学 位 論 文

Relationship between stromal regulatory T cells and response to neoadjuvant chemotherapy for locally advanced rectal cancer

(局所進行直腸癌に対する術前化学療法の効果と腫瘍間質のTregの関係)

関 澤 健太郎 (平成19年卒)

【背景・目的】

腫瘍浸潤リンパ球(TILs: tumor infiltrating lymphocytes)は宿主の抗腫瘍免疫を表す一つと考えられており、様々な癌腫で予後との関連について報告されている。しかし直腸癌における腫瘍浸潤リンパ球と術前化学療法の関係についての報告はない。本研究の目的は、局所進行直腸癌に対する術前化学療法の腫瘍縮小率と病理学的効果が直腸の原発巣を取り巻く免疫微小環境の状態と関連しているかどうかを判断することである。

【対象と方法】

術前化学療法(NACT: neoadjuvant chemotherapy)を行った後に原発巣の切除を行った局所進行直腸癌症例65例を対象とした。術前化学療法のレジメンは、mFOLFOX6に加えて、RAS野生型の場合はパニツムマブを投与した。TILs の免疫組織染色ではCD3, CD8, FoxP3, CD86, CD206を用いて、腫瘍縮小率および術前化学療法に対する病理学的効果との相関関係について比較検討した。

【結果】

平均腫瘍縮小率は $41.5\pm18.8\%$ であった。RECISTでは、47症例(72.3%)がPRとなり、1症例(1.5%)がCRとなった。8 症例(12.3%)はGrade2の病理学的効果を示し、2症例(3.1%)はGrade3の病理学的効果を示した。多変量解析は、間質細胞(ST:stromal cell)領域におけるFoxp3陽性リンパ球の浸潤が低い群で、PRまたはCR(オッズ比 [OR] 7.69;95%信頼区間 [CI] 1.96-33.33;p<0.01)および病理学的効果Grade2または3(OR 11.11;95%CI 1.37-98.04;p=0.02)と有意に関連していることを示した。

【結語】

NACT後の直腸癌切除症例において、治療後のST領域のTreg低浸潤は良好な臨床的および病理学的効果と関連している可能性が示唆された。

Bromodomain-containing Protein 4 Is a Favourable Prognostic Factor in Breast Cancer Patients (ブロモドメイン蛋白 4BRD4 は乳癌患者の良好な予後因子である)

鈴 木 千 穂 (平成22年卒)

【背景と目的】

近年、新たな癌の治療標的として癌幹細胞が注目されている。癌幹細胞はその特徴から、初期治療後の癌の転移や再発に関与していると考えられている。先行研究にて、乳癌幹細胞マーカーのALDH1発現を直接制御すると考えられる 10 遺伝子 SIRT2, PCAF, LXR, BRD4, SMAD4, Pitx3, RAR α , MUC1, HASH1, C/EBP β をネットワーク解析を用いて同定した。 本研究ではこの中の一つBRD4に着目し、乳癌における機能や予後との関連を解析した。

【対象と方法】

横浜市立大学附属市民総合医療センターにて、2006年から2008年の間に乳癌手術を受けた183例の手術検体パラフィン包埋ブロック組織マイクロアレイ (Tissue Microarray: TMA) を作成し、免疫組織学的手法により乳癌におけるBRD4の発現解析、および乳癌臨床病理学的因子、予後との関連を解析した。続いて、*BRD4* 遺伝子発現と乳癌を含む複数種の固形癌の予後を解析した。*BRD4* 遺伝子発現および予後のデータはThe Cancer Genome Atlas (TCGA) データベースを用いた。

【結果】

TMA症例の年齢中央値は50歳(30~89歳)、観察期間中央値は10年であった。BRD4は乳癌腫瘍細胞に広く分布していたが、その染色強度には症例ごとによって異なっていた。TMA症例をBRD4の染色強度にて弱陽性群と強陽性群の2群に分類し比較検討した。BRD4発現は乳癌臨床病理学的因子とは相関しなかったが、BRD4強陽性群は弱陽性群に比べて乳癌特異的生存期間が有意に長かった(5年生存率100.0%:91.3%,p値=0.027)。さらに、TCGAデータベースを用いた解析でも。BRD4-mRNA高発現群は、低発現群と比較して乳癌予後が有意に良好であった(6年時生存率91.2:80.2%、p値=0.047)。さらに、同様のデータベースを用いて複数の癌腫においてもBRD4遺伝子発現と予後との関連を解析すると、BRD4遺伝子高発現群が予後良好であるのは乳癌に特異的な結果となった。

【結語】

BRD4強陽性の乳癌は、有意に予後が延長した。さらに、異なるデータベースを用いた *BRD4*-mRNAの発現および予後との関連の解析でも同様の結果が得られ、乳癌に特異的な結果であった。BRD4は癌種によって異なる役割を果たしている可能性があり。BRD4の臨床応用には今後のさらなる解析が必要である。

★★★ 博士課程優秀論文賞受賞 ★★★

A Low Tumor Mutational Burden and *PTEN* Mutations Are Predictors of a Negative Response to PD-1 Blockade in Microsatellite instability-High (MSI-H)/deficient mismatch repair (dMMR) Gastrointestinal Tumors

(MSI-H/dMMR消化器腫瘍において、腫瘍変異負荷低値とPTEN変異が抗PD-1抗体に対する負の予測因子となる)

千 田 幸 悟 (平成24年卒)

【背景・目的】

マイクロサテライト高不安定性(MSI-H)またはミスマッチ修復欠損(dMMR)腫瘍は、多数の遺伝子変異を有し、腫瘍特異抗原の発現増強、細胞障害性T細胞の高度浸潤、および免疫チェックポイント分子の発現に関与している。免疫チェックポイント阻害剤、特にPD-1 inhibitorは、肝胆道癌および膵臓癌を含むMSI-H/dMMR消化器腫瘍で著明な効果を示し、2018年12月にPembrolizumabがMSI-H/dMMR腫瘍に対する初の臓器横断的な薬事承認を獲得している。しかし、患者の約半数で早期の病勢進行を認め、PD-1inhibitorへの抵抗性を示すがその抵抗性に関わるバイオマーカーは不明である。本研究はこの抵抗性に関わる因子を明らかにするために、MSI-H/dMMR消化器腫瘍のPD-1inhibitorに対する応答に焦点を当てた。

【方法】

MSI-H/dMMRと診断されたStage IV 消化管腫瘍の原発巣検体のFFPE検体を用いてWhole exome sequencing, RNA sequencing, および多重免疫染色を行った。

【結果】

胃癌、大腸癌、胆管癌、小腸癌、膵臓癌、および十二指腸癌を含むMSI-H/dMMR消化器腫瘍の合計45人の患者を解析した。TMBが低い患者(TMB-low)は、TMB-highの症例と比較して客観的奏効率が低く(0 vs 48.8%)、無増悪生存期間が有意に短かった(2.3 vs 15.6か月、hazard ratio [HR]: 6.20、P=0.002)。消化器腫瘍の代表的な遺伝子変異の中で、TMB-lowとは相互に排他的に、PTEN変異を有する症例はPTEN野生型と比較して低い客観的奏効率と有意に関連していた(21.4 vs 54.8%; オッズ比:4.45、P=0.045)。PTENの変異部位をホスファターゼドメインとC2ドメインに分けて解析すると、PTEN野生型と比較して、PTENホスファターゼドメイン変異は客観的奏効率の低下(12.5 vs 54.8%、P=0.049)、無増悪生存率の短縮(2.6 vs 15.6か月、2.00 HR: 2.00 HR:

【結語】

TMB-lowと*PTEN*ホスファターゼドメイン変異は、MSI-H/dMMR腫瘍腫瘍患者において、相互に排他的にPD-linhibitorに対する反応の負の予測因子である可能性がある。

肝内胆管癌に対する肝切除後の超早期再発:新たな治療アプローチを選択すべきか?

佐原康太(平成24年卒)

【背景・目的】

肝内胆管癌に対する手術療法は切除可能病変に対して、最も根治可能性が高い治療法といえるが、切除後の全生存期間中央値は20-30か月と報告されている(Jiang et al., 2011: Sur er al., 2015)。中でも腫瘍径大、多発病変、血管または脈管侵襲などの腫瘍性質は特に主要な再発リスク因子と言われている。本研究では肝内胆管癌術後に超早期再発を発症する患者を特徴づけ、大規模多施設データを用いて超早期再発を予測する術前・術後予測モデルを開発することを目的とした。

【方法】

1990年5月から2016年7月までに病理学的に肝内胆管癌と診断された肝切除症例を対象とした。国際肝内胆管癌コラボレーション(IICC)に参加している15高次機能施設が本研究に参加した。術後6か月以内の再発を超早期再発と定義し、臨床腫瘍学的因子と超早期再発との関連についてロジスティック回帰分析が行われた。多変量解析で算出された β -coefficientsを用いて術前・術後の超早期再発予測モデルを作成し、予測モデルの性能を評価するためにC-indexを計算した。

【結果】

880人のうち196人(22.3%)で超早期再発を認めた。術後5年生存率は超早期再発群で8.9%、超早期再発なし群で49.8%であった(p<0.001)。多変量解析では、術前因子の中で、非白人、肝硬変、腫瘍径、腫瘍個数、術前画像評価でのリンパ節転移が超早期再発と関連していた。一方で術後因子を加えた多変量解析においても非白人、腫瘍径、腫瘍個数は超早期再発と関連し、さらに微小血管浸潤、Nx or N1ステージ、R1切除がリスク因子に加わった。術前予測モデルを用いると、6か月無再発生存率は低リスク群87.7%、中リスク群72.3%、高リスク群49.5%と層別化された。同様に術後予測モデルにおいても、6か月無再発生存率は低リスク群90.0%、中リスク群73.1%、高リスク群48.5%と個々のリスク群を正確に層別化した。

【結語】

肝内胆管癌根治切除後の超早期再発を予測するオンラインモデルを作成した。今後、臨床応用することで術前化学療法が適切な可能性がある患者の特定や術後サーベイランスに有用な可能性がある。

2021年にpublishされた論文のトータルIF上位3名

金 賞 押 正徳先生 (H22) トータルIF 130.623

銀 賞 渡邉 純先生 (H13) トータルIF 40.761

銅 賞 千田圭悟先生(H24)トータルIF 32.493

若獅子賞(若手(大学院入学前)で年間の論文トータルIFが最も高い者)

大矢浩貴先生 (H26) トータルIF 9.905



論文奨励賞を受賞して

押 正徳(平成22年卒)

この度は論文奨励賞・金賞という名誉ある賞を頂戴し、 誠に光栄に存じます。このような業績を残せたのは私個人 の力ではなく、遠藤教授をはじめ諸先輩方、同僚・後輩の 皆様のお力添え、さらには癌治療に対し臨床だけでなく研 究にも重きをおく第二外科の方針のお陰であると実感して おります。心から感謝申し上げます。本年度投稿した論文 はヒト癌組織における遺伝子発現データを用いてClinical guestionを解明していくIn-Silico Translational Researchが 主体でした。近年臨床でも様々な癌腫において遺伝子レベ ルで治療方針が決められるようになっており、実際の患者 自身の遺伝子状態を相手にした研究は今後益々発展してい くと考えられます。In vitro/vivoと合わせて基礎研究の一 つの研究手法として今後も研鑽を積み、医局の先生方に少 しでも還元できるよう精進していきたい所存です。また、 本年は国内外の学会で賞を頂く機会もあり、世界と繋がる 一手段として特に若い先生方に研究の面白さも伝えていけ たらとも考えております。今後とも御指導・御鞭撻の程、 宜しくお願い致します。有難うございました。



論文奨励賞を受賞して

千田圭悟(平成24年卒)

この度は論文奨励賞を受賞させて頂きまして、誠にあ りがとうございます。これもひとえに快く国内留学に送 り出して頂いた遠藤教授をはじめ、医局長および医局の 先生方のお陰だと思っております。この場を借りてあら ためて心から感謝申し上げます。3年間でClinical cancer researchという一流紙に2本publishすることができたこ とは自信にもなりましたし、今後のモチベーションにも 繋がりました。忙しい臨床業務を行いながら論文を書く ことは大変で、それには個々のモチベーションと努力が 必要です。しかし、自身やチームの主張を形にして国内 外に発信することは意味のある事ですし、研究結果をま とめて一つの "作品" としてpublishすること自体が面白 いものだと思っています。今後、研究や論文を書く楽し さを少しでも後輩に伝え、一緒に作品を作り上げられた らと思っています。今後とも御指導御鞭撻の程、宜しく お願い致します。



論文奨励賞を受賞して

渡邉 純(平成13年卒)

この度は論文奨励賞銀賞をいただき、誠にありがとうございます。英文論文を執筆するにはかなりの労力と時間がかかります。しかし、諸先輩方が築きあげてこられたこれまでの治療成績、日常臨床で生じたsomething new、日常臨床で生じた clinical questionに対する答えを公表し他の外科医の先生方に還元することによって、自分が直接診察する患者さん以外の多くの患者さんが恩恵を受けられる可能性を秘めています。それが論文執筆に対するmotivationとなります。

現在、大腸グループでは若手の先生を対象に英文論文執筆のノウハウを伝える勉強会を月1回開催しています。本勉強会からこれまでに30編以上の英文論文をpublishしています。熱意のある若手医師の先生方の参加をお待ちしています。

同門会の先生方からの御指導・御支援に心より感謝いた します。今後とも何卒よろしくお願いいたします。



論文奨励賞を受賞して

大矢浩貴(平成26年卒)

この度は論文奨励賞若獅子賞をいただき、誠にありがとうございます。昨年度に続き、2年続けて頂戴し、大変光栄に存じます。2年前より大腸グループの勉強会に参加させていただき、論文を執筆してまいりました。渡邉 純先生、石部敦士先生をはじめ大腸グループの諸先生方にご指導いただき、昨年度は3編の英文論文を執筆することができました。特にDiseases of the Colon & Rectum (DCR)にAcceptされた論文は、苦労して執筆した分、特に嬉しかったことを覚えています。来年度は大学院に入学し、基礎研究と合わせて学術活動を継続して参りたいと存じます。最後になりますが、同門の先生方からのこれまでの御指導・御支援に心より感謝申し上げます。今後とも何卒よろしくお願いいたします。

カールストルツ賞(第33回日本内視鏡外科学会総会)

渡邉 純 (平成13年卒)

Autonomic nerve preserving lateral pelvic lymph node dissection using trans-anal approach

Jun Watanabe¹, Atsushi Ishibe², Yusuke Suwa¹, Hirokazu Suwa³, Tsutomu Sato¹, Kazuhisa Takeda¹, Mitsuyoshi Ota⁴, Chikara Kunisaki¹, Itaru Endo²

- 1) Department of Surgery, Gastroenterological Center, Yokohama City University Medical Center
- 2) Department of Gastroenterological Surgery, Yokohama City University Graduate School of Medicine
- 3) Department of Surgery, Yokosuka Kyosai Hospital, Yokosuka, Japan
- 4) Department of Surgery, Yokohama City Minato Red Cross Hospital

Background: Lateral pelvic lymph node dissection (LLND) is technically difficult and complicated, especially in the deep part of the pelvis, with poor visualization and poor maneuverability. We developed a technique for LLND combined with this trans-anal approach (taLLND).

Methods: Surgery was performed with a trans-abdominal, trans-anal 2-team approach. Trans-abdominal team mainly performs the operation on the head side, especially the preservation of the ureter and the lower hypogastric nerve. The trans-anal team mainly operates the caudal side, especially preservation of S3, S4, dissection around the Alcock's canal and the internal pudendal artery. At first, we dissect between the autonomic nerves and the inferior bladder vessels in order to preserve the autonomic nerves. Next, we dissect the lateral side. when dissecting along the levator ani muscle and the internal obturator muscle, we can reach the obturator artery region. As for the bottom, we dissect along the coccygeus muscle and the sacral plexus. We can see the distal side of internal pudendal artery (a Alcock's canal). In trans-anal approach, the deep pelvis becomes the closest point of operation. Dissect along the internal pudendal artery and cut off the inferior vesical vessels. In trans-anal approach, since the orientation of the internal pudendal artery and the forceps are parallel, dissection around the internal pudendal artery is easy to do.

Results: Seventeen patients who underwent taLLND for rectal cancer from April 2018 to March 2020 were included. The patient was 59 years old, 7 males and 10 females, had a BMI of 22.3. Neo-adjuvant therapy was performed in 10 cases. The taLLND was performed in 11 cases on the bilateral side and 6 cases on the unilateral side, and 3 cases undergoing internal iliac vascular resection. The operation time was 365 minutes, and the blood loss was 148 ml. No autonomic nerve injury was observed. Postoperative complications were lymphorrhea; 2, intestinal obstruction; 1, enteritis; 1, inflammation of pelvic dead space; 1 and neuropathic bladder (improved with oral administration only); 1. The postoperative hospital stay was 13.5 days and number of the harvest lateral lymph node was 13.

Conclusions: The taLLND is a useful option for cases where lymph node metastasis is found in the deep pelvis because of precise preservation of splanchnic nerve and easy approach to the internal pudendal artery.



AGSurg Awards State-of-the-art Review 2021 (日本消化器外科学会)

村上 崇 (平成18年卒)

このたびは、AGSurg State-of-the-art Review 2021という大変栄誉ある賞を賜りまして、誠にありがとうございます。本論文は、横浜市立大学消化器・腫瘍外科学遠藤格教授のご指導の下、膵癌における抗腫瘍免疫およびDesmoplastic stromaをテーマに執筆させて頂きました。膵癌に対する化学療法や放射線療法等によって抗腫瘍免疫が賦活されうることに着目し、各種免疫療法や、さらには膵癌間質を標的とした治療に言及しています。膵癌患者さんの明るい未来に向け、膵癌治療のさらなる発展を祈念すると共に、微力ながら私も寄与してゆけますよう、努力を続けて参りたいと存じます。今後ともご指導のほど、よろしくお願い申し上げます。



Received: 21 July 2018 Revised: 8 September 2018 Accepted: 4 November 2018

DOI: 10.1002/ags3.12225

REVIEW ARTICLE



Role of the tumor microenvironment in pancreatic cancer

Takashi Murakami¹ | Yukihiko Hiroshima¹ | Ryusei Matsuyama¹ | Yuki Homma¹ | Robert M. Hoffman^{2,3} | Itaru Endo¹

¹Department of Gastroenterological Surgery, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan ²AntiCancer, Inc., San Diego, California ³Department of Surgery, University of California, San Diego, California

Correspondence Itaru Endo, Department of Gastroenterological Surgery, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Japan.

Yokohama, Japan. Email: endoit@vokohama-cu.ac.ip

Abstract

Pancreatic cancer remains a highly recalcitrant disease despite the development of systemic chemotherapies. New treatment options are thus urgently required. Dense stromal formation, so-called "desmoplastic stroma," plays controversial roles in terms of pancreatic cancer growth, invasion, and metastasis. Cells such as cancer-associated fibroblasts, endothelial cells, and immune cells comprise the tumor microenvironment of pancreatic cancer. Pancreatic cancer is considered an immune-quiescent disease, but activation of immunological response in pancreatic cancer may contribute to favorable outcomes. Herein, we review the role of the tumor microenvironment in pancreatic cancer, with a focus on immunological aspects.

KEYWORD

 $immune\ cell, immunomodulation, pancreatic\ cancer, tumor-infiltrating\ lymphocyte,\ tumor microenvironment$

1 | INTRODUCTION

Patients with pancreatic cancer show a dismal prognosis, with 5year overall survival rates of 7%-8% in both Japan and the USA.1 Pancreatic-cancer death is estimated to become the second most common cause of cancer death by 2030 in the USA.2 A lack of symptoms or biomarkers in the early stages of the cancer, an aggressive biological feature in that cancer cells metastasize to distant lesions even from small tumors, and drug resistance as a result of dense fibrous stroma all contribute to poor treatment outcomes of pancreatic cancer. Furthermore, pancreatic cancer is known to create an immune-suppressive microenvironment that results in immune evasion from the host antitumor immune system, leading to rapid cancer progression. Recent studies have shown that the tumor microenvironment of pancreatic cancer, including cancer-associated fibroblasts such as stellate cells, extracellular matrix, various kinds of immune cells, and cytokines released by these cells, participates in controlling tumor growth, invasion, and metastasis by means of close interactions with cancer cells. Hence, preclinical and clinical studies

have focused on the tumor microenvironment as a potential novel target that may lead to cure for pancreatic cancer.

The present report reviews the pancreatic tumor microenvironment from the perspective of each stromal component, particularly immune cells. A potential breakthrough therapy targeting the microenvironment is discussed. Figure 1 shows a graphical abstract.

2 | ROLE OF DESMOPLASTIC STROMA IN THE DEVELOPMENT OF PANCREATIC CANCER

Desmoplastic stroma consists of stromal cells and extracellular matrix. The fibroblastic population may comprise 90% of the whole tumor mass of pancreatic cancer.³ Wu et al⁴ reported that the extent of stroma can offer a prognostic factor for patients with solid cancers.

The extracellular matrix consists of a variety of materials such as collagen, integrin, laminin, fibronectin, glycosaminoglycan,

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2019 The Authors. Annals of Gastroenterological Surgery published by John Wiley & Sons Australia, Ltd on behalf of The Japanese Society of

Gastroenterological Surgery.

130 www.AGSjournal.com

Ann Gastroenterol Surg. 2019;3:130–137.

諏訪雄亮 (平成19年卒)

Stage Ⅲ大腸癌術後SOX療法の投与量及び 治療期間最適化へのランダム化比較第 Ⅱ 相試験

諏訪雄亮^{1,2}, 渡邊 純¹, 中川和也², 諏訪宏和³, 小澤真由美², 樅山将士⁴, 石部敦士¹, 菅野伸洋¹, 長嶺弘太郎⁵, 山岸 茂⁶, 大田貢由⁷, 福島忠男⁸, 関戸 仁⁹, 三枝祐輔¹⁰, 遠藤 格²

- 1) 横浜市立大学附属市民総合医療センター 消化器病センター外科
- 2) 横浜市立大学大学院 消化器·腫瘍外科学
- 3) 国家公務員共済組合連合会横須賀共済病院 外科
- 4) NTT 東日本関東病院 外科
- 5) 公益社団法人横須賀市立市民病院 外科

- 6) 藤沢市民病院 外科
- 7) 横浜市立みなと赤十字病院 外科
- 8) 社会福祉法人恩賜財団済生会横浜市南部病院 外科
- 9) 独立行政法人国立病院機構横浜医療センター 外科
- 10) 横浜市立大学・臨床統計学

Background: The recent combined analysis by the IDEA Collaboration for stage III colon cancer suggested that shortening the oxaliplatin (L-OHP) based adjuvant (Adj) chemotherapy may be possible. And S-1 and L-OHP treatment (SOX)+Bevacizumab (Bev) was shown to be non-inferior to FOLFOX+Bev as 1st-line chemotherapy to metastatic colorectal cancer patients. The aim of this study was to optimize treatment dosage and duration of adj SOX in patients with stage III colon cancer.

Methods: This trial was as open-label multi-center randomized phase II study (UMIN000013825). Patients who had undergone curative resection for stage III colon cancer were randomly assigned to 3-month or 6-month of adj SOX delivered every 3 weeks in different doses. Treatment in SOX included intravenous infusion of 130mg/m² (3-month) or 100mg/m² (6-month) of L-OHP on day1 and S-1 80mg/m² twice a day from day1 to 15. The primary endpoint was 3-year disease-free survival (DFS). The null hypothesis for the primary endpoint was that threshold 3-year DFS was 72% in each arm with a one-sided a of 10%.

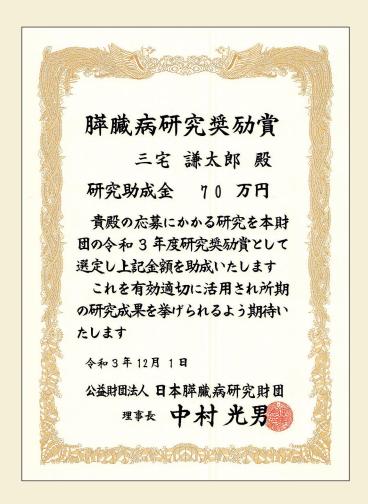
Results: From May, 2014, to November, 2017, 163 eligible patients were enrolled. 8 cases were excluded. Of the 155 patients, 76 were assigned to the 6-month and 79 to the 3-month arm. The median follow-up for all patients was 52.1 months. The 3-year DFS was 75.0% (80%CI 67.95-80.72%, p=0.282) in the 6-month and 76.9% (80%CI 70.1-82.38%, p=0.171) in the 3-month arm and 3-year OS was 97.3% and 97.4%. Treatment completion rate was 73.7% and 86.1% (p=0.070), and the mean RDI of L-OHP and S-1 were 77.4% and 76.9%, and 85.0% and 82.6, relatively (p=0.002, p=0.030). The rate of grade III and more AE was 42.1% and 34.2% (p=0.326).

Conclusions: The 3-year DFS was not significantly superior to 72% in 3-month and 6-month arms. RDI was significantly greater in 3-month and the grade \geq 3 AE was similar. SOX adj chemotherapy for 3-month with 130mg/m² of L-OHP was feasible and safe compare to for 6-month with 100mg/m² dose.

令和3年度 膵臓病研究奨励賞(公益財団法人 日本膵臓病研究財団)

三宅謙太郎 (平成19年卒)

研究課題:化学放射線療法後の膵癌局所免疫におけるIRF-5の抗腫瘍効果の解明



笠原康平 (平成21年卒)

腹腔鏡補助下幽門輪温存胃切除術の栄養状態に関する検討

笠原康平¹, 小坂隆司¹, 秋山浩利¹, 田村裕子¹, 石部敦士¹, 近藤裕樹², 佐藤 涉², 田中優作², 佐藤 圭², 佐藤 勉², 國崎主税², 遠藤 格¹

- 1) 横浜市立大学 消化器・腫瘍外科学
- 2) 横浜市立大学医学部附属市民総合医療センター 消化器病センター外科

目的:腹腔鏡補助下幽門輪温存胃切除術 (LAPPG) と腹腔鏡 (補助) 下幽門側胃切除術 (L(A)DG) の周術期安全性と術後栄養状態を明らかにすること。

方法: 当施設において2010年1月~2019年12月に胃癌に対してLAPPGが施行された23例: PPG群と (L(A)DG)が施行された60例: DG群の治療成績を後ろ向きに比較した。

結果: 観察期間の中央値は58.2か月であった。患者背景、腫瘍因子は両群間に有意差を認めなかった。手術時間はPPG群238(198-326)分、DG群で238(172-441)分であり、差は無かった(p=0.889)。Clavien-Dindo分類 Grade Ⅱ以上の術後合併症はPPG群で1例(4.3%:吻合部狭窄1例)、DG群で5例(8.3%:膵液瘻2例、吻合部狭窄1例、腸閉塞1例、術後出血1例)であり、術後在院日数はPPG群で12 (8-27) 日、DG群で12 (0-221) 日と有

意差を認めなかった (p=0.519, 0.527)。術後1, 6, 12, 24か月後の体重減少率・PNIはPPG群で5.7%・45.7, 6.6%・50.4, 5.8%・50.4, 5.2%・50.6、DG群で7.1%・46.0, 9.6%・48.0, 10.1%・48.2, 8.7%・48.6であり、PNIには差がなかったものの、術後6, 12, 24か月後の体重減少はPPG群で有意に少なかった (p=0.007, 0.002, 0.022)。胃切除に関連する術後再入院はPPG群で1例 (4.3%)、DG群で5例 (8.3%)と差を認めなかった。両群とも術後60か月以内の転移再発はなく、pStage I 症例 (PPG群22例、DG群52例)に限った5年全生存率ではPPG群が良好であった (PPG群100%、DG群83.1%、p=0.027)。DG群では他病死を7例 (肺炎3例、他癌死2例、術後出血1例、心不全1例) 認めたが、PPG群では他病死を認めなかった。

結論: PPGはDGとの比較でPNIに差はなかったものの体重減少が有意に低く、肺炎による他病死を認めず長期予後も良好であった。M領域早期胃痛に対してはPPGを基本術式とし症例を集積中である。



押 正徳 (平成22年卒)

高齢者乳癌患者におけるリンパ節転移予測因子としての RUFY3遺伝子発現の有用性

押 正徳^{1,3}, 山田顕光¹⁾, Angarita Fernando A³⁾, 木村安希¹⁾, 山本晋也²⁾, 成井一隆²⁾, Edge Stephen B³⁾, 遠藤 格¹⁾, 高部和明^{1,3)}

- 1) 横浜市立大学附属病院 消化器・腫瘍外科学
- 2) 横浜市立大学附属市民総合医療センター 乳腺・甲状腺外科
- 3) ロズウェルパーク癌研究所 外科

Backgrounds: A biomarker that identifies lymph node (LN) metastasis may facilitate decision-making in older patients with early breast cancer. *RUFY3* is associated with cancer progression. We evaluate *RUFY3* expression level as a biomarker for LN-positive breast cancer in older women, which were determined over 75-year-old.

Methods: Clinical and transcriptomic data of breast cancer patients were obtained from the Molecular Taxonomy of Breast Cancer International Consortium (METABRIC, n=1,903) and The Cancer Genome Atlas (TCGA, n=1,046) Pan-Cancer study cohorts. We analyzed the association between *RUFT3* expression and clinicopathological factors.

Results: A total of 510 (METABRIC) and 211 (TCGA) older women were identified. LN-positive breast cancer, which represented 51.4% (METABRIC) and 48.4% (TCGA), demonstrated worse disease-free, disease-specific and overall survival. *RUFY3* levels were significantly lower in LN-positive tumors regardless of age. The area under the curve for the receiver operator characteristic curves showed *RUFY3* predicted LN metastasis with 67.3% sensitivity, 53.4% specificity, 95%CI=0.58-0.68 in METABRIC, and with 66.7% sensitivity, 54.4% specificity, 95%CI=0.50-0.66, in TCGA. Low *RUFY3* enriched oxidative phosphorylation, DNA repair, MYC targets, unfolded protein response, and mtorcl signaling gene sets by Gene set enrichment analysis. Low *RUFY3* was associated with T helper type 1 cell infiltration, and with intratumor heterogeneity and fraction altered score. Low *RUFY3* expression was associated with LN-positive breast cancer and with worse disease specific survival amongst older women.

Conclusions: Low *RUFY3* expression is associated LN-positive in breast cancer. *RUFY3* levels can be used for selection of older breast cancer patients for LN staging.



The 1st place prize in the "Quick Shot" presentation category for 17th Annual Research Day

押 正徳 (平成22年卒)





Articl

A Novel Three-Gene Score as a Predictive Biomarker for Pathologically Complete Response after Neoadjuvant Chemotherapy in Triple-Negative Breast Cancer

Masanori Oshi ^{1,2}, Fernando A. Angarita ¹, Yoshihisa Tokumaru ^{1,3}, Li Yan ⁴, Ryusei Matsuyama ², Itaru Endo ² and Kazuaki Takabe ^{1,2,5,6,7,8,*}

- Department of Surgical Oncology, Roswell Park Cancer Institute, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263, USA; masa1101oshi@gmail.com (M.O.); fernando.angaritacelis@roswellpark.org (F.A.A.); Yoshihisa.Tokumaru@roswellpark.org (Y.T.)
- Department of Gastroenterological Surgery, Yokohama City University Graduate School of Medicine, Yokohama, Kanagawa 236-0004, Japan; ryusei@yokohama-cu.ac.jp (R.M.); endoit@yokohama-cu.ac.jp (I.E.)
- Department of Surgical Oncology, Graduate School of Medicine, Gifu University, Gifu 501-1193, Japan
- Department of Biostatistics & Bioinformatics, Roswell Park Cancer Institute, Elm & Carlton Streets, Buffalo, NY 14263, USA; li.yan@roswellpark.org
- Department of Surgery, University at Buffalo, The State University of New York Jacobs School of Medicine and Biomedical Sciences, Buffalo, NY 14263, USA
- $^{\,6}$ $\,$ Department of Breast Surgery and Oncology, Tokyo Medical University, Tokyo 113-8654, Japan
- Department of Surgery, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata 700-8558, Janan
- Department of Breast Surgery, Fukushima Medical University, Fukushima 960-1295, Japan
- * Correspondence: kazuaki.takabe@roswellpark.org; Tel.: +1-716-8455540; Fax: +1-716-8451668

Simple Summary: Neoadjuvant chemotherapy is now a standard of care not only to decrease tumor size for breast conserving operation but also to assess drug response of an in situ cancer. Although the triple-negative subtype typically responds better compared to the other subtypes, a pathological complete response, which is a surrogate of survival, is achieved in less than half of the cases. For the most efficient patient selection, and avoiding unnecessary side effects and financial toxicity, an accurate predictive biomarker is urgently needed. We developed a novel three-gene score that associated with immune cell infiltration and pathological complete response not only in the training cohort but also in the validation triple-negative cohort. High-score TNBC was significantly associated with better survival in patients who received chemotherapy but not in patients who did not receive chemotherapy. Our score is a predictive and prognostic biomarker of response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer patients.

Abstract: Although triple-negative breast cancer (TNBC) typically responds better to neoadjuvant chemotherapy (NAC) compared to the other subtypes, a pathological complete response (pCR) is achieved in less than half of the cases. We established a novel three-gene score using genes based on the E2F target gene set that identified pCR after NAC, which showed robust performance in both training and validation cohorts (total of n = 3862 breast cancer patients). We found that the three-gene score was elevated in TNBC compared to the other subtypes. A high score was associated with Nottingham histological grade 3 in TNBC. Across multiple cohorts, high-score TNBC enriched not only E2F targets but also G2M checkpoint and mitotic spindle, which are all cell proliferationrelated gene sets. High-score TNBC was associated with homologous recombination deficiency, high mutation load, and high infiltration of Th1, Th2, and gamma-delta T cells. However, the score did not correlate with drug sensitivity for paclitaxel, 5-fluorouracil, cyclophosphamide, and doxorubicin in TNBC human cell lines. High-score TNBC was significantly associated with a high rate of pCR not only in the training cohort but also in the validation cohorts. High-score TNBC was significantly associated with better survival in patients who received chemotherapy but not in patients who did not receive chemotherapy. The three-gene score is associated with a high mutation rate, immune cell infiltration, and predicts response to NAC in TNBC.



Citation: Oshi, M.; Angarita, F.A.;
Tokumaru, Y.; Yan, L.; Matsuyama, R.;
Endo, I.; Takabe, K. A Novel
Three-Gene Score as a Predictive
Biomarker for Pathologically
Complete Response after
Neoadjuvant Chemotherapy in
Triple-Negative Breast Cancer.
Cancers 2021, 13, 2401. https://
doi.org/10.3390/cancers13102401

Academic Editor: Theodoros Foukakis

Received: 29 April 2021 Accepted: 14 May 2021 Published: 16 May 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Cancers 2021, 13, 2401. https://doi.org/10.3390/cancers13102401

https://www.mdpi.com/journal/cancers

千田圭悟 (平成24年卒)

Low Tumor Mutational Burdenと*PTEN*変異はMSI-H/dMMR消化器腫瘍に対するPD-1阻害薬への耐性予測因子となる

千田圭悟^{1,2)}, 川添彬人²⁾, 鈴木利宙¹⁾, 中村能章²⁾, 久保木恭利²⁾, 小谷大輔²⁾, 設楽紘平²⁾, 吉野孝之²⁾, 中面哲也¹⁾

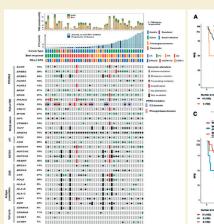
- 1) 国立がん研究センター先端医療開発センター 免疫療法開発分野
- 2) 国立がん研究センター東病院 消化管内科

Compared with wild-type *PTEN*, *PTEN* mutations in the phosphatase domain were associated with significantly lower ORRs (12.5 vs. 54.8%; P<0.049), shorter PFS (2.6 vs. 15.6 months; HR, 5.04; P<0.001), lower intratumoral CD8 T-cell levels, higher intratumoral CD204+ macrophage levels, and PI3K/AKT/mTOR pathway enrichment, whereas *PTEN* mutations in the C2 domain were not. In conclusion, *PTEN* mutations, especially mutations in the phosphatase domain associated with an immunosuppressive environment, might be negative predictors of PD-1 blockade responses in patients with MSI-H/dMMR GI tumors.

【背景・目的】 Microsatellite instability High (MSI-H) やミスマッチ修復欠損 (dMMR) 腫瘍では、複数の遺伝子に多数の遺伝子変異が生じ腫瘍の微小環境におけるネオアンチゲンの発現、CD8+T細胞の浸潤の増加、免疫チェックポイント分子の発現が亢進し (1、2)、PD-1阻害剤などの免疫チェックポイント阻害剤は、MSI-HまたはdMMRの消化器 (GI) 腫瘍の生存率を改善することが示されている。腫瘍の免疫原性の指標となる腫瘍変異負荷 (TMB) は、MSIの状態とは関係なく、PD-1阻害剤の効果と関連することが報告されている。しかしながら、MSI-H/dMMR GI腫瘍に対する免疫チェックポイント阻害剤の有効性を予測するバイオマーカーはまだ確立されていない。そのため、本研究では、MSI-H/dMMR 消化管 (GI) 腫瘍における免疫チェックポイント阻害剤への反応の予測因子を明らかにするため、PD-1阻害剤を投与された患者を対象として、whole exome sequencing (WES) またはnext generation sequensing (NGS)、トランスクリプトーム解析、マルチプレックス蛍光免疫組織化学 (IHC) を行った。

【材料と方法】GI腫瘍のゲノムプロファイリングは、全ゲノムシークエンス(WES)またはターゲット次世代シークエンス(NGS)で行った。腫瘍微小環境は、トランスクリプトーム解析とマルチプレックス蛍光 (IHC)で評価した。MSIステータスは、Promega MSI分析システム(MSI検出用の5つのモノヌクレオチドマーカー:BAT-25、BAT-26、NR-21、NR-24、MONO-27)を用いて分析し、最低2つのマーカーで不安定性が認められた場合、腫瘍はMSI-Hに分類した。また、MLH1、MSH2、PMS2、MSH6のいずれかが発現していない腫瘍をdMMRとした。WESでは、GeneRead DNA FFPE Kitを用いてFFPE標本からゲノムDNAを分離し、調製したライブラリのシークエンスはNovaSeq 6000システムで行った。TMBは、WES、Oncomine™ Cancer Research Panel、またはFoundationOne®Liquidにおける、インデルを含む非同義変異の総数(muts/Mb)とし、TMB-highは、これらのアッセイで10 muts/Mb以上と定義した。さらに、マルチプレックス蛍光IHC ではCD3、CD4、CD8、CD204、サイトケラチン及びPTENのタンパク質発現レベルを、各モノクローナル抗体を用いたで評価した。

【結果】Totalで45例 [胃癌 (18例)、大腸癌 (17例)、十二指腸癌 (1 例)、小腸癌 (2 例)、胆管癌 (5 例)、膵癌 (2 例)」が解析された。腫瘍標本は、PD-1阻害薬前の原発巣から採取され、23人は生検標本、22人は手術標本であった。40例の腫瘍サンプルでWESを実施し、33人の患者からはNGSの結果を収集した。コホート全体の客観的奏功率 (ORR) および病勢制御率 (DCR) はそれぞれ44.4%、84.4%であった。解析時点での追跡期間の中央



| The second column | The

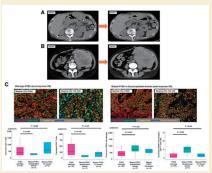


Figure 1. Comprehensive molecular characterization of MSI-H or dMMR GI tumors with PD-1 blockade.

Figure 2. Kaplan-Meier plots of PFS and OS.

Figure 3. CT during treatment and Multiplex fluorescence IHC analysis according to PTEN mutations.

値は25.3カ月で、PFSの中央値は9.6カ月、OSの中央値は23.2カ月であった。TMB-low症例は、TMB-high症例に比べて、ORRが低く (0 vs 48.8%)、無増悪生存期間 (PFS) が有意に短かった (2.3 vs 15.6カ月、ハザード比 (HR): 6.20、P=0.002)。遺伝子変異では、PTEN変異のみがORR低下と有意に関連していた (21.4 vs 54.8%、Odds: 4.45、P=0.045)。また、野生型PTENと比較してホスファターゼドメインにおけるPTEN変異は、ORRの有意な低下 (12.5 vs 54.8%、P=0.049)、PFSの短縮 (2.6 vs 15.6カ月、HR: 5.04、P<0.001)、腫瘍浸潤CD8+T細胞の低下、腫瘍浸潤CD204+マクロファージの増加、PI3K/AKT/mTOR経路のactivationと関連していたが、PTEN C2ドメイン変異とは関連していなかった。

【考察】我々のコホートでは、TMB-low腫瘍はTMB-high腫瘍とよりもPFS、OSが短縮しており、MSI-H/dMMR 大腸癌に関する報告と一致していた(2)。また、KEYNOTE-158試験ではTMB-high固形がんは、TMB-low腫瘍よりも高いORR [30.3% (MSSでは27.1%) 対6.7%] と関連することが示され、TMB-high固形がんの治療に対するペンプロリズマブのFDA承認につながった(3)。我々の研究とKEYNOTE-158の結果から、MSI-H/dMMRとMSS/pMMRの両方の腫瘍において、TMBが免疫チェックポイント阻害剤の有用なバイオマーカーとなる可能性を示唆している。しかし、最適なカットオフ値、およびTMBがこれらの薬剤の有効性に及ぼす影響については、より大規模なコホートでのさらなる調査が必要である。また、PTEN変異のみが、TMB-low腫瘍と相互排他的に、ORR低下と有意に関連していた。注目すべきは、我々の研究ではホスファターゼドメインにおけるPTEN変異は、野生型PTENに比べて、ORRが有意に低く、PFSとOSの短縮を有意に関連していたが、C2ドメインにおけるPTEN変異は関連していなかったことである。さらに、ホスファターゼドメインおけるPTEN変異を有する腫瘍では、腫瘍浸潤CD8+ T細胞が有意に少なく、腫瘍関連マクロファージが増加するなど、免疫抑制的な腫瘍微小環境が観察された。これらの結果はglioblastomaやmelanomaの研究結果と一致する(4,5)。さらに、本研究においてホスファターゼドメインにおけるPTEN変異を有する腫瘍では、PTEN mRNAの発現量が低く、PTENタンパク質の欠損と有意に関連しており、その結果、PI3K/AKT/mTORおよびmTORC1

のシグナル伝達経路がactivationしていると考えられた。これらの知見は、ホスファターゼドメインにおける*PTEN*変異が*PTEN*の機能低下と相関し、PD-1阻害薬に対する抵抗性をもたらすことを示唆している。*PTEN*変異の位置に応じたPD-1阻害薬への反応は、今後の研究でさらに評価する必要がある。

【文献】

- 1. Xiao Y, Freeman GJ. Cancer Discov 2015; 5: 16-18.
- 2. Schrock AB, Ouyang C, Sandhu J et al. Ann Oncol 2019; 30: 1096–103.3.
- 3. Marabelle A, Fakih M, Lopez J et al. Lancet Oncol 2020; 21: 1353-65.
- 4. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D et al. Genome Med 2017; 9:34.
- 5. Vanderwalde A, Spetzler D, Xiao N et al. Cancer Med 2018; 7:746-56.



金 賞 (第23回横浜サージカルビデオフォーラム)

大石裕佳 (平成26年卒)

腹腔鏡下胆嚢摘出術の検討

大石裕佳

国立病院機構 横浜医療センター



腹腔鏡下胆嚢摘出術は腹腔鏡下手術でも若手外科医師による施行頻度の高い術式である。胆道損傷した際には 腹腔鏡下で胆道修復を行うのは著しく困難となるため、安全に手術を完遂する必要がある。当院での腹腔鏡下胆 嚢摘出術について術中のビデオを供覧し、当院での定型化した手術の方法を提示した。

当院での腹腔鏡下胆嚢摘出術の特徴的なポイントとしては ①4Kハイビジョンモニターを使用し、高精細な画面で手術を行う点、②術中胆道造影を全例で行い造影の際にコラジオカテーテルを挿入する点が上げられる。これは総胆管結石の有無のみならず胆道損傷の有無を確認する目的で全例に施行している。術中は剥離の際に解剖を意識し剥離を行うこと、他臓器を損傷しないように鉗子操作をショートピッチで行うこと、切離の際は切離組織の背側やその周辺組織の解剖を確認し、安全に手術することを念頭に上げている。

なお、当院の2019年1月から12月に施行した腹腔鏡下胆嚢摘出術は98例で、主に胆石症・胆嚢ポリープの症例に対し施行した。手術時間は平均98.4分、出血量は少量(中央値、0-350ml)、術後在院日数は3日(中央値、3-13日)であった。また、合併症についてもClavien-Dindo分類GradeⅢ以上のものは認めなかった。

銀 賞(第23回横浜サージカルビデオフォーラム)

窪田硫富人(平成29年卒)

Zoneを意識したCVSのアプローチ

窪田硫富人

済生会横浜市南部病院



当科での腹腔鏡下胆嚢摘出術(Lap-C)は年々増加しており、昨年では全胆嚢敵摘出術のうち98%がLap-Cであった。緊急症例でみてもLap-Cのうち25%が緊急であり、緊急でのLap-Cの必要性は高まっていると考えられる。

当科のLap-Cは4ポートで行い、症例にもよるがカメラポート以外は5mmのポートを用いる。また術者みぎ手のポートは心窩部ではなくひだり肋弓下より挿入する。

最近当科で始めた試みとしてCritical view of safety (CVS) の確認に至るまでの過程を 3つのZoneに分けて意識するように行っている。ハルトマン嚢の頂点、胆のう頚部背側、Calot's 三角の上部これらを 3つのZoneとして認識し、それぞれを A、B、Cと呼称している。これら 3つのZoneが安全かつ簡単にSS-innerの層に入りやすい場所であり、それぞれでSSiを出していく。SSiに入ったところでZone同士を繋げることで確実にSSiを捉えながらCVSを確認することが出来る。こういったことを意識して普段からLap-Cを行っている。

このように普段から定型化しトレーニングを行うことで年々需要の高まっている緊急症例にも対応しうると考えられる。

■ 文部科学省科学研究、厚生労働省科学研究班、および財団からの科学研究費

<科学研究等取得一覧-2021年度分>

文部科学省科学研究費 遠藤 格 膵癌における癌局所免疫が果たす役割の解明

基盤研究(C) 松山 隆生(分担)

本間 祐樹(分担) 廣島 幸彦(分担)

文部科学省科学研究費 石部 敦士 排便時ガスによる大腸癌新規診断法の研究

基盤研究(B) 渡邊 純(分担)

文部科学省科学研究費 三宅謙太郎 メチオニン制限による膵癌新規治療の開発

若手研究

文部科学省科学研究費 本間 祐樹 エンハンサー解析手法を用いた膵胆管合流異常

若手研究での発癌メカニズムの解明

文部科学省科学研究費 山田 顕光 腫瘍内細菌叢が腫瘍微小環境を介して乳癌幹細

若手研究 胞に及ぼす影響

文部科学省科学研究費
小澤真由美
大腸癌における硫黄代謝物に関する研究

若手研究

文部科学省科学研究費 澤田 雄 肝細胞癌手術患者における免疫エフェクター細

若手研究 胞とアディポサイトカインの検討

文部科学省科学研究費 清水 康博 血中TFPI2を用いた新規膵癌バイオマーカーの

若手研究 開発

日本医療研究開発機構 (AMED) 遠藤 格 創薬シーズ創出基盤 (がんシーズ創出研究:消

次世代治療・診断実現のための 化器がん原因微生物探索)

創薬基盤技術開発事業

日本膵臓病研究財団 三宅謙太郎 化学放射線療法後の膵癌局所免疫におけるIRF-5

膵臓病研究奨励賞の抗腫瘍効果の解明

AMED 革新的がん医療実用化 國崎 主税 局所進行胃癌に対する術前化学療法の有効性を

研究事業検証する臨床第Ⅲ相試験

AMED 革新的がん医療実用化 渡邉 純 Stage Ⅱ 大腸癌に対する術後補助化学療法の有

研究事業 用性に関する研究

科研費 エンハンサー解析手法を用いた大腸癌リンパ節

基盤研究 (C) (一般) 転移の有無による原発巣の差異の解明