

氏名	櫻井 映子
学位の種類	博士(医学)
学位記番号	甲第 1311 号
学位授与の日付	2023年3月12日
学位論文題名	γ H2AX, a DNA Double-Strand Break Marker, Correlates with PD-L1 Expression in Smoking-Related Lung Adenocarcinoma 「喫煙関連の肺腺癌におけるDNA二本鎖切断マーカー γ H2AXとPD-L1発現の相関性」 International Journal of Molecular Sciences. 2022;23:6679
指導教授	塚本 徹哉
論文審査委員	主査 教授 今泉 和良 副査 教授 星川 康 教授 浅井 直也

論文内容の要旨

【緒言】

免疫チェックポイント阻害薬(immune checkpoint inhibitors: ICIs)は分子標的治療薬と同様に肺癌における重要な治療薬の一つである。ICIsの適応は遺伝子変異量(Tumor mutation burden: TMB)やPD-L1の発現によって決定される。TMBは次世代シーケンサー(Next generation sequencer: NGS)によって算出されるが、NGSは高額で、判定までに時間を要する。またPD-L1の発現が検出できない腫瘍にもICIの効果が認められており、免疫療法においては分子標的薬における遺伝子異常のような優れた効果予測マーカーが存在しないのが実情である。

【目的】

DNA二本鎖切断マーカーである γ H2AXの免疫染色を用いてPD-L1との相関を調べ、ICIsの効果予測マーカーとしての可能性を模索した。また γ H2AX高発現を呈する肺癌の臨床病理学的特徴を検討し、免疫組織学的意義を検討した。

【対象・方法】

2015年2月から2020年8月に藤田医科大学にて切除された肺癌組織検体100例のホルマリン固定パラフィンブロックを用いた。51例は腺癌、49例は扁平上皮癌であった。 γ H2AX、PD-L1、Ki-67、p53免疫染色を施行し、 γ H2AXは5%より高値を、Ki-67は20%以上を高発現とした。p53は発現強度と発現割合をスコア化し1.0より高値を変異ありとし、PD-L1は腫瘍細胞における発現率を測定し1%以上を高発現とした。喫煙歴はBrinkman index (BI)を用い200をcut off値とした。Whole-slide imagesを作成しHALO image analysis software (indica Labs)を用い、偽蛍光抗体画像から合成画像を作成し、 γ H2AXとPD-L1の分布を比較した。

【結果】

扁平上皮癌は腺癌に比べて、 γ H2AX、PD-L1、Ki-67発現およびp53変異が有意に高値であった。腺癌において γ H2AXとPD-L1の相関関係が認められたが、扁平上皮癌は相関関係が認められなかった。扁平上皮癌のほうが腺癌に比べてBIが有意に高く($p < 0.0001$)、 γ H2AX、PD-L1、Ki-67、p53高発現群でBIが高値であった(すべて $p < 0.05$)。また腺癌では γ H2AX高値群の方が低値群と比較してBIが高値であった($p < 0.05$)。 γ H2AX高値群と低値群、PD-L1高値群と低値群で術後生存期間に有意差は認められなかった。

【考察】

肺癌はドライバー遺伝子や喫煙の関与が指摘されている。特に肺扁平上皮癌と喫煙の強い関係性が報告されてきた。本研究でも、扁平上皮癌の方が腺癌に比べてBIは有意に高く、腺癌はBIの値が低値から高値まで様々であった。腺癌においては喫煙以外にも、ドライバー遺伝子の関与が報告されており、BI低値の腺癌の症例はドライバー遺伝子など他の因子の関与が示唆された。 γ H2AX高値群がBI高値であったことから、喫煙がDNA損傷に関与し発癌に寄与することが示唆された。本研究では、腺癌においてのみ γ H2AXとPD-L1の相関関係が認められた。扁平上皮癌は γ H2AX、PD-L1ともに高発現の症例が多く、一方、腺癌は γ H2AXの発現が低値から高値まで分布しており、PD-L1との相関性を評価しやすい条件となっていた可能性が考えられた。より正確な結果を得るにはさらに多くの症例の検討が必要である。

【結語】

γ H2AX免疫染色がPD-L1に代わるICIsの効果予測マーカーとなる可能性を提示した。

論文審査結果の要旨

近年、肺癌に対する分子標的治療の進歩が著しく、ICIsは受容体型チロシンキナーゼに対する薬剤と両輪をなすものである。ICIsの効果予測に、PD-L1免疫組織学的判定が用いられているが、十分なバイオマーカーが確立されているとは言えない。本研究は、肺癌組織検体100例を用い、DNA二重鎖切断マーカーである γ H2AXとPD-L1発現との相関を調べ、 γ H2AXのICIsの効果予測マーカーとしての可能性を検討したものである。その結果、BI高値群で γ H2AX、PD-L1、Ki-67、p53が高値であること、腺癌よりも扁平上皮癌で γ H2AXが高値であること、線維化の乏しい腺癌で γ H2AXとPD-L1発現が相関することが示された。審査会では、(1) 線維化を伴った腺癌や扁平上皮癌などより進行した癌では有意な相関性が認められなかったこと、(2) 腺癌において中心瘢痕内浸潤部と周辺部の非浸潤部での γ H2AX発現の違い、(3) γ H2AXが増殖中の癌で発現していることから、DNA二重鎖切断時のみならず、慢性的なDNA変異刺激によって γ H2AX発現亢進を来している可能性、(4) PD-L1、 γ H2AXの発現と予後についてICIsの使用の有無による差を検討する必要性が示され、的確な質疑応答がなされた。本研究は学内共同研究として行われた独自性の高い研究であり、学位論文として十分に値すると判断した。