38症例(66%)、IFNγ⁺かつ4-1BB⁺(IFNγ⁺4-1BB⁺)は21症例(37%)、IFNγ⁺または4-1BB⁺は42症例(74%)に認められた。これらTAA特異的CD8⁺ T細胞の各分画と術前治療効果(治療前後の腫瘍縮小率、腫瘍マーカー(CA19-9)の減少率、切除検体を用いた病理学的効果)との相関を評価したところ、術前治療前後のCA19-9の減少率と、IFNγ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞の検出率が強く相関していたため($R=-0.556$、$p=0.011$)、以後、TAA特異的IFNγ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞をバイオマーカーとして用いた。	
治療経過中(術前治療前、術前治療後、切除後)にPBMCを採取し、膵癌切除後の治療成績との相関を評価した($n=20$)。切除後のPBMCにおいてTAA特異的IFNγ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞が検出された患者は、検出されなかった患者に対し、無再発生存率が有意に良好であった(2年無再発生存率: 75% vs 42%、$p=0.041$)。	
最後に、TAA特異的IFNγ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞をバイオマーカーとして、免疫チェックポイント分子阻害剤介入のタイミングを検討した。膵癌患者の治療開始前PBMC($n=57$)と健常者PBMC($n=15$)を用いて、メモリーCD8⁺ T細胞における5つの免疫チェックポイント分子(PD-1、TIGIT、CD160、Tim-3、BTLA)の発現を比較すると、PD-1のみが膵癌患者で高頻度に発現していた(12.2% vs 3.9%、$p<0.001$)。膵癌患者($n=20$)の治療経過中(術前治療前、術前治療後、切除後)に採取したPBMCのうち、術前治療前のPBMCでは抗PD-1抗体添加によりTAA特異的IFNγ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞が有意に増加した(1.25倍、$p=0.017$)。一方、術前治療後、切除後のPBMCは増加しなかった。	
〔総 括(Conclusion)〕	
末梢血中TAA特異的IFNγ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞は、術前治療効果、切除後の治療成績を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。このバイオマーカーを用いて評価すると、抗PD-1療法の効果は、術前治療前で最も効果的となる可能性が示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 村上 弘大	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 江口 英利
	副 査 大阪大学教授 竹田 潔
	副 査 大阪大学教授 得山 通毅

論文審査の結果の要旨

本研究は、肺癌患者由来末梢血検体を用いて免疫反応のモニタリングを行い、治療効果を予測するバイオマーカーとなり得るかを検討したものである。具体的には、肺癌で発現している4種の腫瘍関連抗原（TAA）に対する末梢血中抗原特異的CD8⁺ T細胞応答をフローサイトメトリーで測定し、臨床的治療効果との関連を検討した。その結果、TAA特異的IFN γ ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞の頻度は、術前治療前後におけるCA19-9の減少と相関していた。さらに、術後にTAA特異的IFN γ ⁺4-1BB⁺ CD8⁺ T細胞が認められた患者は、無再発生存が良好であった。このことから、末梢血中CD8⁺ T細胞の解析が治療効果を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

本研究では、患者血液を用いて免疫反応評価を行うことで、肺癌における臨床的な治療効果の管理、予測につながる可能性を示しており、学位の授与に値すると考えられる。