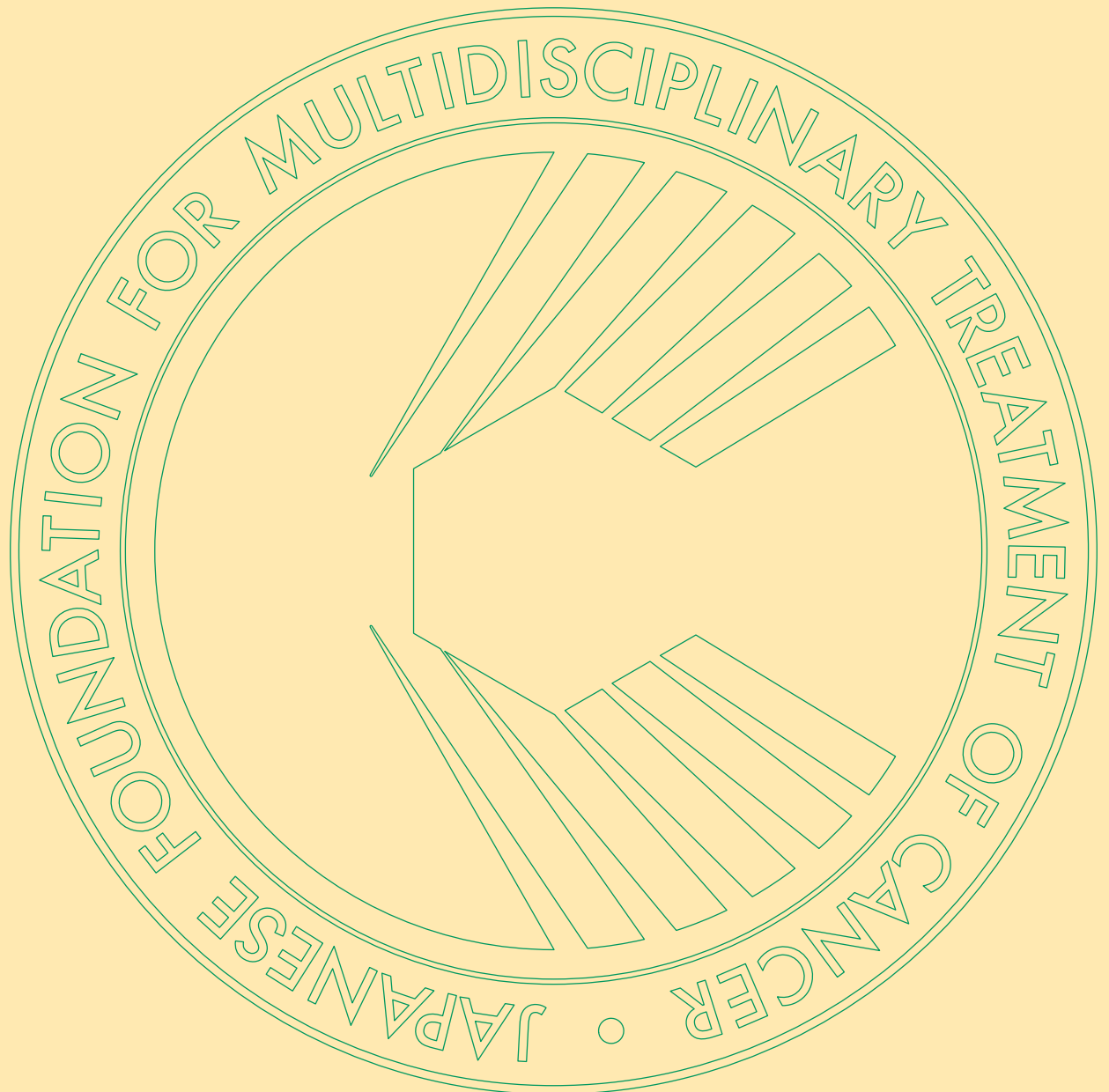


Advances in Cancer Treatment

がん治療のあゆみ

2021/第41回一般研究助成



41

公益財団法人 がん集学的治療研究財団

巻 頭 言

理事長 山 岸 久 一

公益財団法人がん集学的治療研究財団（以下財団）の元祖は、一般財団法人として1980年（昭和55年）に井口 潔 九州大学名誉教授を理事長として設立され、2013年（平成25年）に佐治重豊 岐阜大学名誉教授が理事長の時に公益財団法人となり今日に至っております。公益財団法人として求められている事は、①公益性（利を得ない事）と②透明性の維持であります。

本財団設立当初から、研究助成事業を開始し、今年で42年になりますが、研究事業515件に対しまして総額6億6,600万円の助成をしてまいりました。対象課題は、臨床応用が可能となり得る「がんの集学的治療」に関する研究を広く一般公募して、一般研究選考委員会（選考委員長 掛地吉弘 神戸大学大学院医学研究科 教授）で厳正に評価し、公平性・透明性を保つ目的で選考委員会議事録には選考経緯や理由等の記録を保存して頂いております。

選考委員会の先生方には、公募一題一題につき十分な議論の上評価していただきましたことに対して厚く敬意を表すとともに感謝致しております。

本日お届けしました「がん治療のあゆみ第41巻」は、2020年度受賞者の研究成果報告であります。応募件数72件（がん薬物療法部門62件、医療機器部門10件）の中から厳選された6題の研究成果であり、今回の研究内容は1) 肺癌免疫療法の効果予測、2) 大腸癌における耐性シグナル解析、3) 膵癌とサルコペニアの相互作用と分子標的治療薬の開発、4) 白血病に対するスプライシング阻害療法、5) 大腸癌肝臓転移に対する二期的肝切除および膵癌における免疫学的腫瘍微小環境、6) がん免疫療法耐性の解明と新規治療法の開発などの研究でありました。

それぞれに非常に興味深い結果が得られていますので、ご高覧頂き、ご批判賜れば、幸甚に存じます。

結びに、2021年度の一般研究助成金授与式は、新型コロナウイルス感染拡大防止の観点より、オンラインにて実施いたしました。財団理事・役員、選考過程でご尽力頂きました選考委員の先生方にもご参加賜りましたことに心より感謝申し上げます。また、優れた研究を推進する受賞者の方々、関係された多くの方々に深謝申し上げます。

今後とも当財団へのご支援・ご指導を賜ります様、何卒宜しくお願い申し上げます。

2022年3月31日

選 考 経 過 報 告

一般研究選考委員会

選考委員長 掛 地 吉 弘

選考経過をご報告申し上げます。

従来より、対象課題として臨床応用が可能となりうる「がんの集学的治療」に関する研究を募集していましたが、2020年度より「がん薬物療法部門」に加え医療環境の変化に対応すべく「医療機器部門」を新設いたしました。応募総数72件（がん薬物療法部門62件、医療機器部門10件）の非常に多数の応募をいただきました。応募締め切りは8月31日で、その72件全ての応募書類のコピーを事務局で集計し、全ての選考委員に送付し、事前評価をしていただきました。その事前評価では、絶対評価のほかに評価が偏らないように相対的な評価を行って、採点をお願いしております。その選考結果を事務局で集計し、去る2020年10月6日に第45回一般研究選考委員会を開催いたしました。選考委員が上位から一題ずつ議論を充分に行って、そして厳正に評価を行いました。非常に甲乙つけ難いようなレベルの高い申請が集まりました。この選考委員会の議事録は、公平性及び透明性を考慮し、経緯や理由については記録して保存しております。

その結果、6件の応募課題を助成対象候補として理事会に上申し、承認いただきました。

そして、1年後の2021年12月10日に第41回一般研究発表会をオンラインにて開催し、研究結果を発表していただきました。その研究報告書を本冊子にまとめました。

助成金を受領された先生方をお願いします。

研究論文を発表される際に、「がん集学的治療研究財団助成金」の補助を得たという旨を明記していただくようお願いいたします。先生方の業績に加わるとともに、財団からのこの助成金のがんの治療研究に役立ち、社会に貢献しているものと推察しております。本財団は公益法人ですので、acknowledgementにその旨をしっかりと付記していただくことが、重要な意味を持っております。

最後になりましたが、助成された6名の先生方、本当におめでとうございます。また、この素晴らしい先生方をご推薦いただきました施設代表者の先生方にも厚くお礼申し上げます。

がん治療のあゆみ 目次

巻頭言 理事長 山 岸 久 一

選考経過報告 一般研究選考委員会・選考委員長 掛 地 吉 弘

〔がん薬物療法部門〕

- 両葉多発大腸癌肝転移に対する2期的肝切除および膵癌における免疫学的腫瘍微小環境の検討 今 井 克 憲 1
熊本大学大学院
消化器外科学

- 大腸癌におけるKRAS G12C 選択阻害剤 AMG510 の耐性シグナルの解析 北 沢 将 人 8
信州大学医学部附属病院
消化器外科

- IFN- γ シグナル異常によるがん免疫療法耐性の本態解明と克服のための新規治療開発 富 樫 庸 介 16
岡山大学学術研究院医歯薬学域
腫瘍微小環境学分野

- 膵癌関連線維芽細胞とサルコペニアとの相互作用の解明と革新的分子標的治療薬の開発 間 野 洋 平 22
九州がんセンター
肝胆膵外科

- IDH 阻害剤抵抗性白血病を克服するスプライシング阻害療法の開発 吉 見 昭 秀 27
国立がん研究センター 研究所
がんRNA 研究ユニット

〔医療機器部門〕

- 深層学習による肺癌免疫療法の効果予測 AIの開発 豊 川 剛 二 34
福岡病院
外科

両葉多発大腸癌肝転移に対する 2 期的肝切除 および臍癌における免疫学的腫瘍微小環境の検討

今井 克憲*

要旨 免疫学的腫瘍微小環境を詳細に解明していくことは、今後の癌治療の発展において不可欠である。本研究では大腸癌肝転移に対する 2 期的肝切除において、強力な肝再生刺激が加わる前後での免疫学的微小環境のダイナミックな変化の検証を目的に、国際共同研究を計画した。しかし昨今の COVID-19 事情により研究が頓挫するという事態となった。そこで対象を臍癌に変更し、臍癌の免疫学的腫瘍微小環境の解明からターゲットを探索した。その結果、臍癌における PD-L1 発現は予後に相関し、腫瘍関連マクロファージが TNF- α を分泌、NF- κ B 経路を介して臍癌細胞における PD-L1 発現を増強し、immunotolerance を惹起することを解明した。TNF- α /NF- κ B 経路は肝再生において非常に重要な役割を果たすことが知られており、今後 2 期的肝切除時のダイナミックな免疫学的腫瘍微小環境を解明していく上で、この TNF- α /NF- κ B 経路に着目して研究を進めていく予定である。

はじめに

両葉多発大腸癌肝転移に対する 2 期的肝切除は、計画的に手術を 2 段階に分け、通常 1 期目で残存予定の肝葉の腫瘍切除を行い、同時に対側の切除予定肝の門脈を結紮・塞栓することにより、残存予定肝の肥大が得られる。そこで 2 期目の手術として、塞栓した肝葉の切除を行うものである (図 1)¹⁾。近年はさらに、

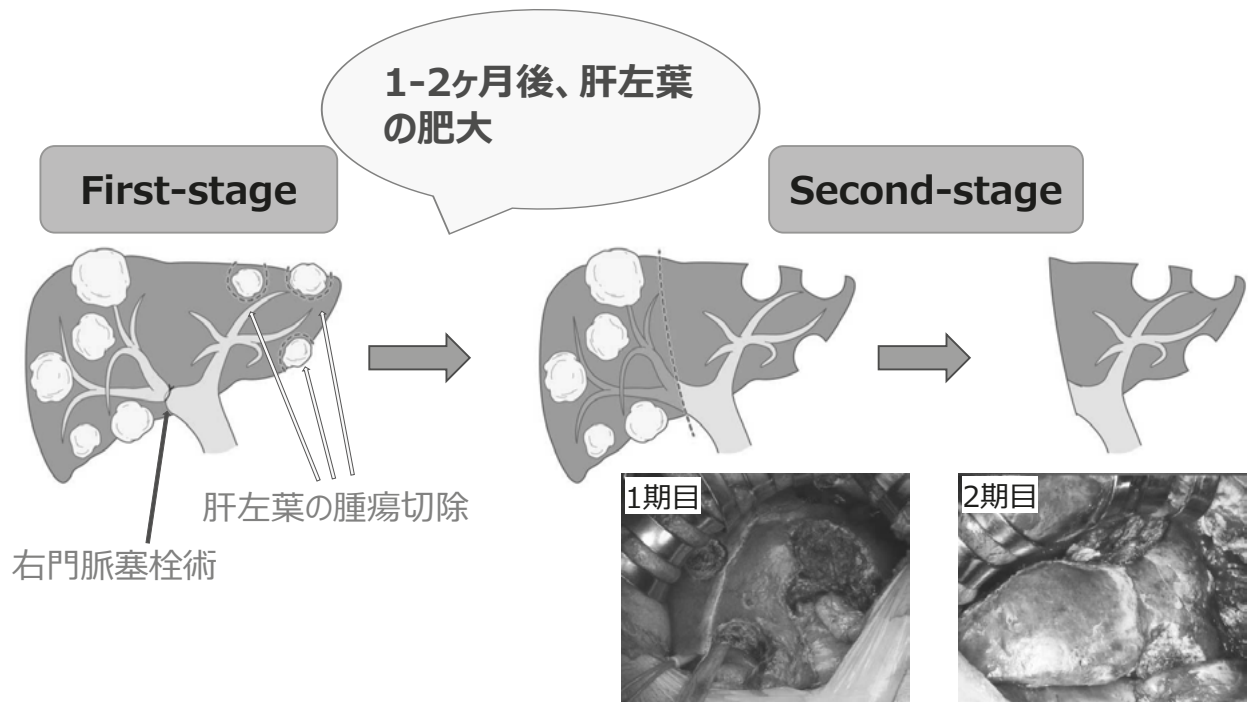


図 1 大腸癌両葉多発肝転移に対する 2 期的肝切除

より急速な肝再生を促すため stage 1 で門脈結紮に肝実質切離を加える ALPPS 手術が開発され、欧州を中心に広まっている。これにより、通常1回の手術では切除不可能な病変に対してすべての病変の切除が可能となり、両葉多発の進行大腸癌肝転移に対して根治を目指せる手術法である。しかし、残肝に非常に強い肝再生刺激が加わることによって、残肝における癌増殖を引き起こされ、肝再生とともに残存肝における癌の急速な再発・増大を招く可能性がある²⁾。

癌は、癌細胞のみでなく、線維芽細胞や各種リンパ球、樹状細胞、腫瘍関連マクロファージ、Myeloid-derived suppressor cell (MDSC) 等の免疫担当細胞、および関連するサイトカイン、ケモカインが複雑に相互作用し、免疫学的な腫瘍微小環境を構成している³⁾。そこで、このような急速な肝再生刺激が加わった際に免疫学的腫瘍微小環境に大きな変化が起き、それが癌増殖に影響を及ぼしているのではないかと考えた。2期的肝切除では肝再生が加わる前の Stage 1 と同時に、Stage 2、つまり肝再生が惹起されている状態での切除検体が、同一患者から得られるため、Stage 1 と Stage 2 の癌組織および背景肝組織から検体を採取し、これらを比較することにより、免疫学的腫瘍微小環境がダイナミックに検証できると考えた。しかし、2期的肝切除は本邦では症例数が限られているため、2期的肝切除を世界に先駆けて導入し、100例を超える症例数を有するフランスの Paul Brousse Hospital と国際共同研究を進める計画とした。

しかしながら、昨今の COVID-19 の世界的蔓延によりフランスへの渡航が現実的に不可能となり、始めから研究計画が頓挫するという事態に陥ってしまった。そこで我々は、もう一つの難治癌の代表である膵癌を対象とし、膵癌の免疫学的腫瘍微小環境の研究からターゲットを同定し、渡仏可能となったら本研究を再開する方針とした。

方 法

1. フランス Paul Brousse Hospital にて大腸癌両葉多発肝転移に対して2期的肝切除を施行し、完遂した93例を対象とし、予後解析を行った。
2. 当科にて根治的手術を施行した膵癌235例の切除標本を用いて PD-L1 (#13684; CST, Tokyo, Japan), CD8 (ab4055; Abcam, Tokyo, Japan), CD163 (10D6; Leica, Newcastle, UK) の免疫染色を行い、予後との相関を検証した。
3. ヒト末梢血単核細胞より分離、分化した成熟マクロファージ⁴⁾ を LPS にて活性化後に膵癌細胞株 S2-013 および MIAPACA2 と共培養し、PD-L1 発現を検証した。さらに抗 TNF- α 抗体 (HM2218; Hy-cult Biotech, Wayne, USA) の添加による PD-L1 発現変化の検証を行った。

結 果

I. 両葉多発大腸癌肝転移に対する2期的肝切除の長期成績

Paul Brousse Hospital において2期的肝切除が導入された1992年以降、大腸癌両葉多発肝転移に対して139例で2期的肝切除が予定された。このうち46例が Dropout となり、93例(66.9%)で2期的肝切除が完遂された。Dropout の理由はほとんどが stage 1 後の病勢進行であった。完遂した93例の全生存率は1年:3年:5年 = 93.4:65.1:41.3%、無再発生存率は28.7:12.3:10.5%であった(図2)。以上より、2期的肝切除が完遂されても、7割以上が1年以内に再発することがわかった。再発を来した74例中、術後初回の再発部位は残肝が44例(60.0%)と最も多かった(表1)。

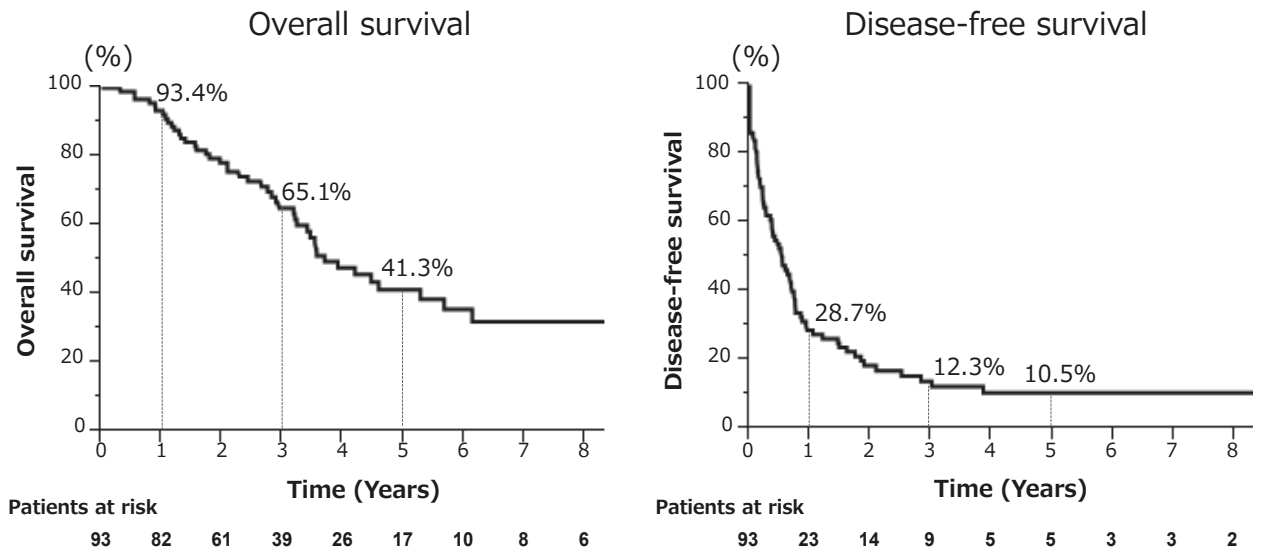


図2 Paul Brousse Hospital における 2 期的肝切除の長期成績

表 1 2 期的肝切除後の初回再発部位

	N=74
first recurrence sites (single/multiple)	55/19
Details of first recurrence site	
Single	
Liver	29
Lung	20
Colorectal local	1
Ovary	1
Bone	1
Brain	1
Lymph node	1
Peritoneum	1
Multiple	
Liver/Lung	10
Liver/Lymph node	4
Lung/Brain	2
Liver/Peritoneum	1
Lung/Colorectal local	1
Lung/Bone	1

この 2 期的肝切除後の早期再発の誘因の一つとして強力な肝再生刺激が癌細胞に与える影響を考え、この機序を免疫学的腫瘍微小環境に着目して解明する予定であった。しかし上述したように、COVID-19 により渡仏が現実的に困難となり、当初の計画が頓挫してしまった。そこで、まずは難治癌の代表である膵癌における、PD-1/PD-L1 を中心とした免疫学的腫瘍微小環境の解明を行う方針とした。

II. 膀胱癌組織におけるPD-L1発現, 腫瘍浸潤リンパ球, 腫瘍関連マクロファージと長期予後

当科における膀胱癌根治切除 235 例を用い, 免疫組織化学染色にてPD-L1の発現解析を行った。その結果, 膀胱癌細胞におけるPD-L1の発現は有意に予後不良と相関していた(図3A)。さらに, CD8陽性の腫瘍浸潤T細胞が多い場合に, PD-L1発現が予後に与える影響が大きいことが示された(図3B)。また, 膀胱癌細胞におけるPD-L1発現は, 腫瘍間質のCD163陽性腫瘍関連マクロファージと有意に相関していた(図4)。

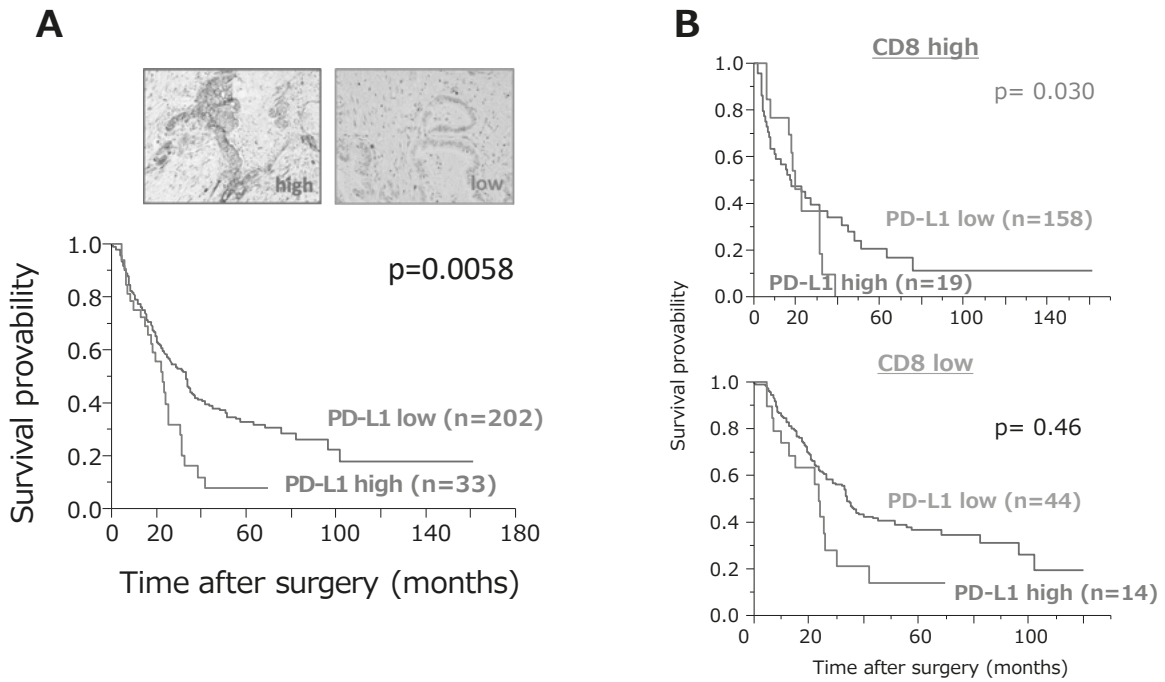


図3 膀胱癌組織におけるPD-L1発現, CD8陽性腫瘍浸潤T細胞と長期予後

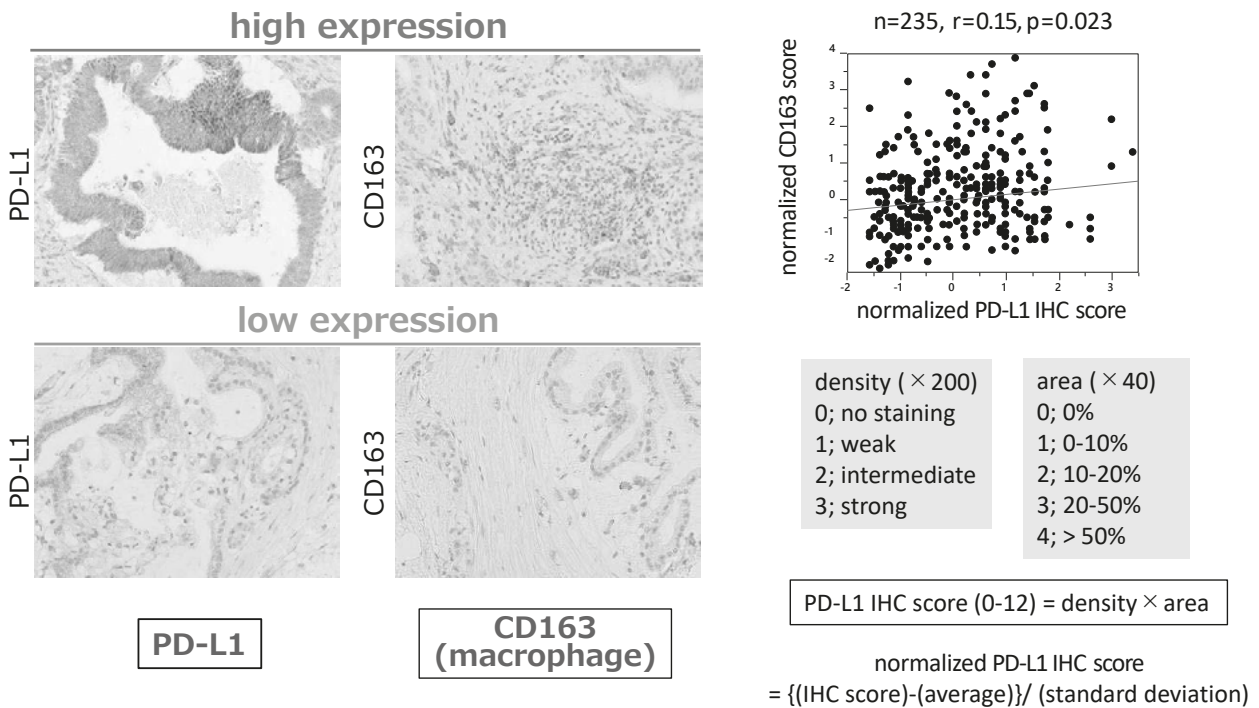


図4 膀胱癌組織におけるPD-L1発現とCD163陽性腫瘍浸潤マクロファージの相関

Ⅲ. 腫瘍関連マクロファージは TNF- α を分泌し、膀胱癌細胞における PD-L1 発現を増強する

そこで、LPSにて活性化させたマクロファージを膀胱癌細胞株と共培養したところ、膀胱癌細胞株におけるPD-L1発現が有意に増強された(図5)。膀胱癌細胞株におけるPD-L1発現はTNF- α により増強されることが確認され(図6)、この共培養の系に抗TNF- α 抗体を添加したところ、PD-L1の発現は有意に抑制された(図7)。さらに、TNF- α によるPD-L1発現は、NF- κ B inhibitorにより有意に抑制された(図8)。以上より、腫瘍関連マクロファージはTNF- α を分泌し、NF- κ B経路を介して膀胱癌細胞におけるPD-L1発現を増強し、immunotoleranceを惹起することがわかった。

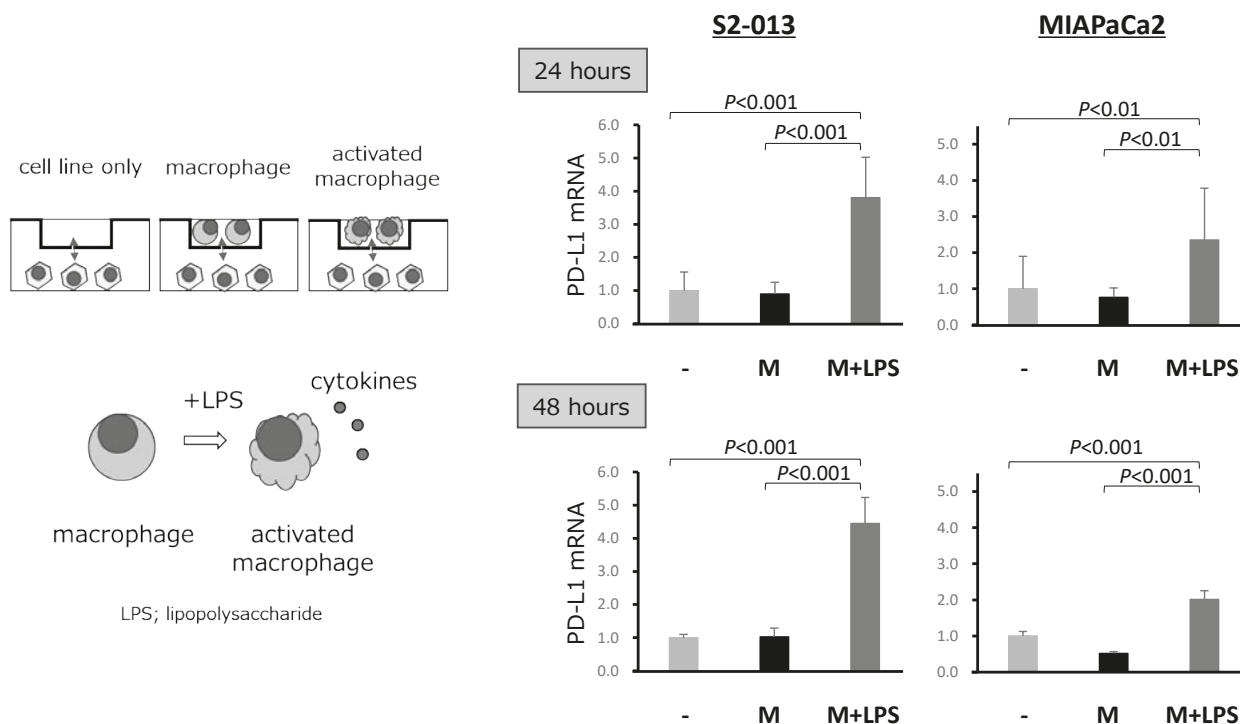


図5 活性化型マクロファージは、膀胱癌細胞株のPD-L1発現を増強する

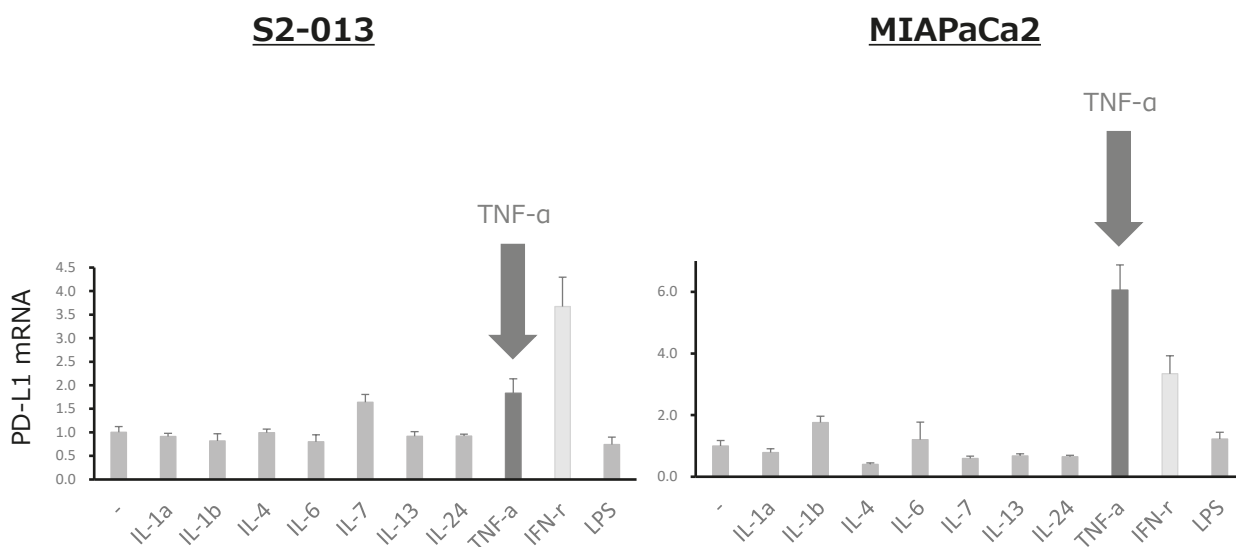


図6 膀胱癌細胞株のPD-L1発現は、TNF- α の添加により増強する

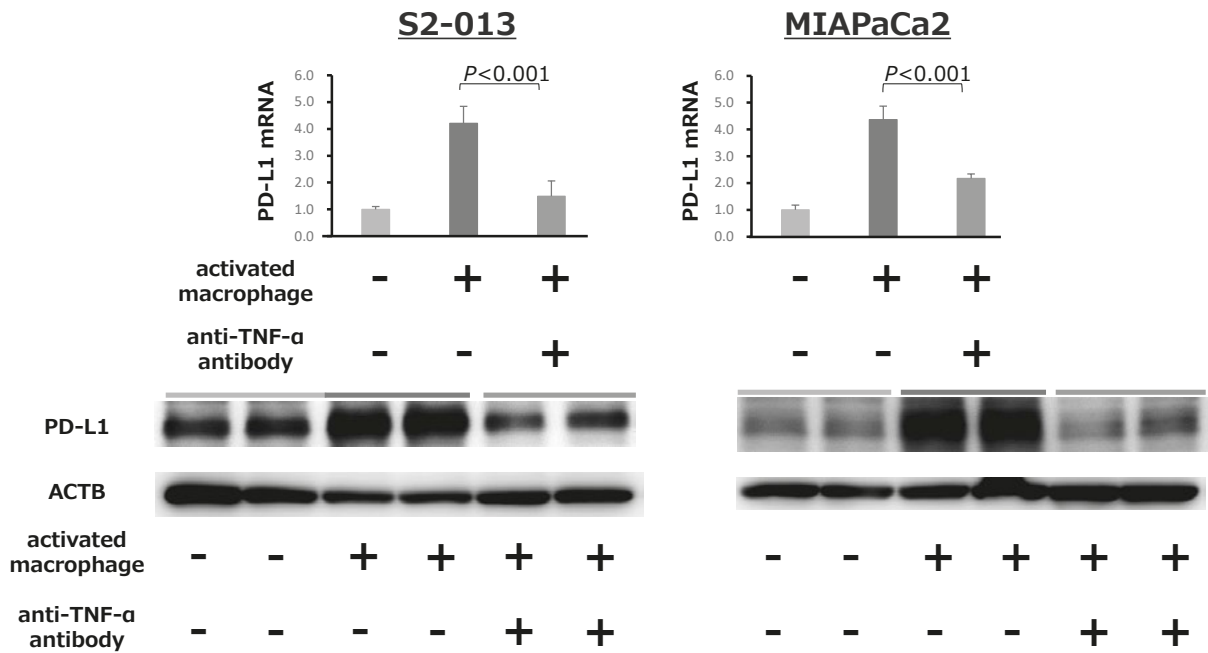


図7 膵癌細胞株のPD-L1発現は、活性型マクロファージとの共培養により増強されるが、抗TNF- α 抗体の添加により抑制される

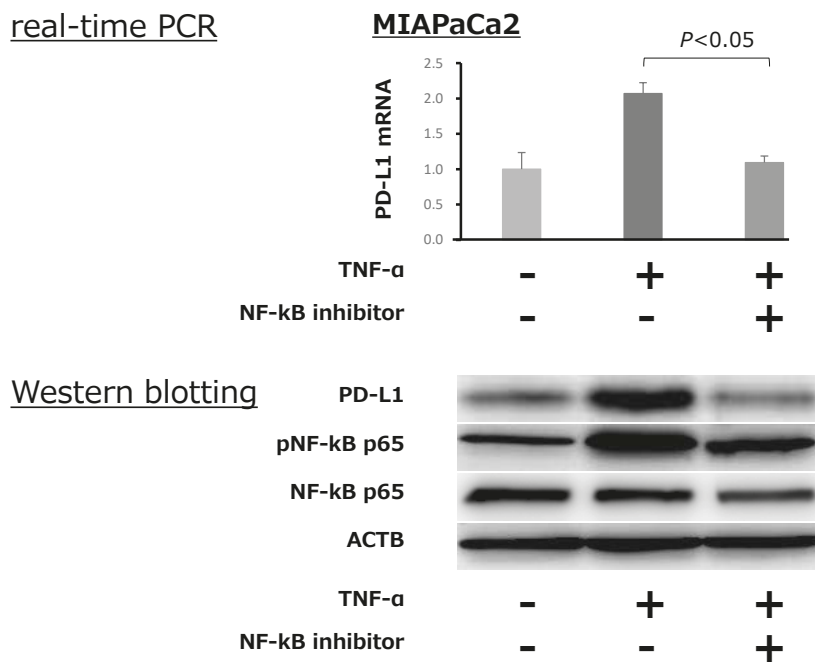


図8 TNF- α によるPD-L1発現は、NF- κ B経路を介する

考 按

本研究では、膵癌切除組織235例における免疫組織染色によって、膵癌におけるPD-L1の発現が有意に予後不良に相関すること、腫瘍関連マクロファージの数と膵癌細胞におけるPD-L1発現が有意に相関することが示された。活性型マクロファージと膵癌細胞株を共培養すると、膵癌細胞株のPD-L1発現が増強され、これは活性型マクロファージが分泌するTNF- α がNF- κ Bを活性化して引き起こされることが示された。このことから、腫瘍関連マクロファージはTNF- α /NF- κ B経路を介して癌細胞におけるPD-L1発現を増強し、immunotoleranceを惹起していると考えられた。

当初の研究の目的は、大腸癌肝転移に対する2期的肝切除において、強力な肝再生刺激の存在下での免疫学的腫瘍微小環境を解明することであった。Stage 1とStage 2の癌組織及び背景肝組織から組織を採取し解析することにより、免疫学的微小環境をダイナミックに検証することができると考えた。しかし、COVID-19の世界的蔓延から渡仏がかなわず、研究計画を一時断念せざるを得なかった。

しかしながら、難治癌の代表である膵癌における免疫学的微小環境の研究から、腫瘍関連マクロファージによるTNF- α /NF- κ B経路活性化がimmunotolerance獲得に重要な役割を担っていることが示された。このTNF- α /NF- κ B経路は、肝再生において非常に重要な役割を果たすことが知られている^{5) 6)}。今後大腸癌肝転移に対する2期的肝切除時のダイナミックな免疫学的腫瘍微小環境を解明していく上で、このTNF- α /NF- κ B経路に着目して研究を進めていきたい。

おわりに

本研究では、免疫学的腫瘍微小環境の一端を担う腫瘍浸潤マクロファージが膵癌細胞におけるPD-L1発現を制御していることが明らかになった。その経路であるTNF- α /NF- κ B経路に焦点を当て、本来の研究テーマであった大腸癌肝転移に対する2期的肝切除における免疫学的腫瘍微小環境のダイナミックな変化を解明していきたい。

文 献

- 1) Imai K, Adam R, Baba H. How to increase the resectability of initially unresectable colorectal liver metastases: A surgical perspective. *Ann Gastroenterol Surg* **3** : 476-86, 2019.
- 2) Kokudo N, Tada K, Seki M, et al. Proliferative activity of intrahepatic colorectal metastases after preoperative hemihepatic portal vein embolization. *Hepatology* **34** : 267-72, 2001.
- 3) Binnewies M, Roberts EW, Kersten K, et al. Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy. *Nat Med* **24** : 541-50, 2018.
- 4) Horlad H, Ma C, Yano H, et al. An IL-27/Stat3 axis induces expression of programmed cell death 1 ligands (PD-L1/2) on infiltrating macrophages in lymphoma. *Cancer Sci* **107** : 1696-704, 2016.
- 5) Webber EM, Bruix J, Pierce R, et al. Tumor necrosis factor primes hepatocytes for DNA replication in the rat. *Hepatology* **28** : 1226-34, 1998.
- 6) Starkel P, Horsmans Y, Sempoux C, et al. After portal branch ligation in rat, nuclear factor kappaB, interleukin-6, signal transducers and activators of transcription 3, c-fos, c-myc, and c-jun are similarly induced in the ligated and nonligated lobes. *Hepatology* **29** : 1463-70, 1999.

大腸癌における KRAS G12C 選択阻害剤 AMG510 の耐性シグナルの解析

北沢 将人*

要旨 最近, KRAS 変異 G12C を標的とした AMG510 の有効性が臨床試験で証明されたが, 大腸癌ではその治療効果が劣ることも明らかになった。本研究は In Vitro で大腸癌細胞における AMG510 と併用効果のある分子標的薬を同定し, AMG510 の耐性メカニズムを明らかにすることを目的とした。ミックスカルチャーアッセイにて AMG510 と併用効果のある薬剤を同定し, ウェスタンブロッティングにて AMG510 耐性の制御分子を解析した。MEK 阻害剤は AMG510 の選択的作用を増強し, BCL-XL 阻害剤を加えた 3 剤併用がさらなる増強効果を示した。また, 抗 EGFR 抗体は単剤では耐性を示したが, AMG510 はそれらの耐性を克服し, 感受性をもたらす可能性が示唆された。大腸癌細胞株に AMG510 投与すると, EGFR が活性化し, MEK/ERK が再活性化したが, MEK 阻害剤の併用により, ERK の再活性化が抑制された。

はじめに

KRAS ドライバー変異は発見されて 40 年近くになるが, 長らく “Undruggable” と称され, 治療標的に成り得ない状況が続いた¹⁾。最近, KRAS 変異 G12C の活性ポケットにはまり込む, 低分子化合物 AMG510 が開発され, 非小細胞肺癌に対しては奏効率 (PR) 33.3%, 病勢安定率 (SD) 57.9% で病勢コントロール率 (DCR) 91.2% と極めて良好な成績であった²⁾。一方, 大腸癌では PR 7.3%, SD 68.3%, DCR 75.6% であり, 非小細胞肺癌ほどの効果は期待できないと考えられた。我々は AMG510 にて誘導される耐性機構を同定し, 同制御分子を阻害することで, 大腸癌においても AMG510 が有効な薬剤となり得ると仮説を立てた。In Vitro でミックスカルチャーアッセイ³⁾という手法を用いて, AMG510 と併用効果のある分子標的薬を検索した。また, 大腸癌細胞における AMG510 の耐性メカニズムをウェスタンブロッティングにて解析した。

対象・方法

1. 細胞株・培養条件

ヒト大腸癌細胞株 CACO-2 細胞 (RAS 野生型) は理研セルバンク, ヒト大腸癌細胞株 SW837 (KRAS G12C) は JCRB 細胞バンク, ヒト細気管支肺胞上皮癌 H358 (KRAS G12C) は ATCC から購入した。CACO-2 は DMEM 培地 (富士フイルム和光純薬), SW837 は Leibovitz's L-15 培地 (富士フイルム和光純薬), H358 は RPMI1640 培地 (Thermo Fisher Scientific) 培地を用い, 10% ウシ胎児血清およびペニシリン/ストレプトマイシン (富士フイルム和光純薬) を加え, 培養は 37°C, 5%CO₂ 条件下で行った。

2. 試薬

AMG510, Trametinib, RMC-4550 はセレックバイオテック, ABT263 は AdooQ Bioscience, Cetuximab は Merck より購入した。FLAG 抗体は富士フイルム和光純薬, p-ERK, p-MEK 抗体は Cell Signaling Technology 社, p-RSK 抗体, β -アクチン抗体は, Santa Cruz Biotechnology 社から購入した。

* 信州大学医学部附属病院 消化器外科

7-AAD は BioLegend 社から入手した。

3. KRAS 変異体・搭載ベクターの構築とレトロウイルスによる遺伝子導入

C 末端に FLAG タグを付加した KRAS-4B は CACO-2 cDNA を鋳型として PCR で増幅した。KRAS-4B は pMXs-IRES-GFP ベクター (Cell Biolab), pDon5-Neo ベクター (Takara) に挿入した。さらに, KRAS 遺伝子変異 G12D, G12V, G13D, G12A, G12C, G12S, Q61H, A146T を作成した^{3) 4)}。パッケージング細胞 Phoenix-AMPHO (ATCC) に遺伝子導入し, レトロウイルス粒子を生成し, レトロネクテン (Takara) を塗布したプレート上で, CACO-2 細胞に感染させた。導入効率は, フローサイトメーターを用いて解析した。第 10 継代前後の細胞をミックスカルチャーアッセイに用いた。pDON-5 Neo ベクターを用いた導入後, 導入された細胞を G418 にて 10 日間の抗生物質セレクションを行った。

4. ミックスカルチャーアッセイ (図 1)

RAS 野生型の CACO-2 に KRAS 野生型/変異遺伝子を pMXs-IRES-GFP ベクターを用いて, レトロウイルスにて恒常的遺伝子導入を行った。初日に GFP 陽性の遺伝子導入細胞と非遺伝子導入母細胞 (GFP 陰性) とを 1:1 の割合で混合, 薬剤投与下で 3 日毎に継代し, 12 日間培養した。GFP の陽性率の変化をフローサイトメーターで評価した。薬剤耐性を示す指標 (遺伝子導入細胞の増殖率/母細胞の増殖率) として, Relative Proliferation Ratio (RPR) = $A(100-B)/B(100-A)$ [A: 培養 12 日目の GFP 陽性%, B: 培養初日の GFP 陽性%] を算出し, 比較検討を行った。RPR 高値は薬剤耐性, RPR 低値は薬剤感受性であることを示す (図 1A)^{3) 4)}。実際のデータを提示する (図 1B)。

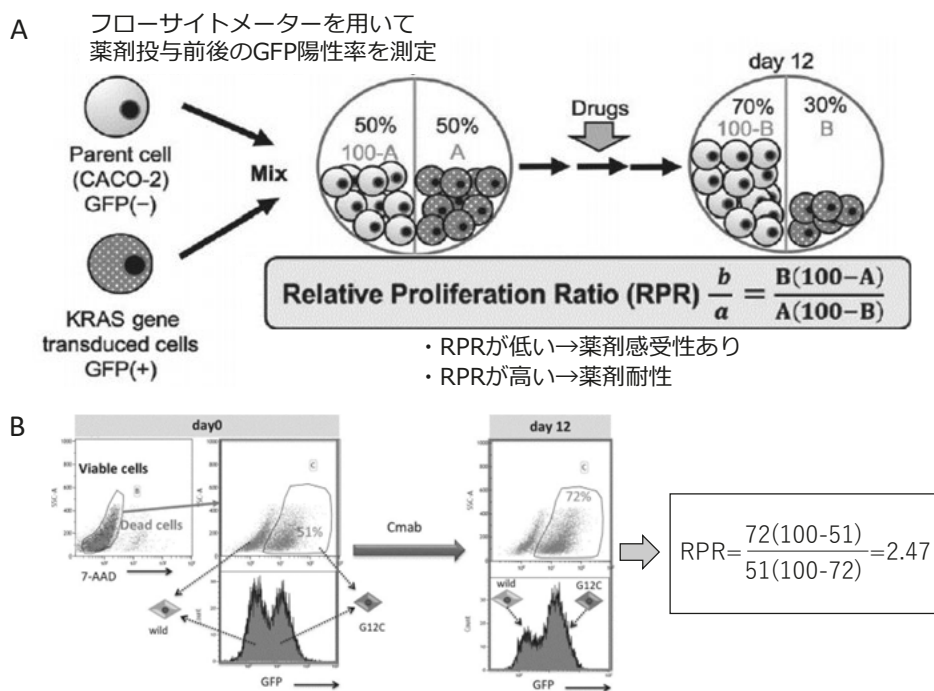


図 1 ミックスカルチャーアッセイの概要

5. ウェスタンブロッティングによる AMG510 耐性シグナルの解析

pDon-5 Neo ベクターを用いて, 野生型 KRAS, 変異 KRAS (G12D, G12C) を CACO-2 に恒常的遺伝子導入し, 安定遺伝子導入株を作成した。AMG510 を培養上清に付加し, タンパク発現および活性化の有無を評価する。KRAS の上流分子の EGFR, 下流分子の MEK, ERK の活性化はリン酸化抗体を用いて評価した。

結 果

1. pMXs-IRES-GFP ベクター, pDon-5 Neo ベクターによる KRAS 遺伝子導入

pMXs-IRES-GFP ベクターによる遺伝子導入は, FLAG 抗体で遺伝子導入されていることが確認でき, G12V, G12C の遺伝子導入による p-MEK, p-ERK の発現が上昇していた。(図 2A, B)。pDon-5 Neo による遺伝子導入は G12C の発現が不明瞭であったが (図 2C), RT-PCR にて確実に遺伝子導入されていることが確認された (図 2D)。

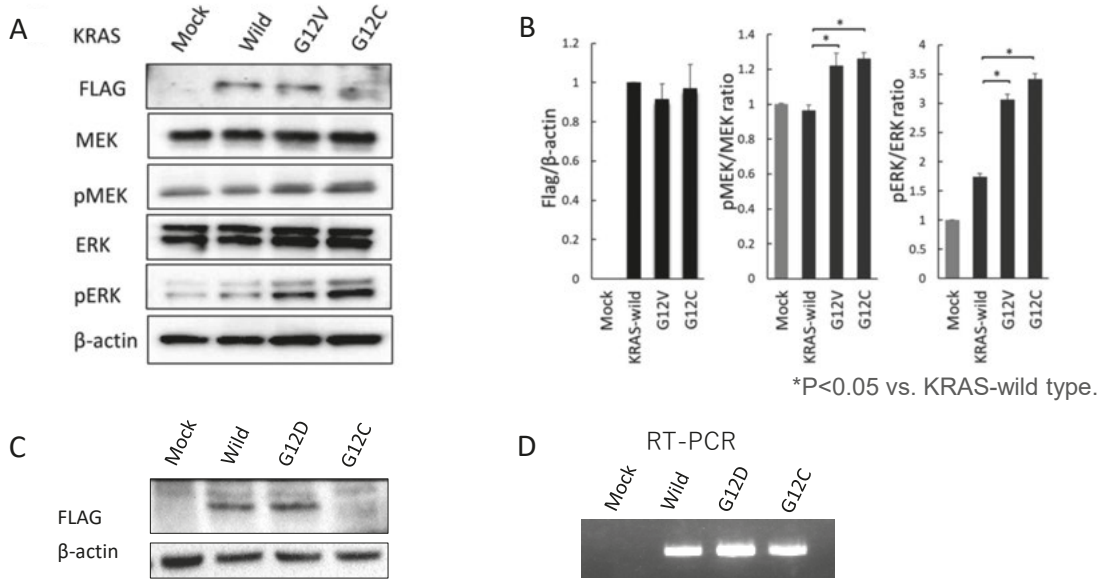


図 2 pMXs-IRES-GFP ベクター, pDon-5 Neo ベクターによる KRAS 遺伝子導入

2. ミックスカルチャーアッセイの結果

1) Cetuximab 単剤, Panitumumab 単剤

Mock, 野生型 KRAS では薬剤投与による RPR の変化は認めなかったが, すべての KRAS 変異で Cetuximab, Panitumumab 投与により有意に RPR が上昇し, 耐性が示唆された (図 3A, B)。

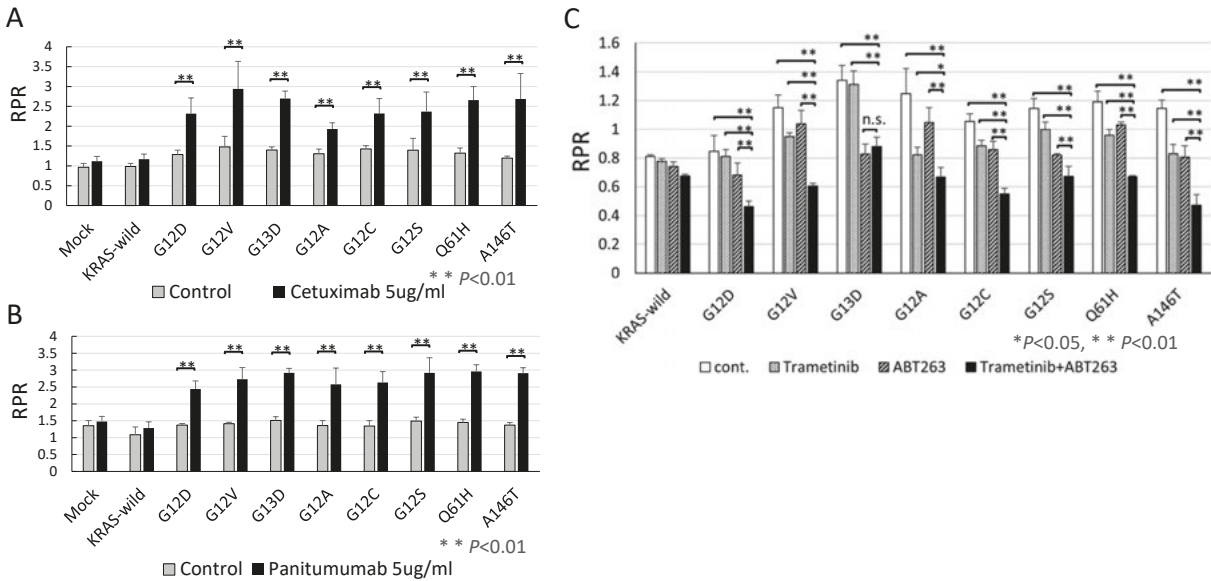


図 3 Cxab 単剤, Pxab 単剤, Trametinib と ABT263 の併用

2) Trametinib と ABT263 の併用効果

我々は MEK 阻害剤 Trametinib と BCL-XL 阻害剤 ABT263 の併用が KRAS 変異 G12D, G12V, G13D に高い感受性を示すことを報告した³⁾。G12C を含めたマイナーな KRAS 変異 (G12A, G12C, G12S, Q61H, A146T) にも 2 剤の併用が特異的に作用するか評価した。KRAS 野生型では併用による有意な RPR の低下は認めなかったが、すべての KRAS 変異で 2 剤併用による有意な RPR の低下を認めた (図 3C)。

3) AMG510 単剤の効果

G12C を遺伝子導入した CACO-2 細胞を用いて、ミックスカルチャーアッセイを行った。AMG510 の濃度依存的に有意な RPR の低下を認め、高い感受性を示した (図 4A)。さらに、G12C のみが有意な RPR 低下を認め、AMG510 の効果は G12C に特異的であることが確認された (図 4B)。

4) AMG510, Trametinib, ABT263 の併用効果の評価

AMG510 単剤の RPR と比較し、AMG510 と Trametinib の併用は有意に RPR が低く ($p < 0.01$)、さらに ABT263 の併用により更なる RPR の低下を認めた ($p < 0.01$) (図 4C)。

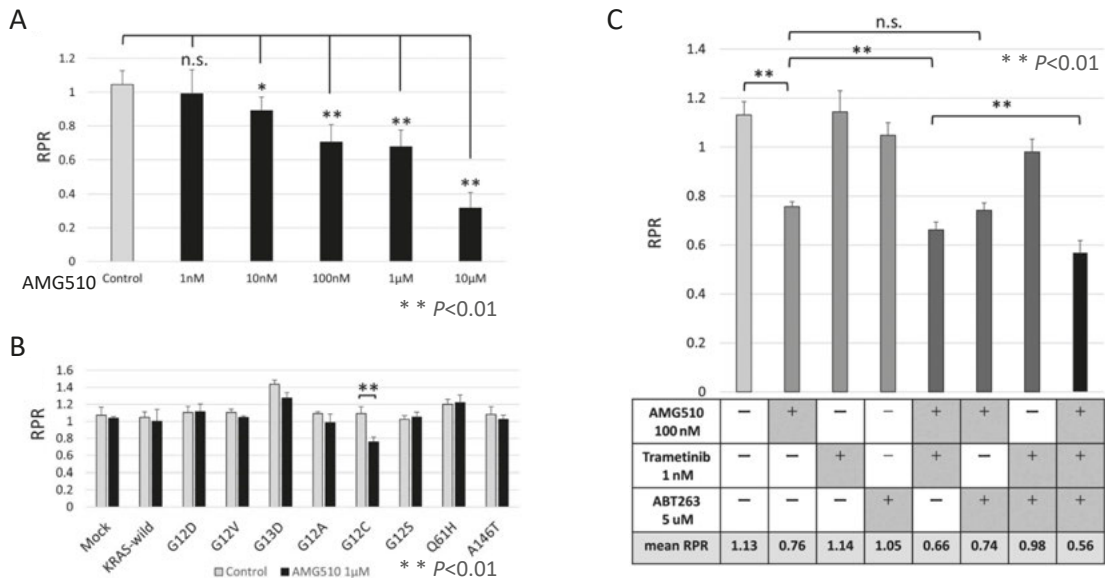


図 4 AMG510 単剤, AMG510, Trametinib, ABT263 の 3 剤併用効果の評価

5) KRAS 上流分子を標的とした薬剤と AMG510 併用効果の評価

SHP2 阻害剤 RMC-4550, EGFR 抗体薬 Cetuximab, EGFR 阻害剤 Gefitinib を用いた。Cetuximab 単剤では濃度依存的に RPR が上昇し耐性であることが示唆された (図 5A)。驚くべきことに AMG510 を加えると、Cetuximab の耐性を示すの濃度依存的な RPR の上昇が消失した (図 5A)。また、RMC-4550 単剤では濃度依存的に RPR が上昇し、耐性パターンを示した。一方、AMG510 を併用することにより Cetuximab と同様に RPR の上昇が消失した (図 5B)。Gefitinib には Cetuximab のような RPR の濃度依存的な上昇は認めなかった (図 5C)。

6) AMG510, Trametinib, Cetuximab の 3 剤併用効果の解析

Cetuximab 単剤により RPR は優位に上昇するが、AMG510 の併用により RPR の上昇はキャンセルされた。Trametinib の 3 剤併用では、AMG510 単剤と AMG510+Cetuximab の RPR と有意な差は認めなかった (図 6)。

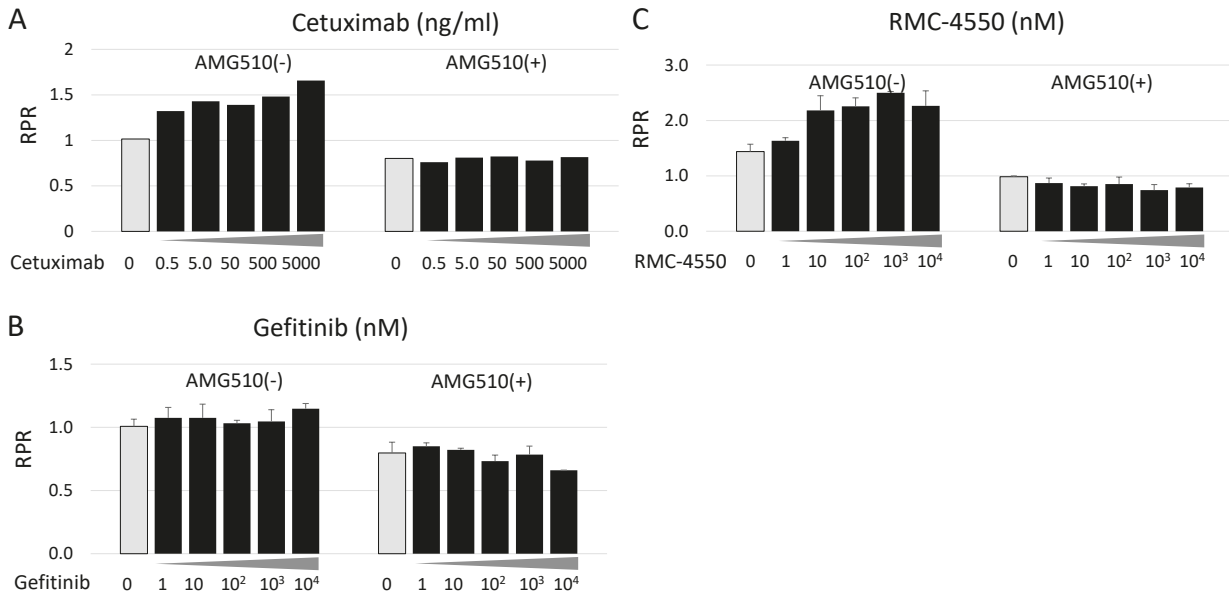


図5 KRAS 上流分子を標的とした薬剤と AMG510 併用効果の評価

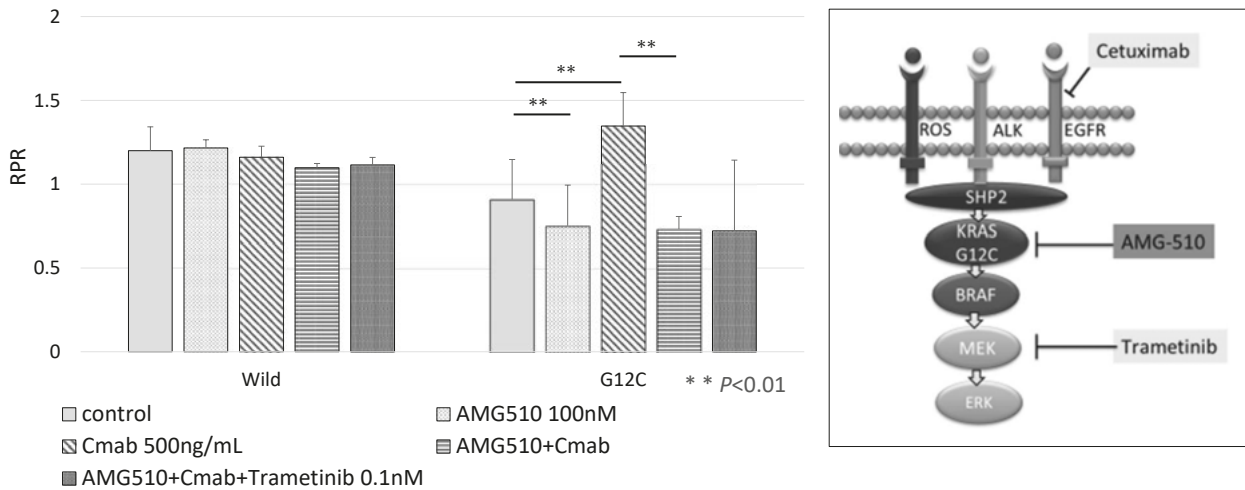


図6 AMG510, Trametinib, Cetuximab の3剤併用効果の解析

3. AMG510 耐性シグナルの解析

1) KRAS G12C 変異を有する SW837 (ヒト大腸癌細胞株), H358 (ヒト肺癌細胞株) を用いた AMG510 耐性メカニズムの解析

H358 は AMG510 により KRAS 下流の p-MEK, p-ERK の発現が 72 時間後も抑制され続けるのに対し、大腸癌細胞株 SW837 は 72 時間後に p-MEK, p-ERK の発現が再上昇していた (図 7A)。

2) KRAS G12C 遺伝子導入 CACO-2 細胞を用いた, AMG510 耐性メカニズムの解析

CACO-2 細胞に KRAS G12C を遺伝導入した細胞を樹立した。AMG510 を培養上清に加えると、4 時間後には p-MEK, p-ERK, p-RSK の発現が低下したが、72 時間後には SW837 の検討と同様に再度 p-MEK, p-ERK, p-RSK の発現が上昇した。また、再活性化時には pEGFR の発現が上昇していた。AMG510 に Trametinib を加えると、72 時間後の MEK/ERK/RSK の活性化が抑制された (図 7B)。

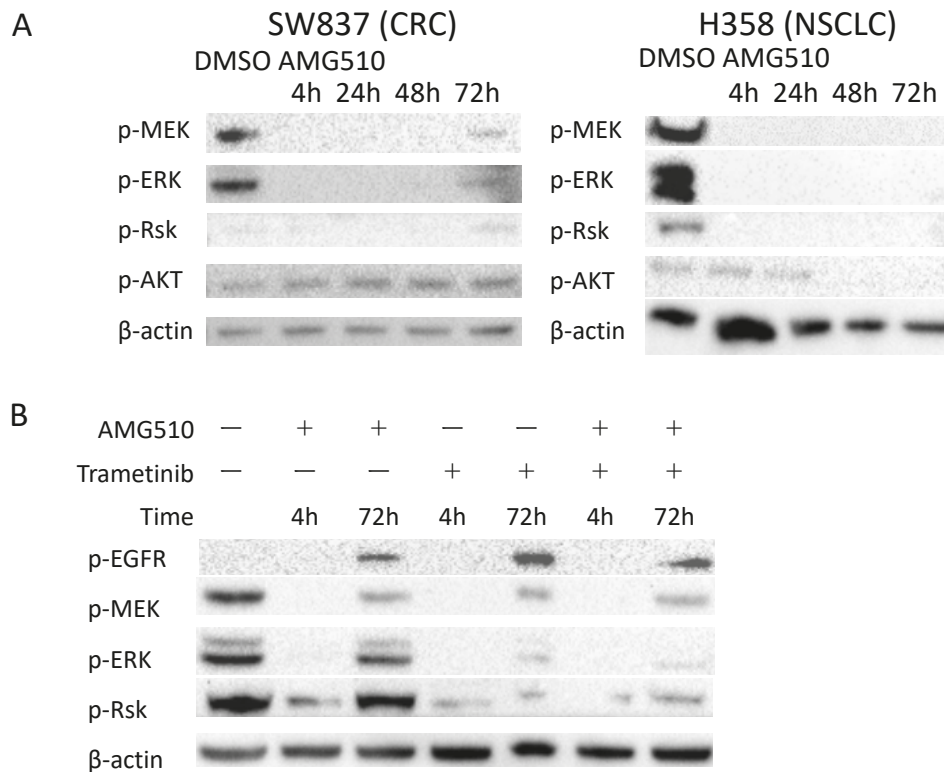


図7 SW837, H358 の AMG510 耐性メカニズムの解析

考 按

我々の構築したミックスカルチャーアッセイは KRAS 遺伝子変異を標的とした、有効な薬剤のスクリーニングに有用であり、特に複数の薬剤の併用効果の評価に強力な研究ツールになると考えている³⁾⁻⁵⁾。KRAS 変異に効果のある薬剤は AMG510, MEK 阻害剤であり³⁾, MEK 阻害剤の効果は BCL-XL 阻害剤により増強され, AMG510, MEK 阻害剤, BCL-XL 阻害剤 3 剤併用は AMG510 の作用を増強した⁴⁾。

AMG510 耐性のメカニズムであるフィードバック機構を制御する分子は, EGFR⁶⁾, NRAS/HRAS⁷⁾, SHP2⁷⁾, MEK³⁾ などが報告されており, 同分子をブロックすることにより, 耐性を克服し, より強力な治療効果をもたらす可能性があると考えられる。我々の研究でも AMG510 は抗 EGFR 抗体耐性, SHP2 阻害剤耐性をキャンセルし, 感受性をもたらす可能性が示唆された。今後は In Vivo 解析や分子レベルの解析を行い, より強い科学的根拠に基づいた治療戦略を提案していきたい。

AMG510 により KRAS 変異が Druggable な標的であることが証明された。同じ G12C を標的とした薬剤 MRTX8498) の開発も進み, さらには G12D を標的とした治療薬 KS-58⁹⁾, MRTX1133 (Mirati Therapeutic, Inc.) も開発が急速に進んでいる (図 8)。BRAF V600E 変異の肺癌や悪性黒色腫に対してはフィードバック機構を考慮し, MEK 阻害剤の併用が OS を延長させることが証明されている (図 9)。大腸癌の BRAF 変異に対しては BRAF 阻害剤に加え, MEK 阻害剤と EGFR 抗体薬の併用の有効性が証明され, 2020 年月 11 に薬事承認され, 本邦で使用可能となった。過去 40 年間に多くの研究者によって明らかにされた変異型 KRAS 関連シグナルの膨大なデータを収集し, KRAS 変異型選択阻害剤の耐性メカニズムを解明することで, KRAS 変異型選択阻害剤を主軸としてコンビネーション治療が加速されることが期待されます。(図 9)。

RAS mutation direct inhibitors

KRAS G12C inhibitors

- Sotorasib (AMG510) Lanman BA, et al. J Med Chem. 2020;63:52-65.
- Adagrasib (MRT849) Hallin J, et al. Cancer Discov. 2020;10:54-71.

KRAS G12D inhibitors

- KRpep2 Sakamoto K, et al. Biochem Biophys Res Commun. 2017;484:605-611
- KS-58 Sakamoto K, et al. Sci Rep. 2020;10:21671.
- MRTX1133 Mirati Therapeutics, Inc.

NRAS Q61K/Q61L/Q61R inhibitor

- STK19 Qian L, et al. Clin Cancer Res. 2020;26:3408-3419.

図 8 RAS 変異を標的とした選択的阻害剤

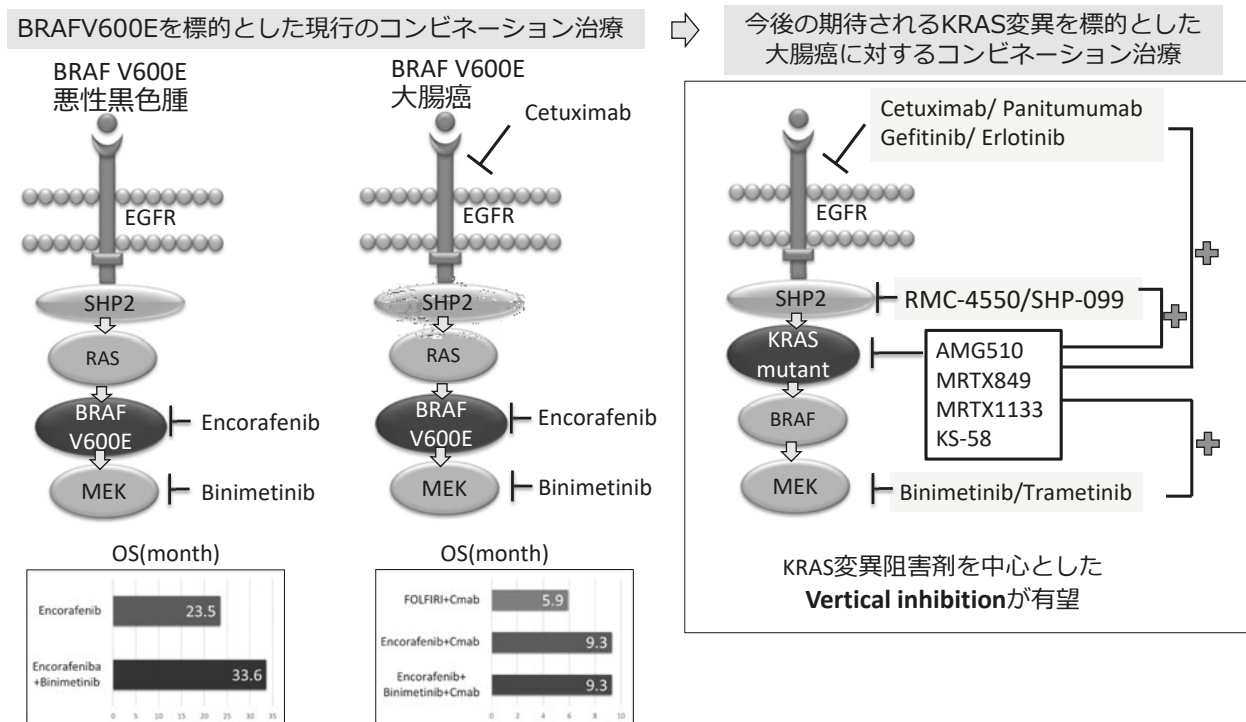


図 9 今後の展望 大腸癌に対する KRAS 変異を標的としたコンビネーション治療

おわりに

AMG510 の効果は MEK 阻害剤併用で増強され、BCL-XL 阻害剤を加えた 3 剤併用はさらなる増強効果を認めた。AMG510 の併用は抗 ERFR 抗体薬、SHP2 阻害剤の耐性化を克服し、感受性をもたらす可能性が示唆された。

文献

1) Moore AR, Rosenberg SC, McCormick F, et al: RAS-targeted therapies: is the undruggable drugged? *Nat Rev Drug Discov.* **19** : 533-52, 2020.

- 2) Hong DS, Fakih MG, Strickler JH, et al: KRAS^{G12C} Inhibition with Sotorasib in Advanced Solid Tumors: *N Engl J Med.* **383** : 1207-17, 2020.
- 3) Koyama M, Kitazawa M, Nakamura S, et al: Low-dose trametinib and Bcl-xL antagonist have a specific antitumor effect in KRAS-mutated colorectal cancer cells. *Int J Oncol.* **57** : 1179-91, 2020.
- 4) Kitazawa M, Hida S, Fujii C, Taniguchi S, et al : ASC Induces Apoptosis via Activation of Caspase-9 by Enhancing Gap Junction-Mediated Intercellular Communication. *PLoS One.* **12** : e0169340, 2017.
- 5) Kitazawa M, Miyagawa Y, Koyama M, et al: Drug sensitivity profile of minor KRAS mutations in colorectal cancer using mix culture assay: The effect of AMG-510, a novel KRAS G12C selective inhibitor, on colon cancer cells is markedly enhanced by the combined inhibition of MEK and BCL-XL. *Mol Clin Oncol.* **15** : 148, 2021.
- 6) Amodio V, Yaeger R, Arcella P, et al: EGFR Blockade Reverts Resistance to KRAS G12C Inhibition in Colorectal Cancer. *Cancer Discov.* **10** : 1129-39, 2020.
- 7) Ryan MB, Fece de la Cruz F, et al: Vertical Pathway Inhibition Overcomes Adaptive Feedback Resistance to KRAS G12C Inhibition. *Clin Cancer Res.* **26** : 1633-43, 2020.
- 8) Hallin J, Engstrom LD, Hargis L, et al: The KRAS G12C Inhibitor MRTX849 Provides Insight toward Therapeutic Susceptibility of KRAS-Mutant Cancers in Mouse Models and Patients *Cancer Discov.* **10** : 54-71, 2020.
- 9) Sakamoto K, Masutani T, Hirokawa T: Generation of KS-58 as the first K-Ras(G12D)-inhibitory peptide presenting anti-cancer activity in vivo. *Sci Rep.* **10** : 21671, 2020.

IFN- γ シグナル異常によるがん免疫療法耐性の本態解明と克服のための新規治療開発

富樫 庸介*

要旨 がん免疫療法の効果が報告されたが、その耐性が問題になっている。IFN- γ は細胞増殖抑制やアポトーシス誘導、ケモカイン産生、MHC発現などに関わるため、抗腫瘍免疫応答に重要とされ、このシグナルの異常ががん免疫療法の耐性の原因として報告されている。一方で我々はヒト由来細胞株およびマウス細胞株で、IFN- γ シグナルの代表であるJAKをノックアウトしてもT細胞による細胞傷害活性及び抗腫瘍免疫応答が保たれるものが存在することを見出した。これらのモデルではJAKノックアウトにより、in vitroのIFN- γ 刺激による細胞増殖抑制やケモカイン産生効果が失われたが、MHC発現が高いまま保たれていた。JAKノックアウト株でもin vivoの腫瘍組織ではケモカインの発現は高いままで、MHC発現が保たれていればIFN- γ シグナルに異常を来してもがん免疫療法に耐性化しなかった。これらは、IFN- γ シグナル異常により耐性化してもMHC発現を促すことで耐性を克服できることを示唆している。

はじめに

抗PD-1抗体に代表されるがん免疫療法の効果が多くの癌で報告されたが、その効果は満足のいくものではない^{1) 2)}。特にその耐性が問題になっており、いくつかの耐性機序が報告されているが、その詳細は不明な点が多い^{3) -5)}。抗PD-1抗体はT細胞を活性化させる治療であるため⁶⁾、T細胞が活性化して腫瘍細胞を攻撃するまでの過程で障害が起きれば耐性化してしまう可能性がある。耐性化のメカニズムとして大きく①抗原提示に関わる耐性、②T細胞の遊走浸潤に関わる耐性、③細胞傷害性に関わる耐性、の3つに分けることができると考えている⁵⁾。代表的な耐性機序として、JAK遺伝子異常といったIFN- γ シグナル異常が有名である⁶⁾。IFN- γ はT細胞が活性化した際に放出されるサイトカインで、細胞増殖抑制やアポトーシス誘導、ケモカイン産生、MHC発現などに関わる。したがって、この異常は上述の①-③のいずれの耐性機序にも関与する抗腫瘍免疫応答に極めて重要なシグナルといえる⁶⁾。

一方で、我々は実際に抗PD-1抗体治療を受けた患者で長期奏効が得られた患者の中でも、JAKが低下している症例が存在し、この患者では腫瘍微小環境におけるCD8陽性T細胞浸潤も豊富であった。また、ヒト由来細胞株およびマウス細胞株で、JAKをノックアウトしてもT細胞による細胞傷害活性、抗腫瘍免疫応答が保たれるものが存在することも見出した。したがって、JAK遺伝子変異などのIFN- γ シグナル異常だけでは必ずしも耐性化しない可能性があることが考えられた。そこで、その詳細な機序を明らかにすることで耐性化克服の新たな治療開発に繋げる目的で本研究を行った。

結 果

JAKが低下している患者でも抗PD-1抗体が有効であった

抗PD-1抗体治療を受けた頭頸部癌患者の腫瘍組織の免疫染色をしたところ、JAKが低下している症例が2例存在した。1例はCD8陽性T細胞も浸潤しておらず、抗PD-1抗体耐性であったが、別の1例はCD8陽性T細胞浸潤も多く、抗PD-1抗体に長期奏効した(図1)。したがって、JAKが低下してい

* 岡山大学学術研究院医歯薬学域 腫瘍微小環境学分野 千葉県がんセンター研究所

る IFN- γ シグナルに異常を来していても、従来の報告とは異なり抗 PD-1 抗体が有効な場合があることが示唆された。

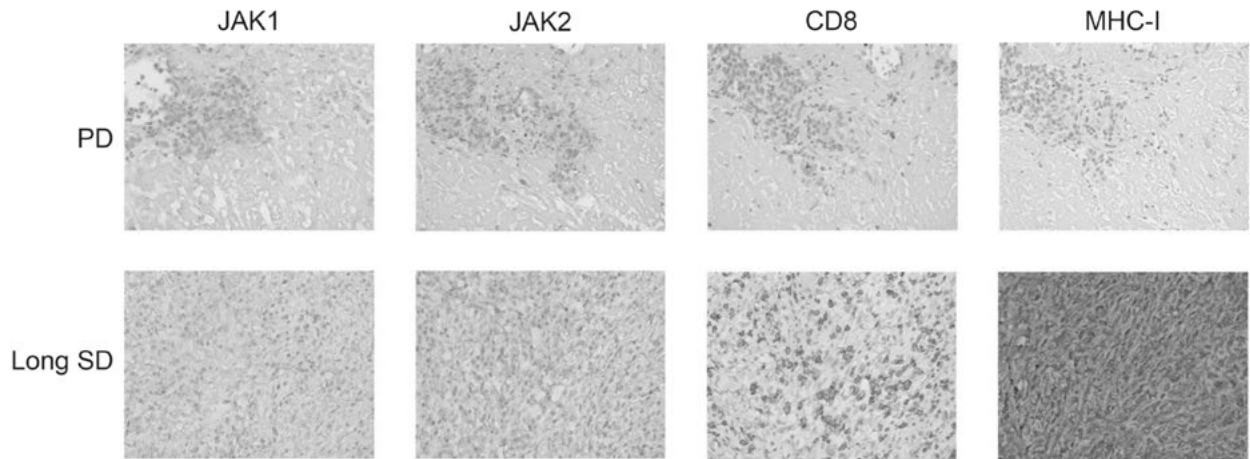


図1 抗 PD-1 抗体治療患者の中で JAK が低下していても奏効するものがあった
耐性患者（上：PD）と長期奏効患者（下：Long SD）の FFPE 切片を JAK1/2, CD8, MHC-I で免疫染色した。

JAK が欠損しても MHC class I (MHC-I) が発現し、T 細胞に反応する細胞株が存在する

抗 PD-1 抗体治療を受けたメラノーマ患者から樹立した細胞株の中で JAK2 のコピー数が減少しているにも拘わらず、長期奏効した症例が存在した。そこで JAK2 を CRISPR/Cas9 システムで完全にノックアウトし IFN- γ シグナルを欠損させた細胞株を作成したが、フローサイトメトリーの解析ではその細胞株では MHC-I の発現は高発現のまま保たれ（図 2A）、同患者由来の腫瘍浸潤 T 細胞と共培養して ELISA で IFN- γ を測定したところ、腫瘍浸潤 T 細胞の反応性も見られた（図 2B）。したがって JAK が低下していた 2 症例でさらに MHC-I を免疫染色したところ、耐性例では MHC-I は低下していたが、奏効例では MHC-I が高発現していた（図 1）。これらは IFN- γ シグナルに異常を来しても MHC-I の発現が保たれている場合があり、その場合には T 細胞の細胞傷害性が保たれている可能性を示唆している。

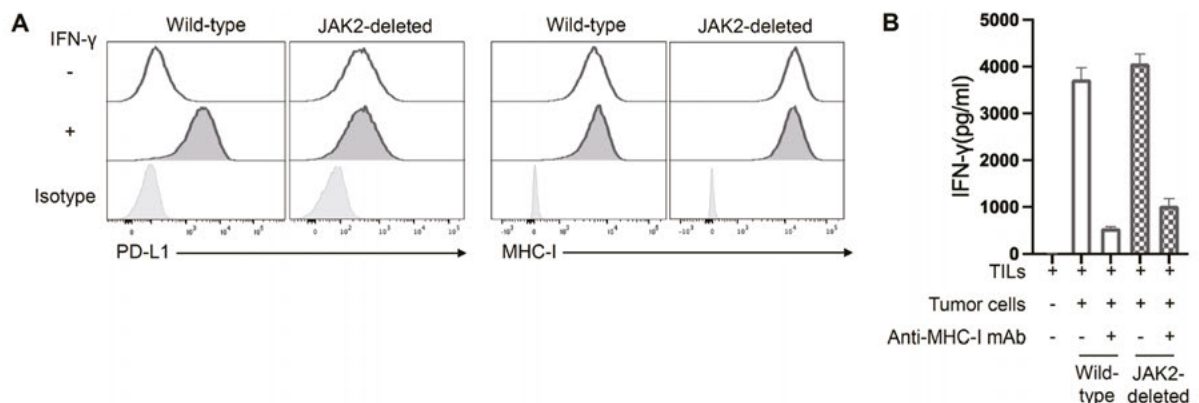


図2 抗 PD-1 抗体治療奏効患者由来腫瘍細胞株で JAK を欠損させても MHC-I 発現が変わらず
腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) の反応が保たれた

A: 細胞株の PD-L1 発現と MHC-I 発現。IFN- γ 刺激有無の状態、野生型細胞株 (Wild-type) と JAK2 欠損細胞株 (JAK2-deleted) を用いて、それぞれフローサイトメトリーで発現を解析した。

B: TIL の細胞株への反応性。野生型細胞株 (Wild-type) と JAK2 欠損細胞株 (JAK2-deleted) を用いて、同一患者由来 TIL と共培養して 24 時間後に ELISA で IFN- γ の濃度を測定した。ネガティブコントロールには抗 MHC-I 抗体を用いた。

マウスの細胞株と同様に JAK を欠損させても MHC-I が保たれるものがあり、抗 PD-1 抗体が有効である

マウスの細胞株に IFN- γ で刺激したところ、フローサイトメトリーでは B16F10 や MC-38 は MHC-I の発現が上昇したが、EMT6 や CT26 は高発現のまま変化が見られなかった (図 3)。そこで CRISPR/Cas9 でこれらの JAK1 を欠損させたところ、B16F10 と MC-38 は IFN- γ による MHC-I 上昇がみられなかったが、EMT6 と CT26 に関しては MHC-I は高発現のままであった (図 3A)。これらの細胞に IFN- γ で刺激をしたところ、MTT アッセイではその増殖抑制効果は見られなくなり、かつ T 細胞を誘導するケモカイン (CXCL9, CXCL10) の遺伝子発現もリアルタイム PCR で解析したところ上昇が見られなくなった (図 3B)。

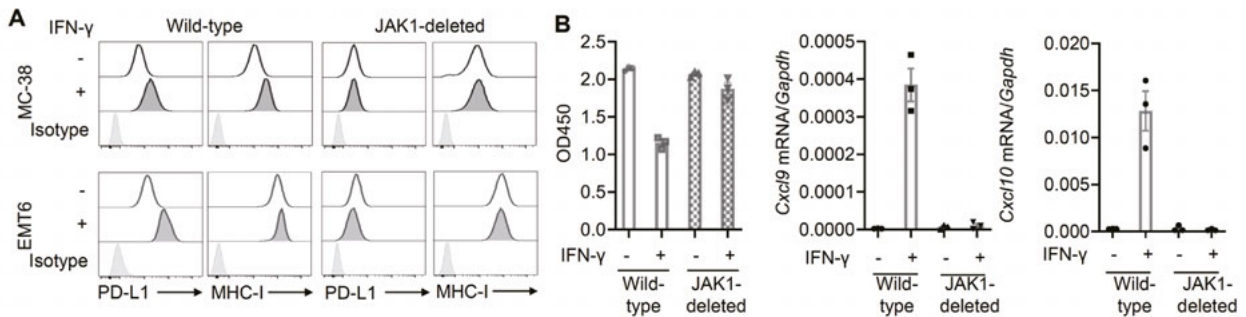


図 3 マウス腫瘍細胞株で JAK を欠損させても MHC-I 発現が保たれているものが存在した

A: MC-38 と EMT6 細胞株の PD-L1 発現と MHC-I 発現。IFN- γ 刺激有無の状態、野生型細胞株 (Wild-type) と JAK1 欠損細胞株 (JAK1-deleted) を用いて、それぞれフローサイトメトリーで発現を解析した。

B: IFN- γ への反応性。野生型 EMT6 細胞株 (Wild-type) と JAK1 欠損 EMT6 細胞株 (JAK1-deleted) を用いて、IFN- γ 刺激有無の状態、細胞増殖を MTT アッセイで、CXCL9 と 10 の遺伝子発現をリアルタイム PCR で解析した。内部コントロールには GAPDH の遺伝子を用いた。

次にこれらの細胞を野生型マウスで抗 PD-1 抗体の効果を検証した。MHC-I 発現が低下した MC-38 に関しては既報通り抗腫瘍効果が見られなくなり耐性化した。MHC-I 発現が低下しない EMT6 や CT26 は抗 PD-1 抗体への耐性化は観察されなかった (図 4)。*In vitro* ではケモカインの発現が低下していたため、腫瘍組織を採取して同様にケモカインの遺伝子発現をリアルタイム PCR で解析したところ、抗 PD-1 抗体治療後では *in vitro* のような低下がみられず、組織としては発現があった (図 5)。一方で MHC-I 発現が低下し、抗 PD-1 抗体に耐性化した MC-38 に関してはケモカイン発現が顕著に低下した (図 5)。

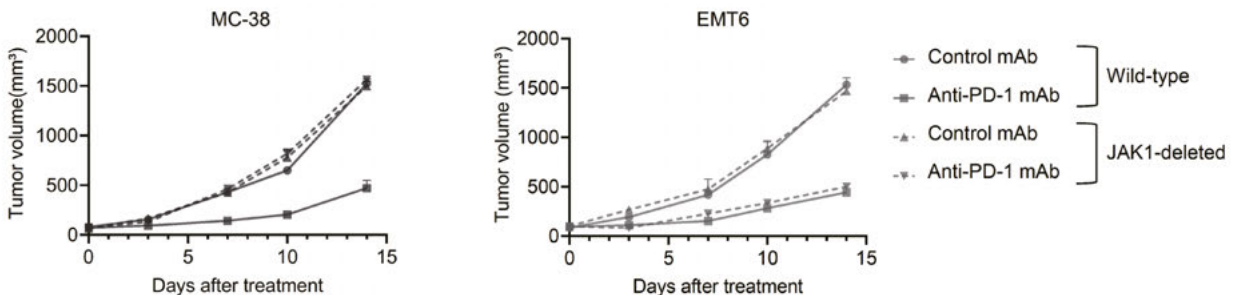


図 4 JAK が欠損していても抗 PD-1 抗体の感受性が保たれ耐性化しない株が存在した

野生型マウスに MC-38 および EMT6 を 10^6 の細胞を皮下移植してサイズが 100mm^3 程度になった段階から抗 PD-1 抗体治療を開始した (2日おき3回投与, day 0, 3, 6)。

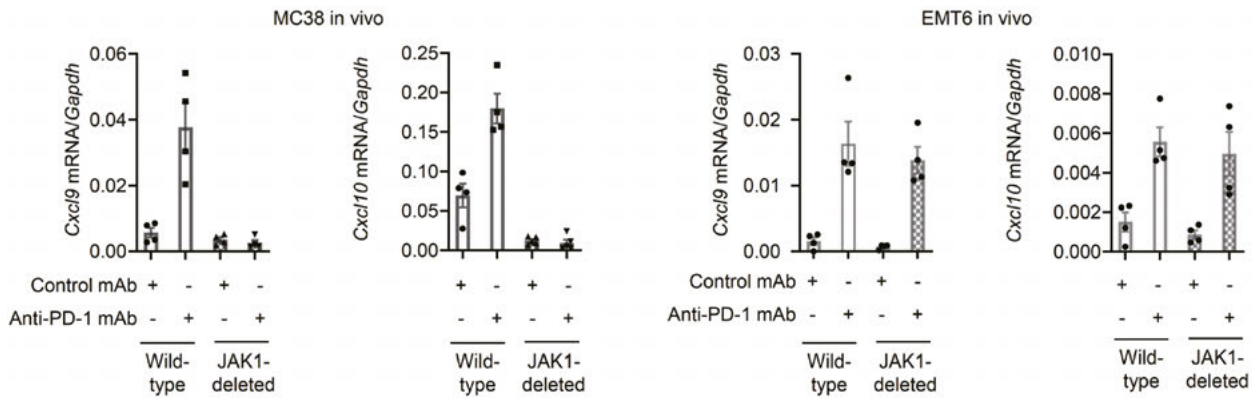


図5 JAK が欠損していても腫瘍組織のケモカイン産生が保たれる株が存在した

図4同様の実験系で day 10 に腫瘍組織を採取しホモジナイズして RNA を抽出してリアルタイム PCR で CXCL9 と 10 の遺伝子発現を解析した。内部コントロールには GAPDH の遺伝子を用いた。

MHC-I 欠損腫瘍細胞では IFN- γ シグナルが残っていても抗 PD-1 抗体に耐性である

MHC-I 発現が低下しない細胞株では, *in vitro* での IFN- γ 刺激による増殖抑制やケモカイン産生が低下したにもかかわらず, *in vivo* で抗 PD-1 抗体に対して有効であったため, MHC-I をノックアウトした際にどうなるかを解析した。B2M を CRISPR/Cas9 システムでノックアウトし MHC-I 欠損細胞を作成した (図 6A)。同様に IFN- γ で刺激したところ, MTT アッセイではその増殖抑制効果が確認され, かつ T 細胞を誘導する CXCL9 や CXCL10 の遺伝子発現もリアルタイム PCR では上昇がみられた (図 6B)。しかしながら野生型マウスでの抗 PD-1 抗体の効果を検証したところ, 完全に耐性化してしまった (図 7A)。腫瘍組織を採取してケモカインの発現をリアルタイム PCR で同様に解析したところ, ほとんど発現はみられなかった (図 7B)。以上から, IFN- γ シグナルに異常を来しても MHC-I の発現が保たれている場合には抗 PD-1 抗体に感受性があり, 逆に IFN- γ シグナルが保たれていても MHC-I 発現が低下していると耐性化してしまうことが明らかになった。

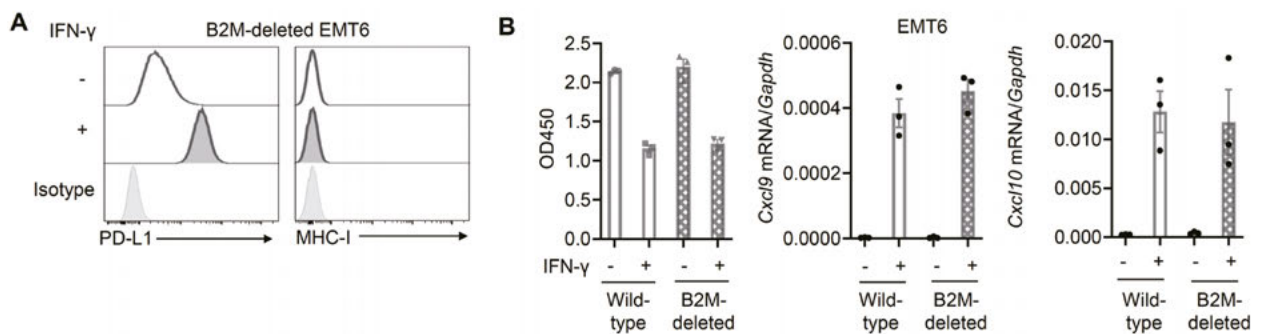


図6 マウス腫瘍細胞株で MHC-I を欠損させても IFN- γ への反応は保たれた

A: EMT6 細胞株の PD-L1 発現と MHC-I 発現。IFN- γ 刺激有無の状態, 野生型細胞株 (Wild-type) と B2M 欠損細胞株 (B2M-deleted) を用いて, それぞれフローサイトメトリーで発現を解析した。

B: IFN- γ への反応性。野生型 EMT6 細胞株 (Wild-type) と B2M 欠損 EMT6 細胞株 (B2M-deleted) を用いて, IFN- γ 刺激有無の状態での細胞増殖を MTT アッセイで, CXCL9 と 10 の遺伝子発現をリアルタイム PCR で解析した。内部コントロールには GAPDH の遺伝子を用いた。

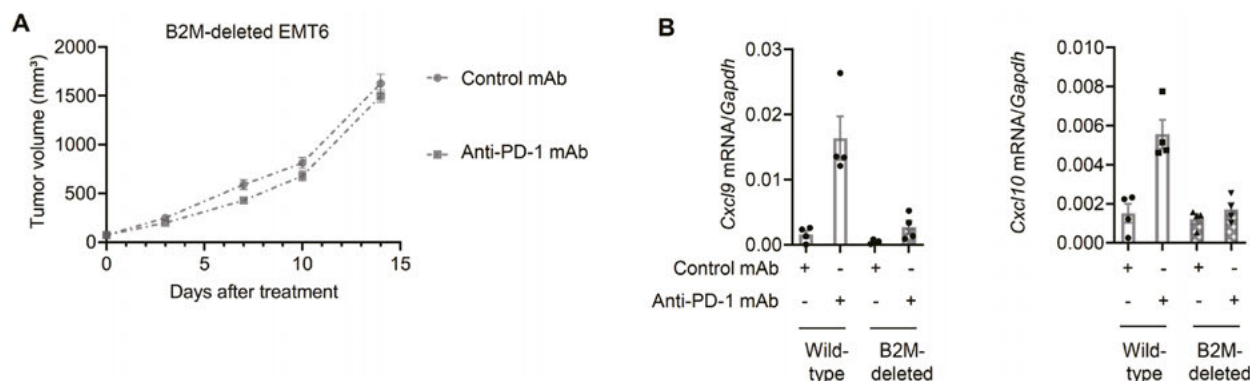


図7 MHC-Iが欠損すると抗PD-1抗体へは耐性化した

- A: マウスでの抗腫瘍効果。野生型マウスにEMT6を 10^6 の細胞を皮下移植してサイズが 100mm^3 程度になった段階から抗PD-1抗体治療を開始した(2日おき3回投与, day 0, 3, 6)。
- B: 腫瘍組織のケモカイン産生。図5同様に腫瘍組織を採取しホモジナイズしてRNAを抽出してリアルタイムPCRでCXCL9と10の遺伝子発現を解析した。内部コントロールにはGAPDHの遺伝子を用いた。

考 按

抗PD-1抗体は腫瘍局所のT細胞を活性化している治療であり⁶⁾, T細胞が活性化し腫瘍細胞を攻撃する際にはIFN- γ を放出するため, このシグナルは抗腫瘍免疫応答に極めて重要であることが知られている⁷⁾。実際にIFN- γ シグナルに異常を来した場合に抗PD-1抗体に耐性化してしまうことは以前から報告があった⁷⁾。IFN- γ はそのものが腫瘍の増殖抑制やアポトーシス誘導効果があることや, T細胞を誘導するCXCL9やCXCL10といったケモカイン産生を促す効果, さらにはMHC-Iの発現を誘導する効果などが抗腫瘍免疫応答に関わるとされ, いずれが障害されても耐性に関わる可能性が想定された^{5) 7)}。一方で, 今回我々は代表的なIFN- γ シグナルに含まれるJAKが低下しているにもかかわらずCD8陽性T細胞が多く浸潤しており, 抗PD-1抗体に長期奏効した症例が存在することを明らかにし, IFN- γ シグナルの異常だけでは耐性化しない症例もある可能性を考えて, 本研究を行った。実際にヒト患者由来細胞株でもマウス細胞株でもIFN- γ シグナル異常を来してもMHC-Iの発現が保たれ, 耐性化せずに感受性が保たれているものが複数存在した。

JAKを欠損させて様々な実験を行ったが, IFN- γ シグナル異常がある場合には確かにIFN- γ 刺激による細胞増殖抑制効果やケモカイン産生効果は失われたものの, MHC-Iさえ保たれていれば*in vivo*では抗PD-1抗体が有効で耐性化はしなかった。逆にこれらのシグナルが保たれていても, B2MのノックアウトでMHC-Iを完全に欠損させた場合には*in vivo*では抗PD-1抗体はまったく無効で耐性化した。面白いことに*in vitro*ではT細胞浸潤を誘導するのに重要なケモカイン産生はJAK欠損株では完全に失われたが, 一方で*in vivo*の腫瘍組織でのケモカイン発現は高く保たれていた。このことは腫瘍細胞以外の周辺の細胞がケモカインを産生することで, T細胞浸潤が誘導されていることを示していた。逆にMHC-I欠損株では*in vitro*ではこのケモカイン産生が保たれていたものの, *in vivo*の腫瘍組織ではケモカイン産生は低下していた。このことから腫瘍細胞自身のケモカイン産生よりも周辺細胞の産生のほうが重要であることが示唆されている。MHC-Iに提示された抗原を認識することでT細胞は活性化して, その後の反応が起きていくことを考えると, MHC-I発現が保たれていればそれにより活性化したT細胞により周辺の腫瘍細胞以外の細胞にIFN- γ シグナルが入ると考えられ, それらから十分なケモカインが産生されていることが想定された。逆にMHC-Iが欠損しているような場合にはT細胞の活性化自体が起きないため, 一連の反応が起きずに, ケモカイン産生にも繋がらないため, 組織でのケモカイン発現が

低いと考えられた。今後は腫瘍組織内において、どの細胞がケモカインを産生する主な細胞であるかを明らかにする目的で、腫瘍微小環境の細胞集団を CD45 などのマーカーをもとにソートしたうえで発現解析を行う予定である。

本研究結果から IFN- γ シグナル異常による抗 PD-1 抗体の耐性化には MHC-I 発現低下が最も重要であることが明らかになった。逆にシグナルに異常があっても MHC-I 発現が誘導できれば耐性化を克服できる可能性がある。似たような試みは存在し、既報でも TNF- α に関わるシグナルなどが報告されている⁸⁾。我々も MHC-I 発現を誘導できる標的分子の候補を探索する目的で、CRISPR スクリーニングといった手法を応用し、同定を目指す予定である。

おわりに

本研究で、IFN- γ シグナル異常による耐性化には MHC-I 発現低下が最も重要であることを明らかにし、逆にシグナルに異常があっても MHC-I 発現が保たれていれば耐性化しない可能性や、MHC-I を誘導できれば耐性化を克服できる可能性もあることを示した。腫瘍細胞自身のケモカイン産生よりもむしろ周辺細胞のケモカイン産生が重要であることが想定されており、これらの結果は今後のがん免疫療法の効果予測や耐性化克服に一石を投じる成果で、さらなる治療開発に繋がると考えている。

謝 辞

本研究にサポートいただいた公益財団法人がん集学的治療研究財団に深謝申し上げます。

文 献

- 1) Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med.* **366**(26) : 2455-65, 2012.
- 2) Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med.* **366**(26) : 2443-54, 2012.
- 3) Kawakami Y, Ohta S, Sayem MA, et al. Immune-resistant mechanisms in cancer immunotherapy. *Int J Clin Oncol.* **25**(5) : 810-7, 2020.
- 4) Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, et al. Primary, Adaptive, and Acquired Resistance to Cancer Immunotherapy. *Cell.* **168**(4) : 707-23, 2017.
- 5) 富樫庸介：免疫チェックポイント阻害剤の耐性メカニズム。実験医学増刊 **38** : 2609-16, 2020.
- 6) Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med.* **8**(328) : 328rv4, 2016.
- 7) Zaretsky JM, Garcia-Diaz A, Shin DS, et al. Mutations Associated with Acquired Resistance to PD-1 Blockade in Melanoma. *N Engl J Med.* **375**(9) : 819-29, 2016.
- 8) Gu SS, Zhang W, Wang X, et al. Therapeutically Increasing MHC-I Expression Potentiates Immune Checkpoint Blockade. *Cancer Discov.* **11** : 1524-41, 2021.

膵癌関連線維芽細胞とサルコペニアとの相互作用の解明と 革新的分子標的治療薬の開発

間野 洋平*

要旨 膵癌を罹患した患者にしばしば認められるサルコペニアは、予後不良因子の一つであり、膵癌治療においてサルコペニアの改善（治療）が必要と考えられる。しかしその詳細な機序はまだ明らかにされていない。癌微小環境の中心的役割を果たしていると考えられる線維芽細胞が近年注目されてきているが、癌関連線維芽細胞は筋組織を萎縮させる働きがあるミオスタチンを産生しており、癌患者にけるサルコペニアに重要な役割を果たしている可能性が高いと考えられた。

膵癌治療を行う前の血清を採取し、ミオスタチン値を計測し、体組成計で得られた筋肉量と比較したところ、相関を認め、サルコペニアが進んだ症例ではミオスタチン値が上昇していることが分かった。今後は、更なる症例を蓄積し、予後との関係を明らかにし、動物モデルを用いて詳細な機序を明らかにしていく。

はじめに

膵癌は我が国において増加傾向にあり、早期診断、革新的な治療法の開発が喫緊の課題である。手術が唯一根治を期待できる治療であるが、再発率は高く、特に肝転移再発は術後早期に起こり、その予後は著しく不良である¹⁾。

膵癌をはじめとする難治がんの特徴の一つは、がん細胞の量と比べて間質の量が非常に多く、その間質中に多くの線維芽細胞の増生や免疫細胞の浸潤を認める。線維芽細胞は様々な臓器に存在し、それらの形や構造の維持に必須の細胞であるが、がんが発生すると、がん細胞から産生される様々な因子によって線維芽細胞が増えることが知られており、このような線維芽細胞は癌関連線維芽細胞（CAF, Cancer-associated Fibroblast; 図1）と呼ばれ、がんの悪性化と治療の抵抗性に関与することが多くの研究で示されてきた。CAFは多くの増殖因子を産生し、これらはがん細胞に作用してその増殖や浸潤を促進する機能

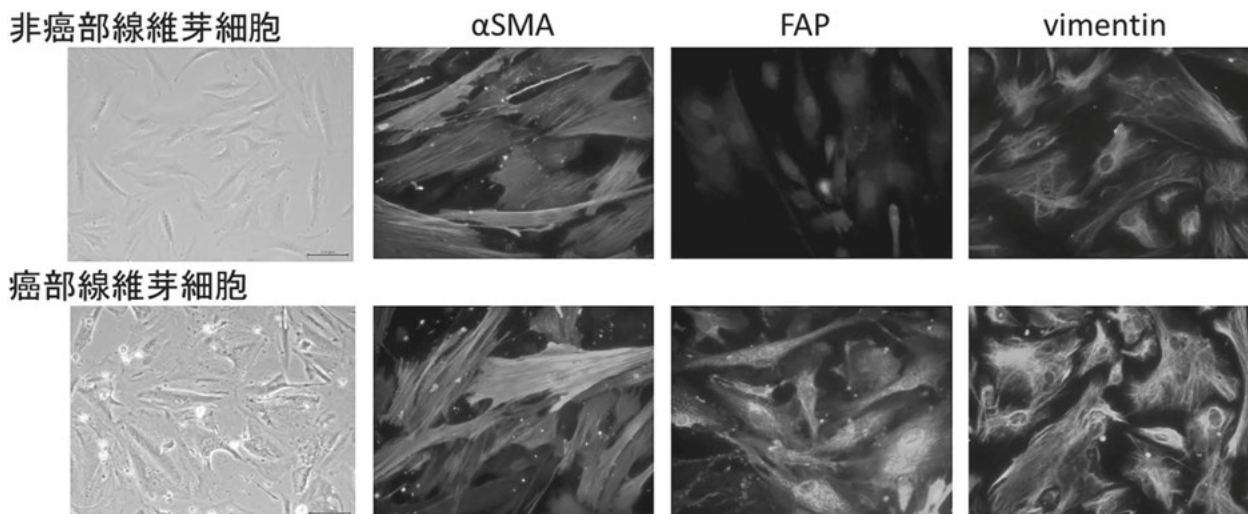


図1 切除標本より分離した癌関連線維芽細胞

*独立行政法人国立病院機構九州がんセンター 肝胆膵外科

を有する他、抗腫瘍免疫応答を抑制する。このように、CAFは、がん細胞の悪性を促進する機能を有しており、新規治療標的として重要な要素であると考えられる。

筋肉量の減少や筋力の低下・身体機能の低下で定義されるサルコペニアは、その成因によって一次性サルコペニアと二次性サルコペニアにわけられる。前者は加齢に伴う筋肉量の減少であり、後者は活動性の低下や低栄養、手術侵襲、腫瘍などの疾患に伴う筋肉量の減少である。サルコペニアは手術後の合併症発生率や生命予後との関連が報告されている。超高齢社会を迎え、肝胆膵外科領域における手術患者も高齢化してきており、サルコペニアは重要な問題となっている。膵癌患者においては、サルコペニア有することは、独立した予後規定因子であると報告されている²⁾。サルコペニアに対しては、運動や栄養、投薬による治療が試みられているが、今のところ有効といえる手段は明らかになっていないのが現状である。

我々は、これまでCAFなどの癌微小環境に関する研究を進めてきたが、その研究の過程で、筋肉を委縮させる働きがあるミオカインが、CAFから産生されており、さらにCAF自身の活性化を誘導することを発見した。癌に関連した細胞が、直接筋組織に作用する報告は無く、膵癌患者におけるサルコペニア発生の機序の一つである可能性が考えられる。

以上の背景を踏まえ、我々は、膵癌において、癌の微小環境とサルコペニアとの関わりを明らかにすることで、多くの癌で問題となっているサルコペニアの新たな治療法の開発につながると考えた。

対 象

①対象

九州がんセンターにおいて、膵癌に対して外科的切除を施行された症例と切除不能で化学療法を施行された症例を対象とする。

②目標症例数

外科切除症例 30 例、化学療法症例 20 例、合計 50 例を目標に症例を収集する。切除組織からのCAFの分離については 10 例に行う予定である。

方 法

①培養細胞実験

切除標本から分離した非癌部と癌部の線維芽細胞において、ミオスタチンの産生量を比較する。また、ミオスタチン添加による線維芽細胞の活性化について比較する。

②臨床検体による検証

手術を含めた治療前に採取された血清を採取し、ELISAによってミオスタチン値を計測する。体組成計（TANITA MC-708A）により筋肉量の測定を行う。病変評価目的にて撮影された腹部CTから、第3腰椎レベルの横紋筋面積を計測し、Skeletal Muscle Index（SMI）算出する（図2）。

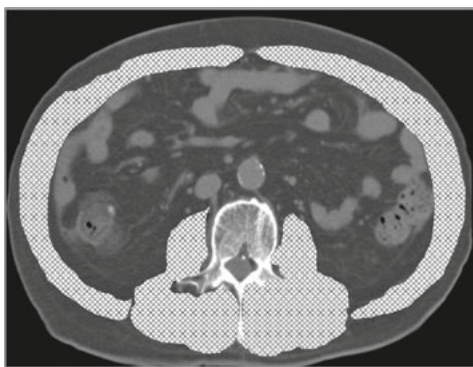


図2 第3腰椎レベル骨格筋領域

結 果

- ① 組織より分離した線維芽細胞について、ミオスタチンの遺伝子発現量を比較したところ、非癌部の線維芽細胞に比べて癌部の線維芽細胞が有意に多かった（図3）。

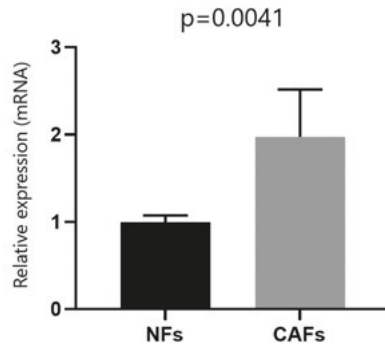


図3 癌関連線維芽細胞（CAF）と非癌部線維芽細胞（NF）とのミオスタチン遺伝子発現の比較

- ② 組織より分離した線維芽細胞に対して、ミオスタチンを添加したところ、IL-6, IL-8, CCL2といった炎症性サイトカインの産生、また、ACTA2 (α SMA), TIMP1, COL1A1といった線維芽細胞活性化マーカーの発現が上昇していた（図4）。

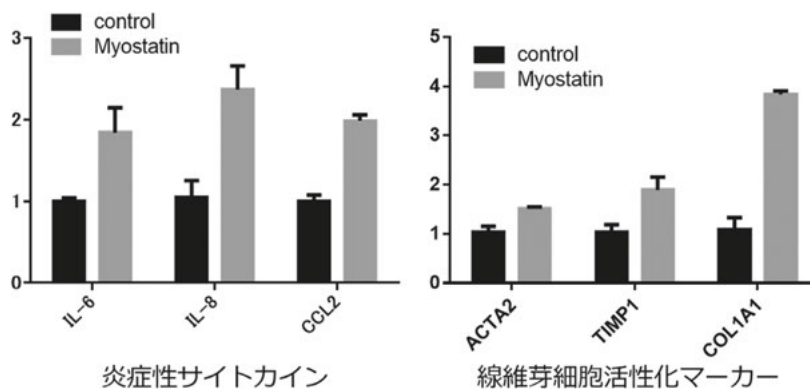


図4 NFへのミオスタチン添加によるサイトカイン・活性化マーカーの遺伝子発現の変化

- ③ 30例の膀胱癌患者の血清を採取し、ミオスタチン値を計測し、腹部CTからSMIを算出した。そのうち19例については体組成計による筋肉量を計測した。血清ミオスタチン値は筋肉量に相関した（図5）。SMIと筋肉量は強い相関を認めたが、血清ミオスタチン値とSMIに有意な関係は認められなかった。

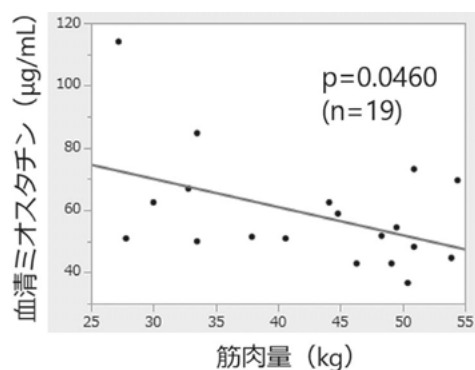


図5 体組成計による筋肉量と血清ミオスタチン値の相関関係

- ④ 膵切除を施行した高ミオスタチン症例の切除標本を確認したところ、間質細胞が豊富であり、CAFの増加がミオスタチン値に関連している可能性が示唆された（図6）。

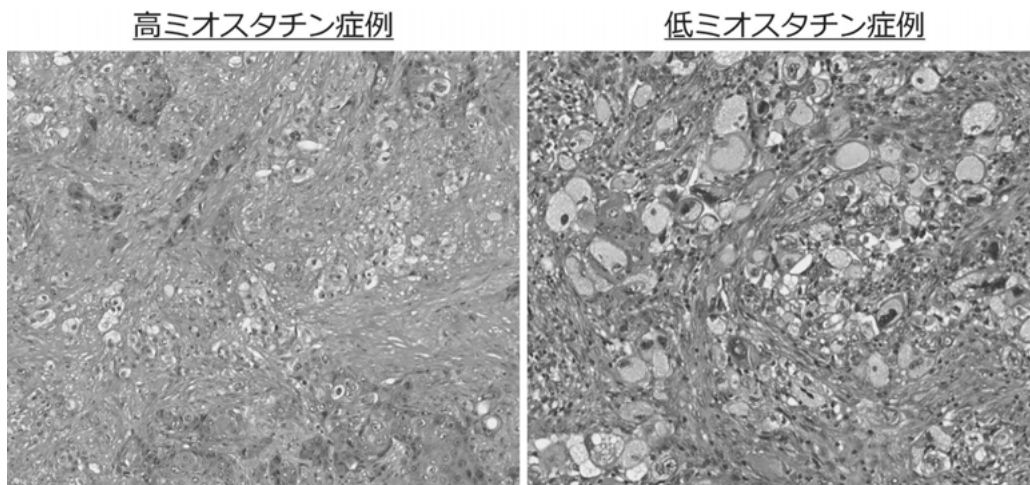


図6 切除標本のマイクロ写真。左：高ミオスタチン症例，右：低ミオスタチン症例

考 案

本研究では、癌微小環境の代表的な構成細胞であるCAFと、癌患者の全身の病態であるサルコペニアとの関わりに着目した。

我々は、これまでの研究において、CAFはBMP4を発現することで活性化し、癌微小環境においてIL-6、IL-8などの炎症性サイトカインを産生し、癌の増殖進展を促し、腫瘍関連マクロファージの誘導など、癌に有利な環境を作り出すことを明らかにしてきた³⁾。今回の検討において、ミオスタチンはCAFから分泌されており、オートクラインにより自己を活性化することが新たにわかった。ミオスタチンが癌の微小環境で作用していることが初めて確認された。肝癌においては、ミオスタチン値が高い症例は生命予後が不良であることも報告しており⁴⁾、膵癌においても同様の傾向があるのか今後明らかにする予定である。

臨床サンプルによる検討では、治療前の血清ミオスタチン値は筋肉量に相関することが分かった。ミオスタチンが上昇することで、サルコペニアが進行している可能性が示唆された。ただし、ミオスタチンはSMIとの相関は認めなかった。胃癌においては、サルコペニアになる以前からミオスタチン値の上昇が始まることが報告されており⁵⁾、膵癌においてもその時間差により相関が認められなかった可能性はある。また、SMIは横紋筋の断面から算出するものであり、筋肉の質や密度を反映していないことも影響している可能性がある。筋肉の質的評価も重要であることが報告されており⁶⁾、今後の検討課題である。

おわりに

今回の検討ではCAFがミオスタチンを介してサルコペニアを来している可能性が示唆された。予後の解析や動物モデルを使用した実証などで、より詳細な検証を行う必要があると考えられる。癌患者においてCAFがサルコペニアを誘導することが明らかになれば、CAFをターゲットとした治療により、サルコペニアの改善・治療が可能になる。

文 献

- 1) Wentz, SC, Zhao ZG, Shyr Y, et al: Lymph node ratio and preoperative CA 19-9 levels predict overall survival and recurrence-free survival in patients with resected pancreatic adenocarcinoma.

World J Gastrointest Oncol **4** (10) : 207–15, 2012.

- 2) Peng, P, Hyder O, Firoozmand A, et al: Impact of sarcopenia on outcomes following resection of pancreatic adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg* **16** (8) : 1478–86, 2012.
- 3) Mano Y, Yoshio S, Shoji H, et al: Bone morphogenetic protein 4 provides cancer-supportive phenotypes to liver fibroblasts in patients with hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol.* **54** (11) : 1007–18, 2019.
- 4) Yoshio S, Shimagaki T, Hashida R, et al: Myostatin as a fibroblast-activating factor impacts on postoperative outcome in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* **51** (7) : 803–12, 2021.
- 5) Aversa Z, Bonetto A, Penna F, et al: Changes in myostatin signaling in non-weight-losing cancer patients. *Ann Surg Oncol* **19** (4) : 1350–6, 2012.
- 6) Okumura S, Kaido T, Hamaguchi Y, et al: Impact of preoperative quality as well as quantity of skeletal muscle on survival after resection of pancreatic cancer. *Surgery* **157** (6) : 1088–98, 2015.

IDH 阻害剤抵抗性白血病を克服する スプライシング阻害療法の開発

吉見 昭秀*

要旨 スプライシング因子をコードする遺伝子変異の報告から数年が経ち、スプライシング変異は様々な造血器腫瘍において高頻度に同定されることが判明したが、いまだに白血病発症におけるスプライシング変異の役割は十分に解明されていない。特に、スプライシング変異とエピジェネティック変異は高頻度に共存することから、両者の協調作用がどのように起きるのかを探求することが重要である。本研究では、治療抵抗性の *IDH2/SRSF2* 両変異を持つ急性骨髄性白血病 (AML) 予後不良クラスターに対する新規治療法開発及び治療成績の改善を目指した。その結果、*IDH2/SRSF2* 両変異を持つ AML に対するスプライシング阻害剤や *IDH2* 変異特異的阻害剤、DNA 脱メチル化剤の有効な combination therapy を、患者由来細胞を用いた異種移植モデルによって同定することに成功し、AML に対して有望な治療法となる可能性を見出した。

はじめに

RNA スプライシングとは、mRNA 前駆体 (pre-mRNA) から intron を除去して成熟 mRNA を産生するプロセスのことを指す。スプライシング因子 (Splicing Factor; SF) をコードする遺伝子群の変異 (以下 SF 変異) が造血器腫瘍に高頻度に認められることが 2011 年にはじめて報告されて以来^{1) 2)}、SF 変異がスプライシング異常をきたす機序や、SF 変異を治療標的としたがん治療の可能性について、精力的に研究が進められてきた。SF 変異は、骨髄異形成症候群 (Myelodysplastic Syndromes; MDS; 30-75%)¹⁾⁻³⁾、慢性骨髄単球性白血病 (Chronic Myelomonocytic leukemia; CMML; ~50%)⁴⁾、二次性急性骨髄性白血病 (Acute Myeloid Leukemia; AML; ~55%)⁵⁾ などの骨髄系腫瘍だけでなく、慢性リンパ性白血病 (Chronic Lymphocytic leukemia; CLL; ~20%)^{6) 7)} などのリンパ系腫瘍や、乳癌、肺癌、膵癌などの固形腫瘍にも比較的高頻度 (~10%) に認められることがその後の研究で明らかになり⁸⁾⁻¹²⁾、その治療標的化は今後のがん治療において一つの重要な位置を占めると考えられる。多くの造血器腫瘍、特に MDS や CMML に対する治療成績は現状では満足できるものではなく、SF 変異を標的とした治療法が確立されれば、様々な造血器腫瘍、あるいはさらに固形腫瘍の治療成績向上に寄与すると考えられる。

研究の対象と背景

申請者は *SRSF2*, *SF3B1*, *U2AF1* などの RNA スプライシング因子をコードする遺伝子群の変異 (以下 SF 変異) が造血器腫瘍に高頻度に認められることに注目し、AML において *SRSF2* 変異が *IDH2* 変異と高頻度に共存し、*SRSF2* 変異によるグローバルなスプライシング異常と *IDH2* 変異による DNA メチル化が協調して白血病発症を誘導するメカニズムや¹³⁾、*SF3B1* 変異が *MYC/BCL2* を活性化して慢性リンパ性白血病発症に関わることを報告した¹⁴⁾。特に、前者の研究では、AML において SF 変異と *IDH2* 遺伝子などのエピジェネティクス制御因子の変異が、従来報告されていたよりもはるかに高頻度に共存し、一つの疾患クラスターを形成することを示した。また一方で、前臨床試験に活用可能な世界初の

* 国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所 がん RNA 研究ユニット

患者由来細胞異種移植 (Patient-derived xenograft) モデルの開発¹⁵を通じて、新規臨床グレードスプライシング阻害剤の開発を行った¹⁶⁾。

より詳細には、これらの研究により次に述べるようないくつかの事実が明らかになった。

1. *SRSF2* 変異は *IDH2* 変異と高頻度に共存する

TCGA AML cohort においては DNA シークエンスによって *SRSF2* 変異が 200 例中 1 例のみ (0.5%) に同定されていた。この比率は、同じ骨髄系腫瘍である MDS や CMML における SF 変異、あるいは *SRSF2* 変異の頻度と比較して極端に低い数値である。我々はまず既存のデータに基づき、*SRSF2* 変異に特徴的な 70 遺伝子におけるミスプライシングを定義した。このミスプライシングパターンをもとに TCGA AML cohort の全 RNA シークエンス (RNA-seq) データ (179 例) を解析したところ、19 例 (11%) の AML に *SRSF2* 変異に特徴的なミスプライシングパターンが同定された¹³⁾。実際に生データを検証すると、19 例全例に *SRSF2* 変異が検出された (感度・特異度ともに 100%)。この乖離は、*SRSF2*P95 hotspot 周辺が GC-rich な配列であるため、同領域の coverage が極端に低下するためと推測される。上記の結果から、*SRSF2* 変異は AML において 4-5 番目に多い遺伝子変異であり、当初考えられていたよりもかなり高頻度であることが判明した。面白いことに、*SRSF2* 変異を有する AML の約半数に *IDH2* 変異が見つかり、これらの遺伝子変異の有意な共存は Beat AML や Leucegene など他の cohort を含めた全 4,204 例の AML において繰り返し確認された。両変異の allele frequency の平均値は 30-40% と高く、ともに病初期から生じているものと考えられた。最近の報告において、clonal hematopoiesis の段階においても両遺伝子変異が有意に共存していたことも、上記のことを支持する可能性がある。これらの観察結果から、*SRSF2* 変異と *IDH2* 変異がなぜ、そしてどのように骨髄系腫瘍において協調するのかを詳しく調べることにした。

2. *SRSF2* 変異と *IDH2* 変異は in vivo で MDS/CMML を誘導する

まず両遺伝子変異による生物学的な影響を検討した。Srsf2P95H/+ cKI マウスの骨髄細胞に *IDH2*R140Q あるいは *IDH2*R172K を過剰発現させて骨髄移植実験を行うと、*IDH2*R140Q/Srsf2P95H double-mutant マウスは強い異形成および増殖性を示し、MDS ないし CMML を発症した。Srsf2P95H/+ cKI マウスと *Idh2*R140Q/+ cKI マウスを掛け合わせても同様の表現系が得られ、*Idh2*R140Q /Srsf2P95H double-mutant マウスの生存期間は Srsf2P95H あるいは *Idh2*R140Q single-mutant マウスと比較して有意に短かった。また、*Idh2*R140Q/Srsf2P95H double-mutant マウスの腫瘍細胞のみが二次移植にて生着し、再び MDS/CMML を発症させた。一方で Srsf2P95H との生物学的協調作用は、Tet2^{-/-} cKO マウスあるいは Tet2^{-/-}Asxl1^{-/-} cKO マウスと Srsf2P95H/+ cKI マウス掛け合わせの際には見られず、*Idh2*R140Q に特異的に見られる作用であることがわかった。TET2 変異に関する詳細な説明は省略するが、Tet2 単独欠失による DNA のメチル化 (後述) は *Idh2*R140Q 変異による DNA メチル化と比較して弱く、臨床検体においても同様の結果が得られたことから、*IDH2* 変異による強力な DNA メチル化が *SRSF2* 変異との協調に必要であることが示唆された。

3. スプライシング変異を有する腫瘍に対する治療戦略

現時点でスプライシングを標的とした治療は主に、(a) U2 snRNP の構成因子である SF3B を標的とした治療¹⁶⁾⁻¹⁹⁾、(b) *SRSF2* キナーゼである SPRK²⁰⁾ や CLK²¹⁾、SF3B1 キナーゼである DYRK²²⁾ などの splicing regulatory protein を標的とした治療、(c) “MYC-PRMT5-RNA スプライシング” axis を標的とした治療^{23) 24)}、(d) RBM39 を標的とした治療^{25) 26)}、などに大別される (図 1)。

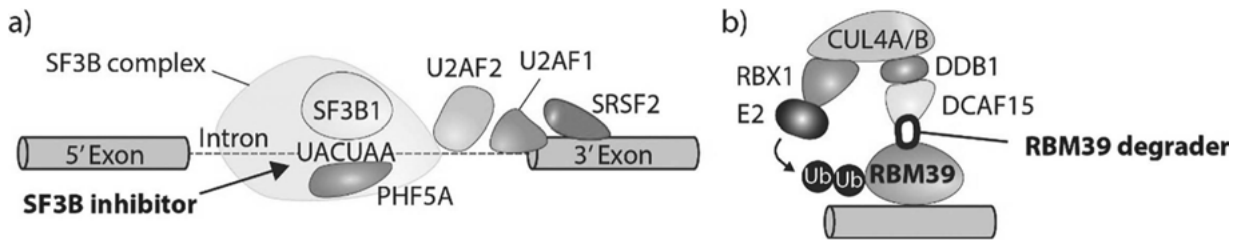


図1 スプライシング阻害剤の作用機序

これらのいわゆるスプライシング阻害剤は、概して野生型・変異型双方のスプライシングを阻害するが、前述のようにSF変異細胞が野生型スプライシングに依存して生存することから、SF変異細胞、SF野生型細胞をこれらの阻害剤で治療した際に治療ウィンドウが生じるものと考えられる。このようなスプライシング阻害剤の一例として、新規臨床グレードスプライシング阻害剤として開発されたH3B-8800は、*in vitro*においてSF3B1変異細胞に対する選択的治療効果が確認されたため¹⁶⁾、続けて前臨床試験としてAMLの患者サンプルを用いた異種移植 (patient-derived xenograft ; PDX) モデルでH3B-8800の効果を検証した。NSGSマウス (ヒトGM-CSF, IL-3, SCFを発現するNSGマウス) をレシピエントとして、SF3B1^{K700E}変異を有するAML、およびコントロールとしてSF変異のないAML PDXモデルを複製し、H3B-8800あるいはvehicleで10日間経口投与したところ、H3B-8800はSF3B1^{K700E}変異PDXに対して選択的に優れた効果を示した¹⁶⁾。CMMLはSRSF2変異が約半数の症例に認められるが、生存期間を延長するような治療法がほぼ皆無であることから、CMMLモデルを用いた新規治療法の開発が特に求められているが、これまで薬効評価が可能な細胞株やPDXモデルが存在していなかった。上記のNSGSマウスはヒトGM-CSFを発現するが、CMML細胞はGM-CSFに対する依存性が高いことから、NSGSマウスをレシピエントとして使用し、さらにCD34を用いて未分化な分画を分取し、骨髓内注射を行った結果、十分に薬効評価が可能なPDXモデルが樹立された^{15) 27) 28)}。そこで、CMML患者サンプル (うち3人がSRSF2変異陽性) を用いたPDXモデルで治療効果を比較した結果、H3B-8800はSRSF2変異陽性CMML PDXに対して選択的に優れた効果を示した¹⁶⁾。上記の結果を受けて、再発・難治AML, MDS, CMML患者に対するH3B-8800の臨床試験が進行中である (clinicaltrials.gov identifier NCT02841540)。

上記のスプライシング阻害剤の多くはSF変異を有する細胞に対して選択的な治療効果を示しており、前臨床試験・臨床試験による治療効果・安全性の評価が待たれる。

本研究提案の契機

上記の研究により、IDH2/SRSF2両変異を持つAMLはそうでないAMLと比較して高齢者に多くみられ、予後が悪い (図2) ことが新たに判明した。

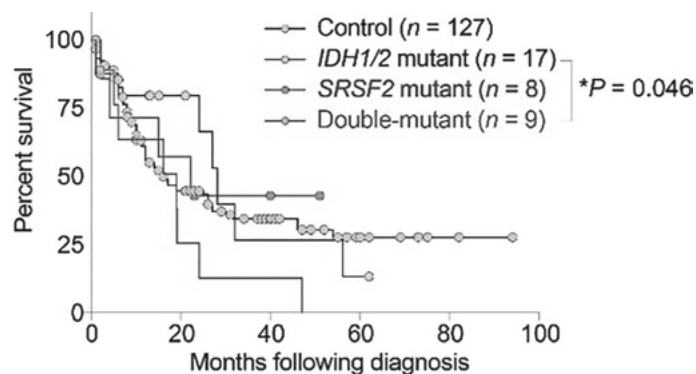


図2 IDH2/SRSF2変異の有無によるAML全生存率

また IDH2 変異特異的阻害剤 AG-221 の臨床試験において、両変異を持つ AML は IDH2 阻害剤に治療抵抗性を示すことがわかった²⁹⁾。以上のことから、治療抵抗性の IDH2/SRSF2 両変異を持つ AML 予後不良クラスターに対しては新たな治療戦略を確立することが急務であることと考えられた。また、申請者は IDH2/SRSF2 両変異を持つ AML においては、SRSF2 変異によるグローバルなスプライシング異常と IDH2 変異による DNA メチル化が相互に影響し合うことによって病態形成に重要な役割を果たすことを明らかにした。つまり、スプライシング異常と DNA メチル化の密接なリンクをそれぞれの阻害剤によって分断することによって、IDH2/SRSF2 両変異を持つ AML 細胞を効率的に駆逐できる可能性が高いと考えられた。そこで本研究では、同疾患クラスターに対する新規治療法開発を通じて、治療成績の改善を目指すことを目標とした。

研究方法と結果

本研究では、上述の仮説に基づいて、スプライシング阻害剤 H3B-8800 と IDH2 変異特異的阻害剤 AG-221 (enasidenib) を組み合わせることによる治療効果を比較し、IDH2/SRSF2 両変異を持つ AML に対する新規治療法の確立を目指す。すなわち、治療抵抗性の *Idh2/Srsf2* 両変異を持つマウスモデルを作製し、H3B-8800 + AG-221 による combination の薬効を評価し、両変異を持つ造血器腫瘍に対する最適な治療法を確定する。具体的には、図 3 に示すデザインで研究を進めた。

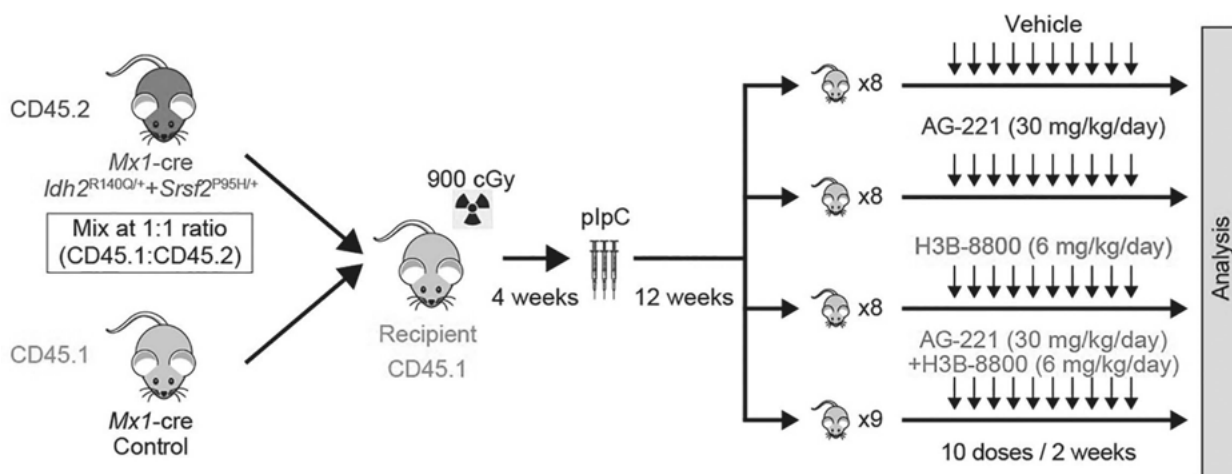


図 3 実験デザイン

準備段階-1：

H3B-8800 + AG-221 の combination については、安全な至適投与量が不明であるため、各 combination の薬剤投与量を振って正常マウスに 2 週間投与を継続し、10% を越える体重減少やその他の異常が生じない投与量を決定した。

準備段階-2：

至適投与量を決定した上で、*Idh2/Srsf2* 両変異を持つマウスモデルに薬剤を 2 週間投与し、キメリズムの変化を観察した。

結果：

準備段階-2 で樹立したマウスモデルを 33 匹準備し、至適投与量を用いて、H3B-8800 + AG-221 の combination の効果を検討した。その結果、*Idh2R140Q + Srsf2P95H* 遺伝子改変マウスモデルにおいては、IDH2 阻害に抵抗性を示すのに対してスプライシング阻害剤が奏効し、特に AG-221 と H3B-8800 を

併用した際に相乗効果が得られることが判明した (図 4)。

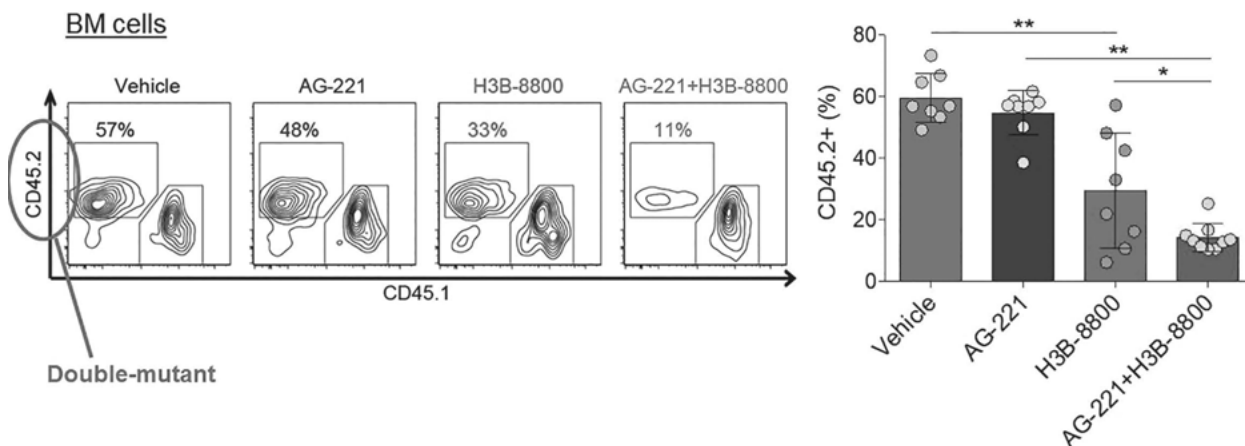


図 4 実験結果

左：代表的な flow cytometry の結果
 右：定量結果 (*P<0.05; **P<0.01; one-way ANOVA+Tukey's multiple comparison test)

考 按

上記の研究では、*SRSF2* 変異と *IDH2* 変異が白血病において、相互に DNA メチル化と RNA スプライシングに影響し合うことで悪化させていることが病態の鍵となっていることから、両者のリンクを断ち切るべく、両者を標的とした治療法の開発に取り組んだ。結果として、変異型 *IDH2* 阻害およびスプライシング阻害の併用が、*IDH2/SRSF2* 両変異を有する造血器細胞の治療に有望であることが判明した。この観察結果は、*IDH2/SRSF2* 両変異を有する AML が変異型 *IDH2* 阻害薬単独に抵抗性であるという臨床試験の観察結果ともよく合致しており、*IDH2* 阻害薬に薬理学的スプライシング阻害を併用することにより、*SRSF2* 変異が *IDH2* 阻害剤に対する脆弱性を付与するとも解釈できる。すなわち、*IDH2/SRSF2* 両変異を有する AML はスプライシング異常とエピゲノム異常が相互に影響し合うメカニズムに依存して AML を維持している可能性が高いと考えられ、*IDH2* 阻害に抵抗性を示す *IDH2/SRSF2* 変異 AML の予後を改善する治療戦略の一つとして、今後臨床試験による検討を進めるべきであると考えられた。

おわりに

上記の研究は、スプライシング異常とエピゲノム異常の cross talk を契機に治療戦略を検討した研究であるが、一方で、この複雑なメカニズムを深く理解するには、さらに様々な分子メカニズムを解きほぐしていくことが必要である。例えば、なぜ *IDH2/SRSF2* 変異 AML は、*IDH2* 阻害に抵抗性を示すのか、薬理学的スプライシング阻害は単独あるいは *IDH2* 阻害との併用により、*IDH2/SRSF2* 変異細胞内でのような変化をスプライシングやエピゲノムに惹起しているのか、など、解明すべき問題は多く残されている。近年、変異型 *IDH1/2* および SF を標的とした治療開発の重要性はますます増しており、これらの課題を一つ一つ解決していくことが、治療抵抗性 AML に対するより良い治療法の開発につながるものと信じる。

謝 辞

最後になりましたが、本研究はがん集学的治療研究財団から頂いた第 41 回一般研究助成によるご支援を頂き、実施することができました。この場をお借りして深謝いたします。

参考文献

- 1) Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulton J, et al: Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med.* **365** : 1384-95, 2011.
- 2) Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y, et al: Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature.* **478** : 64-9, 2011.
- 3) Graubert TA, Shen D, Ding L, et al: Recurrent mutations in the U2AF1 splicing factor in myelodysplastic syndromes. *Nat Genet.* **44** : 53-7, 2011.
- 4) Meggendorfer M, Roller A, Haferlach T, et al: SRSF2 mutations in 275 cases with chronic myelomonocytic leukemia (CMML). *Blood.* **120** : 3080-8, 2012.
- 5) Lindsley RC, Mar BG, Mazzola E, et al: Acute myeloid leukemia ontogeny is defined by distinct somatic mutations. *Blood.* **125** : 1367-76, 2015.
- 6) Quesada V, Conde L, Villamor N, et al: Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia. *Nat Genet.* **44** : 47-52, 2012.
- 7) Wang L, Lawrence MS, Wan Y, et al: SF3B1 and other novel cancer genes in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* **365** : 2497-506, 2011.
- 8) Bailey P, Chang DK, Nones K, et al: Genomic analyses identify molecular subtypes of pancreatic cancer. *Nature.* **531** : 47-52, 2016.
- 9) Imielinski M, Berger AH, Hammerman PS, et al: Mapping the hallmarks of lung adenocarcinoma with massively parallel sequencing. *Cell.* **150** : 1107-20, 2012.
- 10) Martin M, Masshofer L, Temming P, et al: Exome sequencing identifies recurrent somatic mutations in EIF1AX and SF3B1 in uveal melanoma with disomy 3. *Nat Genet.* **45** : 933-6, 2013.
- 11) Nik-Zainal S, Davies H, Staaf J, et al: Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences. *Nature.* **534** : 47-54, 2016.
- 12) Seiler M, Peng S, Agrawal AA, et al: Somatic Mutational Landscape of Splicing Factor Genes and Their Functional Consequences across 33 Cancer Types. *Cell Rep.* **23** : 282-96 e284, 2018.
- 13) Yoshimi A, Lin KT, Wiseman DH, et al: Coordinated alterations in RNA splicing and epigenetic regulation drive leukaemogenesis. *Nature.* **574** : 273-7, 2019.
- 14) Liu Z, Yoshimi A, Wang J, et al: Mutations in the RNA Splicing Factor SF3B1 Promote Tumorigenesis through MYC Stabilization. *Cancer Discov.* **10** : 806-21, 2020.
- 15) Yoshimi A, Balasis ME, Vedder A, et al: Robust patient-derived xenografts of MDS/MPN overlap syndromes capture the unique characteristics of CMML and JMML. *Blood.* **130** : 397-407, 2017.
- 16) Seiler M, Yoshimi A, Darman R, et al: H3B-8800, an orally available small-molecule splicing modulator, induces lethality in spliceosome-mutant cancers. *Nat Med.* **24** : 497-504, 2018.
- 17) Eskens FA, Ramos FJ, Burger H, et al: Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of the first-in-class spliceosome inhibitor E7107 in patients with advanced solid tumors. *Clin Cancer Res.* **19** : 6296-304, 2013.
- 18) Hong DS, Kurzrock R, Naing A, et al: A phase I, open-label, single-arm, dose-escalation study of E7107, a precursor messenger ribonucleic acid (pre-mRNA) spliceosome inhibitor administered intravenously on days 1 and 8 every 21 days to patients with solid tumors. *Invest New Drugs.* **32** : 436-44, 2014.
- 19) Lee SC, Dvinge H, Kim E, et al: Modulation of splicing catalysis for therapeutic targeting of

- leukemia with mutations in genes encoding spliceosomal proteins. *Nat Med.* **22** : 672-8, 2016.
- 20) Zhong XY, Ding JH, Adams JA, Ghosh G, Fu XD. Regulation of SR protein phosphorylation and alternative splicing by modulating kinetic interactions of SRPK1 with molecular chaperones. *Genes Dev.* **23** : 482-95, 2009.
 - 21) Araki S, Dairiki R, Nakayama Y, et al: Inhibitors of CLK protein kinases suppress cell growth and induce apoptosis by modulating pre-mRNA splicing. *PLoS One.* **10** : e0116929, 2015.
 - 22) de Graaf K, Hekerman P, Spelten O, et al: Characterization of cyclin L2, a novel cyclin with an arginine/serine-rich domain: phosphorylation by DYRK1A and colocalization with splicing factors. *J Biol Chem.* **279** : 4612-24, 2004.
 - 23) Fong JY, Pignata L, Goy PA, et al: Therapeutic Targeting of RNA Splicing Catalysis through Inhibition of Protein Arginine Methylation. *Cancer Cell.* **36** : 194-209 e199, 2019.
 - 24) Hsu TY, Simon LM, Neill NJ, et al: The spliceosome is a therapeutic vulnerability in MYC-driven cancer. *Nature.* **525** : 384-8, 2015.
 - 25) Han T, Goralski M, Gaskill N, et al: Anticancer sulfonamides target splicing by inducing RBM39 degradation via recruitment to DCAF15. *Science.* **356** : 2017.
 - 26) Wang E, Lu SX, Pastore A, et al: Targeting an RNA-Binding Protein Network in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Cell.* **35** : 369-84 e367, 2019.
 - 27) Cimmino L, Dolgalev I, Wang Y, et al: Restoration of TET2 Function Blocks Aberrant Self-Renewal and Leukemia Progression. *Cell.* **170** : 1079-95 e1020, 2017.
 - 28) Durham BH, Roos-Weil D, Baillou C, et al: Functional evidence for derivation of systemic histiocytic neoplasms from hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood.* **130** : 176-80, 2017.
 - 29) Stein EM, DiNardo CD, Fathi AT, et al: Molecular remission and response patterns in patients with mutant-IDH2 acute myeloid leukemia treated with enasidenib. *Blood.* **133** : 676-87, 2019.

深層学習による肺癌免疫療法の効果予測 AI の開発

豊川 剛二*, 山下 貴範**, 奥 結華**.***, 高森 信吉****,
原武 直紀***, 竹中 朋祐***, 岡本 龍郎****, 山崎 宏司*****,
上田 仁*, 竹尾 貞徳*****, 岡本 勇*****, 中島 直樹**

要旨 肺癌は非常に悪性度の高い癌種であるが、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）の出現により治療成績は改善しつつある。Programmed death-ligand 1（PD-L1）がICIの効果予測マーカーとして報告されているが、真にICIの効果を予測するマーカーは確立していない。そのため、高精度にICIの効果を予測することが重要な臨床的課題である。本研究では1次治療としてICI単剤、またはICI+細胞傷害性抗癌剤を投与された218例の非小細胞肺癌を対象とした。53の臨床病理学的因子（患者背景因子、血液検査結果、PD-L1発現など）を説明変数とし、機械学習モデルを用いて目的変数である全生存との関連を解析した。機械学習モデルによる予測精度はAUC 0.733であり、全生存を予測する因子としてCRP、およびCYFRAの寄与度が非常に高いと予測された。Wilcoxon検定においてもCRPとCYFRAの中央値は死亡群で生存群よりも有意に高かった（各々、 $P < 0.0001$ ）。今後、ICIが奏効する症例の適切かつ迅速なトリアージに向けて本結果の臨床的応用が期待される。

はじめに

人工知能（AI）は医療の分野での応用が期待され、特に画像診断や病理診断においてその有効性が示されつつある。例えば、画像認識の技術を競うISLVC（ImageNet Large Scale Visual Recognition Competition）において人間のエラー率が約5%と言われる中、2015年に深層学習（Deep Learning）を用いたMicrosoft Researchがエラー率3.57%を達成しており、AIによる画像認識精度はすでに人間を上回っているとされる¹⁾。また、病理の分野においてAIの開発は大きく進んでおり、我々はこれまでに高い精度で肺癌と非腫瘍病変を識別するモデル（AUC 0.974-0.988）、ならびに主要な肺癌組織型を識別するモデル（AUC 0.964-0.995）を確立した^{2) 3)}。これによって迅速な肺癌の病理診断が可能になるとともに、病理医の日常業務の負担軽減につながる可能性がある。それに加えて、AIに期待されるものは「ヒトでは見えないもの・識別できないもの」を予測・予想することであり、臨床的な治療効果や予後予測が可能なAIモデルの確立が喫緊の課題である。実際に我々は臨床情報、病理学的特徴、血液データから非小細胞肺癌（NSCLC）切除例における術後再発を高精度に予測するAIモデルの確立に成功した（論文作成中）。

免疫チェックポイント阻害剤（ICI）は肺癌のみならず多くの癌腫の治療においてパラダイムシフトを起こし、標準治療として確立するに至った⁴⁾。肺癌、特にNSCLCでは単剤、併用療法、および化学放射線療法後の地固め療法としてICIが投与される。従来、programmed death-ligand 1（PD-L1）などが効

* 国立病院機構福岡病院・外科
** 九州大学病院・メディカルインフォメーションセンター
*** 九州大学大学院・消化器総合外科
**** 国立病院機構九州がんセンター・呼吸器腫瘍科
***** 国立病院機構九州医療センター・呼吸器外科
***** 九州大学病院・呼吸器科

果予測バイオマーカーとして重要とされていたが、現在では絶対的なバイオマーカーとはされていない。また、これまでに我々はPET/CTによる腫瘍の糖代謝活性⁵⁾や、アルブミンと総リンパ球数から算出される prognostic nutritional index (PNI) などの免疫・栄養状態⁶⁾などがICI効果予測マーカーとなる可能性を報告した。しかし、真にICIの効果予測するマーカーは現時点では確立していない。本研究では、「ヒトでは識別できないもの」を予測することが可能なAIによって、最適な免疫療法効果予測モデルの確立を目指す。

対 象

福岡病院、九州大学病院、九州医療センター、および九州がんセンターで行う多施設共同研究である。2016年1月から2020年10月までに上記4施設で1次治療としてICI単剤（ペンブロリズマブ）、またはICI（ペンブロリズマブ、またはアテゾリズマブ）+細胞傷害性抗腫瘍剤（シスプラチン+ペメトレキセド、カルボプラチン+パクリタキセル、カルボプラチン+nabパクリタキセル、シスプラチン+ペメトレキセド+ベバシズマブ、カルボプラチン+ペメトレキセド、カルボプラチン+ペメトレキセド+ベバシズマブ、カルボプラチン+パクリタキセル+ベバシズマブ）を投与された、非切除進行期、または術後再発のNS-CLC 218例を後方視的に抽出し、解析を行った（表1）。本研究は各施設のIRBにおいて承認された（福岡病院：F3-8；九州大学病院：2021-103；九州医療センター：21C083；九州がんセンター：2021-21）。

表1 患者背景 (N = 218)

患者背景因子		N (%)
年齢 (歳)	中央値	69
	範囲	36 - 85
性別	女性	53 (24.3%)
	男性	165 (75.7%)
喫煙歴	なし	32 (14.7%)
	あり	185 (84.9%)
	不明	1 (0.4%)
BMI (kg/m ²)	中央値	21.3
	範囲	12.8 - 38.3
ECOG PS	0	107 (49.1%)
	1	94 (43.1%)
	2	13 (6.0%)
	Unknown	4 (1.8%)
組織型	扁平上皮癌	51 (23.4%)
	非扁平上皮癌	165 (75.7%)
	その他	2 (0.9%)
PD-L1 (22C3) TPS	< 1%	36 (16.5%)
	≥ 1% and < 50%	42 (19.3%)
	≥ 50%	128 (58.7%)
	Unknown	12 (5.5%)
治療内容	Pembrolizumab 単剤	91 (41.7%)
	ICI + 細胞傷害性抗腫瘍剤	127 (58.3%)
免疫関連有害事象	あり	101 (46.3%)
	なし	117 (53.7%)

BMI, body mass index; PD-L1, programmed cell death-ligand 1; PS, performance status; TPS, tumor proportion score.

方 法

I. 上記症例に関して、以下の 53 の情報を診療録から取得し機械学習における説明変数とする。

- 1) 臨床情報 (年齢, 性別, 身長・体重から算出される BMI, 喫煙歴 [1 日の喫煙本数, 喫煙本数, 禁煙の有無], Performance status [PS], 臨床病期)
- 2) 治療レジメン (ICI 単剤 vs ICI+ 細胞傷害性抗癌剤)
- 3) 血液所見 (WBC, RBC, Hb, PLT, Neut, Lymph, TP, Alb, AMY, AST, ALT, γ GTP, ALP, LDH, CHE, T. Bil, D. Bil, CK, CRP, T. chol, TG, HDLC, LDLC, BUN, Cr, Na, K, Cl, Ca, IP, CEA, SCC, CYFRA, NSE, ProGRP, KL-6)
- 4) 病理診断結果, PD-L1 発現 (tumor proportion score [TPS] : 0%, 1-49%, 50-100%)
- 5) 遺伝子検査所見 (*EGFR* 変異, *ALK* 融合遺伝子, *ROS1* 融合遺伝子や *BRAF* 変異の有無)
- 6) CTCAE による免疫関連有害事象 (irAE)

全生存 (OS) を目的変数とし、以下の機械学習モデルを用いて目的変数と説明変数の関連を解析する (主要評価項目)。

II. 機械学習アルゴリズムは Gradient Boosting Decision Tree (GBDT) によって予測し⁷⁾、各変数の重要度は Shapley Additive explanation (SHAP) を用いて解釈する^{8) 9)}。SHAP は、SHAP 総合プロットで変数重要度とアウトカムへの影響を一望でき、再計算を必要とすることなく、変数のグループ化を用いることができ、交互作用項の発見がしやすくなる等、医療データを基にした機械学習モデルの解釈が容易になったことが示されている¹⁰⁾。また、GBDT で上位 20 番までの目的変数について、連続変数は Wilcoxon の符号付順位検定を、カテゴリカル変数はカイ二乗検定を用いて、死亡群と生存群の中央値とカテゴリ変数の差を比較した。

成 績

I. 患者背景について

表 1 に患者背景を示す。218 例の年齢中央値は 69 歳 (36-85 歳) であり、165 人 (75.7%) が男性であった。喫煙歴は 185 人 (84.9%) に認められた。BMI 中央値は 21.3 (12.8-38.3) であり、PS は 0, 1, および 2 が各々 107 人 (49.1%), 94 人 (43.1%), および 13 人 (6.0%) であった。組織型は扁平上皮癌と非扁平上皮癌が各々 51 人 (23.4%) と 165 例 (75.7%) に認められた。PD-L1 TPS は 36 人 (16.5%), 42 人 (19.3%), および 128 人 (58.7%) が各々 0%, 1-49%, および 50-100% であった。irAE は 101 人 (46.3%) に認められた。

II. 機械学習による解析

上記の 53 の説明変数と目的変数に対する GBDT と SHAP を用いて特徴量抽出を行った。全生存を目的変数とした GBDT (AUC=0.733) は「CRP」, 「CYFRA」 「ALP」, 「Cl」 や 「リンパ球数」が上位に見られた (図 1)。SHAP の解析は GBDT と比較してほとんど同じ変数が上位に抽出された。SHAP 総合プロットは、予測に対する特徴量が高い説明変数が上から順に並ぶ。各行は各説明変数に対応し、その中の各点が 1 症例を表す、赤色が症例の当該変数の値が大きいことを、青色は小さいことを示す。横軸は SHAP 値であり、ロジスティック回帰では対数オッズに対応する (図 2)。代表例として、CRP と CYFRA の SHAP Dependence Plot による図を示す (図 3, および図 4)。SHAP Dependence Plot は縦軸が SHAP 値であり大きい値ほどリスクが大きい。横軸は各変数の値を示す。次に、GBDT で上位 20 番

までの目的変数について、生存群と死亡群での中央値の差を比較した。CRP（死亡群：3.98 vs 生存群：0.75, $P < 0.0001$ ）、CYFRA（死亡群：10.36 vs 生存群：3.80, $P < 0.0001$ ）、CL（死亡群：101 vs 生存群：104, $P < 0.0001$ ）、リンパ球数（死亡群：1285 vs 生存群：1472, $P = 0.0118$ ）、WBC（死亡群：3.98 vs 生存群：0.75, $P < 0.0001$ ）、 γ GTP（死亡群：47 vs 生存群：29, $P = 0.0033$ ）、ALB（死亡群：3.2 vs 生存群：3.7, $P < 0.0001$ ）、Hb（死亡群：12.1 vs 生存群：13.2, $P = 0.0086$ ）、RBC（死亡群：400万 vs 生存群：424万, $P = 0.0079$ ）、PLT（死亡群：31.4万 vs 生存群：26.9万, $P = 0.0038$ ）、AMY（死亡群：55 vs 生存群：71, $P = 0.0037$ ）であり、死亡群と生存群で各検査値中央値に有意差が認められた（表2）。また、PSについて生存群と比して死亡群で有意にPS 1以上が多かった。

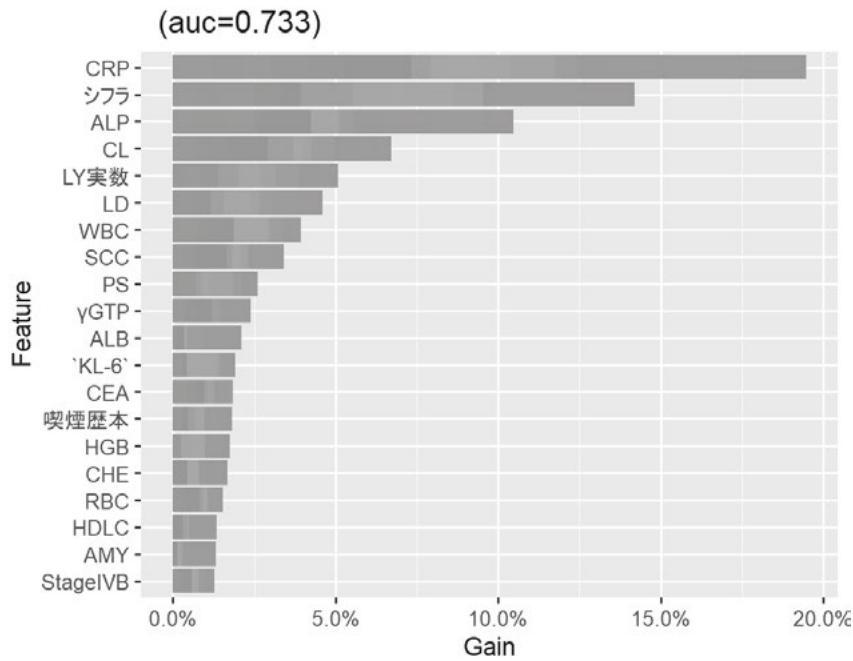


図1 GBDTによる変数重要度グラフ（目的変数：全生存）

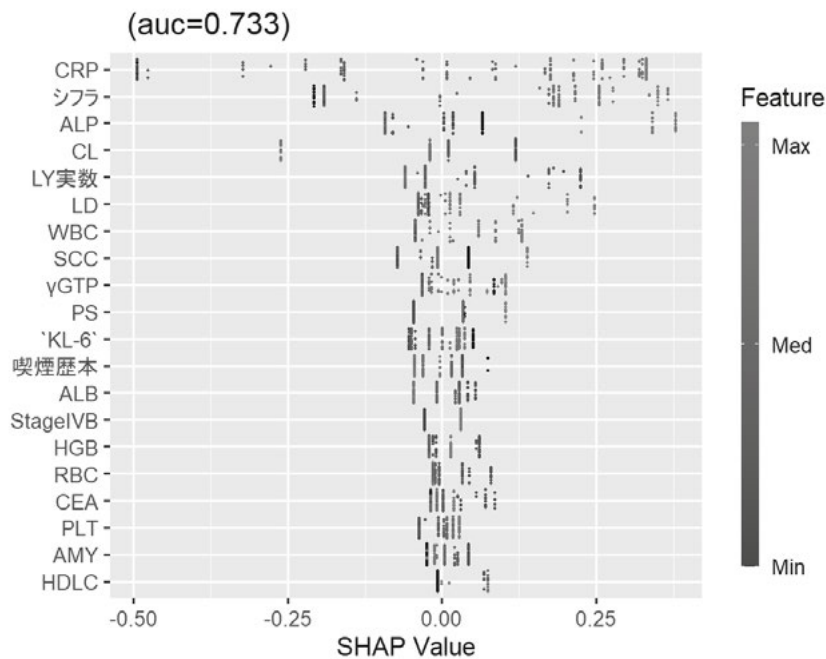


図2 SHAP 総合プロットによる変数重要度グラフ（目的変数：全生存）

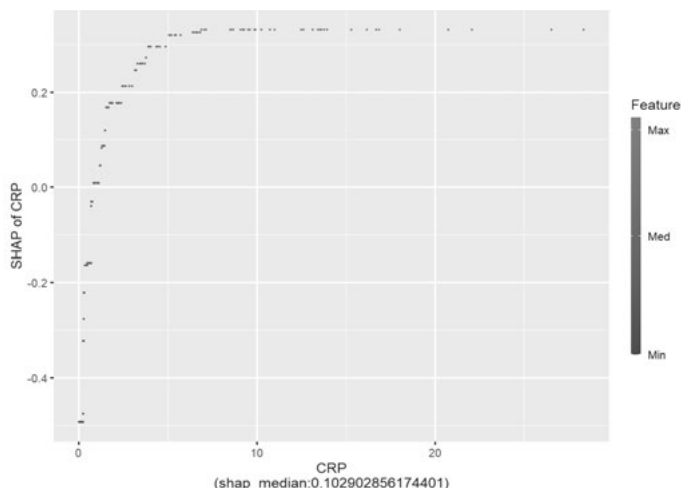


図3 SHAP Dependence Plot による CRP 値とリスク（目的変数：全生存）の関係

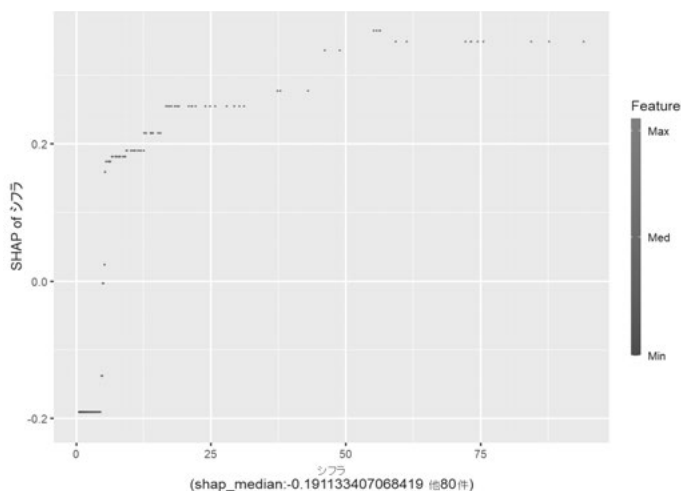


図4 SHAP Dependence Plot による CYFRA 値とリスク（目的変数：全生存）の関係

表2 Wilcoxon 検定による死亡群と生存群における各変数中央値の比較

変数	死亡群 (中央値)	生存群 (中央値)	P値
CRP	3.98 (1.625-9.165)	0.75 (0.175-2.79)	<.0001*
シフラ	10.36 (4.7-24.8)	3.8 (2.1-9.5)	<.0001*
ALP	279 (200.5-386)	253 (222-297.5)	0.1329
CL	101 (99-104)	104 (102-106)	<.0001*
LY 実数	1285 (925.32-1639.74)	1471.86 (1180.44-1770.04)	0.0118*
LD	239 (182.5-385)	211 (184-254)	0.0250*
WBC	9300 (5985-11705)	6940 (5970-8890)	0.0057*
SCC	1.4 (0.825-2.2)	1.0 (0.8-1.95)	0.1928
γGTP	47 (26.5-96.5)	29 (22-47)	0.0033*
KL-6	489 (294-895.5)	366 (249-665)	0.0528
喫煙本数	25 (20-40)	34 (15-46)	0.3190
ALB	3.2 (2.65-3.7)	3.7 (3.3-4.1)	<.0001*
HGB	12.1 (9.9-13.65)	13.2 (11.8-13.9)	0.0086*
RBC	4.00 (3.485-4.47)	4.24 (3.85-4.65)	0.0079*
CEA	6.05 (2.675-45.05)	6 (3.05-27.7)	0.9321
PLT	314 (248-388.5)	269 (219-326)	0.0038*
AMY	55 (42.25-78)	71 (55-94.25)	0.0037*
HDLC	45 (39.25-51.75)	43 (36.25-58.25)	0.7335

*: P<0.05

考 按

本研究において、機械学習によって1次治療の免疫療法を受けたNSCLC症例の全生存を予測する患者背景因子として、CRPやCYFRAなどが上位であることが示された。機械学習によって免疫療法の治療効果予測因子を網羅的に解析した報告はこれまでにない。また、実臨床の場で免疫療法効果予測因子として用いられているPD-L1の発現よりもCRPやCYFRAが上位であったことは、非常に興味深い結果である。また、解釈は難しいものの肝胆道系酵素やCLなども免疫療法治療後の予後に寄与することは臨床的に興味深い結果と考えられる。本研究結果から、PD-L1発現のみならず、治療前の血液検査項目も参考にして治療効果を予測することが重要であることを示唆される。本研究はICIの恩恵を真に受けることのできる肺癌患者を治療前に同定できる可能性を示した点で、「肺癌患者や医療者にとって治療面でプラスになる」研究であると言える。さらに、本研究結果は肺癌以外の癌種におけるICI効果予測にも応用できる可能性があるため、臨床的意義が非常に大きいと考えられる。

昨今、deep learningなどに代表されるAIの開発が盛んに行われており、病理診断や画像診断においてその有用性が示されつつあり、多くの分野で技術とヒトとのかかわり方に大きな変革をもたらしている。内閣府主導により、(1)AIホスピタルプロジェクト、(2)ビッグデータの活用による医療の質の向上、(3)診療をサポートするAI技術開発、などが進められており、AIは今後、医療現場を劇的に変革するものと考えられる。しかし、医療に関するAIは研究段階のものが多く、また日常診療でAIを活用できる環境が十分に整備されていないため、臨床応用されるには時間を要するものと考えられる。

肺癌領域に特化したAIの報告例は少ないのが実情である。肺癌組織型を認識するAIモデル¹¹⁾やリンパ節転移を検出するAIモデル¹²⁾などが報告されている。肺癌組織型を認識するAIモデルに関する報告では、浸潤癌と非浸潤癌を識別するモデルの確立が試みられたが、病理医とAIモデルとの一致度が非常に低く、臨床応用には程遠い内容であった¹¹⁾。また、CodrayらによってHE画像から遺伝子変異を予測するAIモデルの研究が行われたが、現時点では臨床応用するには十分な精度ではない¹³⁾。このように、肺癌診療におけるAI研究は黎明期にあるといえ、さらなる発展が望まれる。

医療経済面では、患者1人がICI単剤、またはICI+細胞傷害性抗癌剤による治療を1年間受ける場合、約1100万円-2000万円の薬価を要する。肺癌の罹患率・死亡率が非常に多いことを考慮すると、ICIによる治療費が医療経済を逼迫することは自明である。そのため、本研究結果をもとにICIが奏効する症例を適切にトリアージできれば、我が国のみならず世界中の医療経済の負担を大幅に軽減できる可能性がある。

おわりに

本研究において、機械学習によって免疫療法投与症例における予後因子を同定した。今後、より大規模な症例を用いて本研究結果を検証する必要がある。

謝 辞

本研究は公益財団法人がん集学的治療研究財団の助成により推進することができました。ここに心より厚くお礼を申し上げます。

文 献

- 1) ISLVR (ImageNet Large Scale Visual Recognition Competition), <http://www.image-net.org/challenges/LSVRC/>
- 2) Kanavati F, Toyokawa G, Momosaki S, et al: Weakly-supervised learning for lung carcinoma classification using deep learning. *Sci Rep* **10** : 9297, 2020.

- 3) Kanavati F, Toyokawa G, Momosaki S, et al: A deep learning model for the classification of indeterminate lung carcinoma in biopsy whole slide images. *Sci Rep* **11** : 810, 2021.
- 4) Shukla ND, Salahudeen AA, Taylor GA, et al: Update on International Cooperative Groups Studies in Thoracic Malignancies: The Emergence of Immunotherapy. *Clin Lung Cancer* **19** : 377-86, 2018.
- 5) Takada K, Toyokawa G, Yoneshima Y, et al: ¹⁸F-FDG uptake in PET/CT is a potential predictive biomarker of response to anti-PD-1 antibody therapy in non-small cell lung cancer. *Sci Rep* **9** : 13362, 2019.
- 6) Shoji F, Takeoka H, Kozuma Y, et al: Pretreatment prognostic nutritional index as a novel biomarker in non-small cell lung cancer patients with immune checkpoint inhibitors. *Lung Cancer* **136** : 45-51, 2019.
- 7) Friedman JH: Greedy Function Approximation: A Gradient Boosting Machine. *Ann Statist* **29** : 1189-232, 2001.
- 8) Lundberg SM, Lee SI. A Unified Approach to Interpreting Model Predictions. *Proc Adv Neural Informat Proc System* **30** : 4768-77, 2017.
- 9) Lundberg SM, Erion GG, Lee SI. Consistent individualized feature attribution for tree ensembles. arXiv : 180203888, 2018.
- 10) 野原康伸, 松本晃太郎, 副島秀久・他: Shapley Additive Explanation を用いた機械学習モデルの解釈と医療実データへの応用. 第23回日本医療情報学会春季学術大会. 60-1, 2019.
- 11) Wei JW, Tafe LJ, Linnik YA, et al: Pathologist-level classification of histologic patterns on resected lung adenocarcinoma slides with deep neural networks. *Sci Rep* **9** : 3358, 2019.
- 12) Pham HHN, Futakuchi M, Bychkov A, et al: Detection of Lung Cancer Lymph Node Metastases from Whole-Slide Histopathologic Images Using a Two-Step Deep Learning Approach. *Am J Pathol* **189** : 2428-39, 2019.
- 13) Coudray N, Ocampo PS, Sakellaropoulos T, et al: Classification and mutation prediction from non-small cell lung cancer histopathology images using deep learning. *Nat Med* **24** : 1559-67, 2018.

研究経過報告書執筆要項

(1) 研究記録集出版のため、下記の基準で論文（日本文）を作成して下さい。

要 旨	400字 × 1枚
本 文	400字 × 10枚
写真・図表	10枚以内（写真はモノクロ，図表は Microsoft PowerPoint, Excel）
引用文献	10位

(2) 標準形式（Microsoft Word, CSV, テキスト）または PDF 形式（文字の取り出しが可能な形式）で保存し、電子メール（jfmc@jfmc.or.jp）に添付，または，メモリーカード等の外部メディアに記録してご提出ください。

(3) 薬品の商品名（欧文）は大文字，学名，一般名は小文字で記載下さい。

(4) 数字は算用数字を用い，度量衡単位は CGS 単位で m, cm, mm, cm², ml, l, dl, kg, g, mg などとして下さい。

(5) 写真は手札型以上の大きさと鮮明であること，文字や矢印を記号する場合はトレーシングペーパーをかけた上に明記して下さい。

(6) 原稿は原則として返却いたしません。写真，図などで返却を要するものにはその旨明記して下さい。

(7) 文献は本文中に引用されたもののみをあげて下さい。本文中の引用箇所には肩番号を付して下さい。

(8) 文献の書き方は次のように統一して下さい。

引用文献，著者名は 3 人まで記し，それ以上は「他」「et al」として下さい。

外国文献の記載形式は Index Medicus 所載に準じて下さい。

雑誌の場合→引用番号) 著者名：論文題名，雑誌名，巻数，頁数（西暦年号）

単行本の場合→引用番号) 著者名：論文題名，書名（編者名），版，頁，発行所名，発行地，（西暦年号）

- 例 1) 田口鐵男，古江 尚，塚越 茂，他：胃癌の化学療法. 癌と化学療法 **7**(12) : 109-14, 1980.
2) 幕内雅敏，長谷川博，山崎 晋：肝細胞癌の早期診断法. ウィルス肝炎から肝細胞癌へ（服部 信編），第 2 版，309-28, 癌と化学療法社，東京，1982.
3) Umezawa H, Aoyagi T, Suda H, et al: Bestatin, an inhibitor of aminopeptidase B, produced by Actinomycetes. *J. Antibiotics* **29** : 97-9, 1976.
イタリック

(9) 文頭は，はじめにではじまり，おわりにで結ぶ。

(10) 論文は要旨－はじめに－（対象－方法－成績）－考按－おわりに－文献－表－図の説明－図の順に原稿を構成して下さい。図および表には文中に出る順番に番号を付して下さい。

(11) 項目は次のような記号を用います。

I. …… 1. …… 1) …… a

(12) 原稿には表紙を付し，表題，著者名，所属，機関名，原稿枚数，図表点数を明記して下さい。

一般研究助成者一覧(発刊年度)

- 1981 浅野長一郎 (九州大学理学部)
(1卷) 天木 一太 (日本大学医学部)
加藤 哲郎 (秋田大学医学部)
関口 守正 (東京大学医科学研究所)
寺尾 榮夫 (東京都立駒込病院)
野本亀久雄 (九州大学医学部)
母里 知之 (東海大学医学部)
吉田 修 (京都大学医学部)
- 1982 浅野長一郎 (九州大学理学部)
(2卷) 海老名卓三郎 (東北大学医学部)
小山 博記 (大阪府立成人病センター)
友田 豊 (名古屋大学医学部)
新島 端夫 (東京大学医学部)
藤本 孟男 (愛知医科大学)
松澤 大樹 (東北大学抗酸菌病研究所)
三好 勇夫 (高知医科大学)
- 1983 池田 恵一 (九州大学医学部)
(3卷) 木村 郁郎 (岡山大学医学部)
菅原 克彦 (山梨医科大学)
橘 武彦 (東北大学抗酸菌病研究所)
西平 哲郎 (東北大学医学部)
藤原 大美 (大阪大学医学部)
三橋 重信 (久留米大学医学部)
山本三毅夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1984 大西 克尚 (九州大学医学部)
(4卷) 折田 薫三 (岡山大学医学部)
小磯 謙吉 (筑波大学臨床医学系)
関根 暉彬 (国立がんセンター研究所)
塚田 裕 (北海道大学医学部)
原 泰寛 (国立病院九州がんセンター)
前山 巖 (鳥取大学医学部)
山田 一正 (名古屋大学医学部)
- 1985 犬山 征夫 (慶應義塾大学医学部)
(5卷) 小玉 正智 (滋賀医科大学)
- 東 市郎 (北海道大学免疫科学研究所)
太田 和雄 (愛知県がんセンター)
須賀 昭二 (国立名古屋病院)
高見沢裕吉 (千葉大学医学部)
西 満正 (鹿児島大学医学部)
棟久 龍夫 (長崎大学医学部)
森 武貞 (大阪大学医学部)
涌井 昭 (東北大学抗酸菌病研究所)
井村 裕夫 (京都大学医学部)
古賀 成昌 (鳥取大学医学部)
志田 圭三 (群馬大学医学部)
中西 昌美 (北海道大学医学部)
馬場 恒男 (九州大学生体防御医学研究所)
細川真澄男 (北海道大学医学部)
松田 忠義 (東京都立駒込病院)
- 石引 久弥 (慶應義塾大学医学部)
桑野 信彦 (大分医科大学)
高久 史磨 (東京大学医学部)
螺良 英郎 (徳島大学医学部)
野村 雍夫 (国立病院九州がんセンター)
前田 浩 (熊本大学医学部)
谷内 昭 (札幌医科大学)
- 小野寺時夫 (東京都立駒込病院)
藏本 淳 (広島大学原爆放射能医学研究所)
杉町 圭蔵 (九州大学医学部)
高月 清 (熊本大学医学部)
鶴尾 隆 (癌研・癌化学療法センター)
福西 亮 (愛媛大学医学部)
水落 次男 (東京大学医科学研究所)
- 北村 幸彦 (大阪大学医学部附属癌研究施設)
小林 利次 (産業医科大学)

- 1985 佐々木琢磨 (国立がんセンター)
(5卷) 田中 正夫 (国立名古屋病院血液病センター)
中村 徹 (福井医科大学)
原 耕平 (長崎大学医学部)
藤田 昌英 (大阪大学微生物病研究所)
松谷 雅生 (東京都立駒込病院)
吉田 孝人 (浜松医科大学)
- 1986 内野 治人 (京都大学医学部)
(6卷) 岡部 哲郎 (東京大学医学部)
狩野 恭一 (東京大学医科学研究所)
久保田哲朗 (慶應義塾大学医学部)
坂井 保信 (東京都立駒込病院)
曾根 三郎 (徳島大学医学部)
田中 敬正 (関西医科大学)
橋本 省三 (慶應義塾大学医学部)
浜岡 利之 (大阪大学医学部附属癌研究施設)
- 1987 市橋 秀仁 (藤田学園保健衛生大学医学部)
(7卷) 奥村 康 (順天堂大学医学部)
勝沼 信彦 (徳島大学酵素科学研究センター)
金沢 浩二 (新潟大学医学部)
佐藤 周子 (愛知県がんセンター)
高本 滋 (東京都立駒込病院)
中村 仁信 (大阪大学微生物病研究所)
松本 圭史 (大阪大学医学部)
山口 豊 (千葉大学医学部肺癌研究施設)
- 1988 秋山 伸一 (鹿児島大学医学部附属腫瘍研究施設)
(8卷) 阿部 達生 (京都府立医科大学)
上田 政和 (慶應義塾大学医学部)
小川 恭弘 (高知医科大学)
神奈木玲児 (京都大学医学部)
今 充 (弘前大学医学部)
笹月 健彦 (九州大学生体防御医学研究所)
徳永 徹 (国立予防衛生研究所)
馬場 正三 (浜松医科大学)
- 1989 阿曾 佳郎 (東京大学医学部)
(9卷) 今井 浩三 (札幌医科大学)
- 仙道富士郎 (山形大学医学部)
鳥巢 要道 (九州大学医学部)
新本 稔 (広島大学原爆放射能医学研究所)
原田 実根 (金沢大学医学部)
穂積 本男 (埼玉県立がんセンター研究所)
御厨 修一 (国立病院医療センター)
- 大野 竜三 (名古屋大学医学部)
片野 建之 (癌研・癌化学療法センター)
木村 元喜 (九州大学生体防御医学研究所)
熊本 悦明 (札幌医科大学)
珠玖 洋 (長崎大学医学部)
田中 信男 (東京大学応用微生物研究所)
西田 輝夫 (近畿大学医学部)
羽生富士夫 (東京女子医科大学消化器病センター)
前田 迪郎 (鳥取大学医学部)
大森 弘之 (岡山大学医学部)
小黒 昌夫 (千葉県がんセンター)
加藤 四郎 (大阪大学微生物病研究所)
坂本 純一 (愛知県がんセンター)
鈴木 磨郎 (東北大学抗酸菌病研究所)
峠 哲哉 (広島大学原爆放射能医学研究所)
正岡 徹 (大阪府立成人病センター)
宮崎 保 (北海道大学医学部)
吉田 奎介 (新潟大学医学部)
浅野 茂隆 (東京大学医科学研究所)
今岡 真義 (大阪府立成人病センター)
江藤 澄哉 (産業医科大学)
鎌田 七男 (広島大学原爆放射能医学研究所)
小山 研二 (秋田大学医学部)
斎藤 正男 (東京大学医学部)
谷川 允彦 (福井医科大学)
富永 健 (東京都立駒込病院)
平野 正美 (藤田学園保健衛生大学医学部)
石川 哮 (熊本大学医学部)
岩永 剛 (大阪府立成人病センター)

- 1989 上田 龍三 (愛知県がんセンター研究所) 太田 康幸 (愛媛大学医学部)
(9卷) 岡田 秀親 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所) 小川 道雄 (大阪大学医学部)
掛川 暉夫 (久留米大学医学部) 加藤 知行 (愛知県がんセンター)
金子 明博 (国立がんセンター病院) 斉藤 博 (埼玉医科大学総合医療センター)
澤木 修二 (横浜市立大学医学部) 高上 洋一 (徳島大学医学部)
中村 治 (東京都立駒込病院) 藤本 重義 (高知医科大学)
町田喜久雄 (埼玉医科大学総合医療センター) 松野 正紀 (東北大学医学部)
- 1990 荒井 保明 (愛知県がんセンター) 宮本 幸男 (群馬大学医学部)
(10卷) 入野 昭三 (香川医科大学) 遠藤 光夫 (東京医科歯科大学医学部附属病院)
小倉 剛 (徳島大学医学部) 菅 典道 (京都大学医学部附属病院)
木谷 照夫 (大阪大学微生物病研究所) 池田 昌弘 (順天堂大学医学部)
島津 久明 (鹿児島大学医学部) 田中 隆一 (新潟大学脳研究所)
土橋 一慶 (帝京大学医学部) 中島 泉 (名古屋大学医学部)
新津洋司郎 (札幌医科大学) 西村 泰治 (九州大学生体防御医学研究所)
垣生 園子 (東海大学医学部) 原 信之 (国立病院九州がんセンター)
藤本 孟男 (愛知医科大学) 前原 喜彦 (九州大学医学部)
水谷 修紀 (国立小児医療研究センター)
- 1991 秋吉 毅 (九州大学生体防御医学研究所) 安藤 俊夫 (愛知県がんセンター研究所)
(11卷) 小川 秋實 (信州大学医学部) 小熊 信夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
小越 章平 (高知医科大学) 加藤 洋 (癌研・癌研究所)
木村幸三郎 (東京医科大学) 河野 公俊 (大分医科大学)
佐治 重豊 (岐阜大学医学部) 鈴木 徹 (山口大学医学部)
田中 良明 (東京都立駒込病院) 平井 久丸 (東京大学医学部)
藤永 蕙 (札幌医科大学附属がん研究所) 真崎 規江 (大阪府立成人病センター)
麦島 秀雄 (日本大学医学部) 山内 晶司 (名古屋大学医学部)
山口 俊晴 (京都府立医科大学) 由良 二郎 (名古屋市立大学医学部)
- 1992 赤沢 修吾 (埼玉県立がんセンター) 秋根 康之 (国立がんセンター中央病院)
(12卷) 貝原 信明 (鳥取大学医学部) 兼松 隆之 (長崎大学医学部)
河村 栄二 (北里研究所病院) 菊池 潔 (財慶がんセンター)
木本 安彦 (大阪大学微生物病研究所附属病院) 葛巻 暹 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
琴浦 良彦 (京都大学医学部) 斎藤 貴生 (大分医科大学)
澤武 紀雄 (金沢大学がん研究所) 設楽 信行 (東京都立駒込病院)
柴田 昭 (新潟大学医学部) 土井 修 (大阪府立成人病センター)
奈良 信雄 (東京医科歯科大学医学部) 西村 孝司 (東海大学医学部)
山下 純宏 (金沢大学医学部) 吉開 泰信 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1993 阿部 力哉 (福島県立医科大学) 大榎 泰亮 (岡山大学医学部)

- 1993 片山 憲特 (聖マリアンナ医科大学)
(13卷) 栗原 稔 (昭和大学附属豊洲病院)
藪田 精昭 (京都府立医科大学)
武市 紀年 (北海道大学医学部附属癌研究施設)
土田 嘉昭 (東京大学医学部)
富田 幹夫 (埼玉県立がんセンター研究所)
濱田 洋文 (癌研・癌化学療法センター)
平岡 真寛 (京都大学医学部)
吉田 松年 (名古屋大学医学部病態制御研究施設)
- 1994 相羽 恵介 (癌研・癌化学療法センター)
(14卷) 今村 正之 (京都大学医学部)
折笠 精一 (東北大学医学部)
小柳 知彦 (北海道大学医学部)
清木 元治 (金沢大学がん研究所)
直江 知樹 (名古屋大学医学部附属病院)
浜口 道成 (名古屋大学医学部)
藤本 修一 (千葉県がんセンター)
山崎 俊樹 (島根医科大学)
- 1995 岡本 尚 (名古屋市立大学医学部分子医学研究所)
(15卷) 佐藤忠比古 (国立郡山病院)
嶋田 紘 (横浜市立大学医学部)
田中 公夫 (広島大学原爆放射能医学研究所)
花井 彩 (大阪府立成人病センター)
磨伊 正義 (金沢大学がん研究所)
森 茂郎 (東京大学医科学研究所)
和氣 徳夫 (九州大学生体防御医学研究所)
- 1996 有井 滋樹 (京都大学医学研究科)
(16卷) 伊東 恭悟 (久留米大学医学部)
小澤 敬也 (自治医科大学血液医学研究部門)
佐藤 靖史 (東北大学加齢医学研究所)
杉本 芳一 (癌研・癌化学療法センター)
多羅尾和郎 (神奈川県立がんセンター)
三角 順一 (大分医科大学医学部)
山脇 成人 (広島大学医学部)
- 1997 西條 長宏 (国立がんセンター研究所)
(17卷) 瀬戸 加大 (愛知県がんセンター研究所)
- 北島 政樹 (慶應義塾大学医学部)
小池 克郎 (癌研・癌研究所)
高見 博 (帝京大学医学部)
谷村 弘 (和歌山県立医科大学)
戸井 雅和 (東京都立駒込病院)
中村 恭一 (東京医科歯科大学医学部)
平岡 諦 (大阪府立成人病センター)
堀 勝義 (東北大学加齢医学研究所)
- 池田 恢 (国立がんセンター中央病院)
岡田 全司 (九州大学生体防御医学研究所)
菊地 浩吉 (札幌医科大学医学部)
杉本 徹 (宮崎医科大学)
田中 憲一 (新潟大学医学部)
新田 泰三 (順天堂大学医学部)
松崎 靖司 (筑波大学臨床医学系)
柳澤 昭夫 (癌研・癌研究所)
吉田 操 (東京都立駒込病院)
後藤 重則 (帝京大学生物工学研究センター)
佐藤 宏 (帝京大学医学部)
田崎 寛 (慶應義塾大学医学部)
中村 剛 (長崎大学医療技術短期大学部)
藤田 潤 (京都大学大学院医学研究科)
間野 博行 (自治医科大学医学部)
柳川 堯 (九州大学大学院数理学研究科)
- 石川 治 (大阪府立成人病センター)
大川 治夫 (筑波大学臨床医学系)
酒井 正彦 (関西電力病院)
執印 太郎 (高知医科大学)
谷 憲三朗 (東京大学医科学研究所)
松村 保広 (国立がんセンター中央病院)
宮崎 澄雄 (佐賀医科大学医学部)
吉村 昭彦 (久留米大学生物科学研究所)
神保 孝一 (札幌医科大学)
田中 雅夫 (九州大学医学部)

- 1997 丹後 俊郎 (国立公衆衛生院疫学部)
(17卷) 中川原 章 (千葉県がんセンター)
堀井 明 (東北大学大学院医学系研究科)
- 1998 小山 博史 (国立がんセンター中央病院)
(18卷) 高後 裕 (旭川医科大学)
巽 典之 (大阪市立大学医学部)
名川 弘一 (東京大学医学部)
萩原 正敏 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
不破 信和 (愛知県がんセンター)
村井 勝 (慶應義塾大学医学部)
矢守 隆夫 (癌研・癌化学療法センター)
- 1999 井上 俊彦 (大阪大学大学院)
(19卷) 大瀧 慈 (広島大学原爆放射能医学研究所)
河上 裕 (慶應義塾大学医学部先端医学研究所)
高山 哲治 (札幌医科大学)
土田 正則 (新潟大学医学部)
万代 昌紀 (京都大学医学部)
森脇 久隆 (岐阜大学医学部)
渡邊 武 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2000 井上 正樹 (金沢大学医学部)
(20卷) 河野 文夫 (国立熊本病院)
久保 敦司 (慶應義塾大学医学部)
佐藤 博 (金沢大学がん研究所)
中野 修治 (九州大学大学院)
福本 学 (東北大学加齢医学研究所)
山口 佳之 (広島大学原爆放射能医学研究所)
吉田 知之 (東京医科大学)
- 2001 秋山 太 (癌研・癌研究所)
(21卷) 片野 光男 (九州大学大学院)
澤津橋基広 (佐賀医科大学)
田原 秀晃 (東京大学医科学研究所)
辻 晃仁 (高知県立中央病院)
野島 博 (大阪大学微生物病研究所)
村垣 善浩 (東京女子医科大学脳神経センター)
若杉 尋 (国立がんセンター研究所)
- 2002 秋田 弘俊 (北海道大学大学院)
- 手島 昭樹 (大阪大学医学部)
野田 哲生 (癌研・癌研究所)
松山 裕 (東京大学大学院医学系研究科)
烏野 隆博 (大阪府立成人病センター)
佐藤 昇志 (札幌医科大学医学部)
中島 秀彰 (国立病院九州がんセンター)
登 勉 (三重大学医学部)
畠 清彦 (自治医科大学)
前谷 俊三 (天理よろず相談所医学研究所)
安元 公正 (産業医科大学医学部)
- 大上 研二 (東海大学医学部)
加賀谷有行 (広島大学医学部)
真貝 洋一 (京都大学ウイルス研究所)
田中 淳司 (北海道大学医学部)
野田 政樹 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)
向田 直史 (金沢大学がん研究所)
吉貴 達寛 (滋賀医科大学)
- 奥野 清隆 (近畿大学医学部)
神奈木真理 (東京医科歯科大学医歯学総合研究科)
小西 文雄 (自治医科大学大宮医療センター)
田中 紘一 (京都大学大学院)
樋野 興夫 (癌研・癌研究所)
松村 明 (筑波大学臨床医学系)
吉川 秀樹 (大阪大学大学院)
- 東 俊文 (慶應義塾大学医学部)
小林 国彦 (埼玉県立がんセンター)
高橋 宗春 (東京大学医学部附属病院)
玉木 長良 (北海道大学大学院)
中島 格 (久留米大学医学部)
松崎 彰信 (九州大学医療技術短期大学部)
山本 博幸 (札幌医科大学)
- 遠藤 善裕 (滋賀医科大学)

- 2002 鎌野 俊紀 (順天堂大学医学部)
(22卷) 黄 政龍 (香川医科大学)
高橋 豊 (金沢大学がん研究所)
平塚 正弘 (大阪府立成人病センター)
- 2003 上本 伸二 (三重大学医学部)
(23卷) 神田 善伸 (東京大学医学部)
河野 浩二 (山梨大学医学部)
檜原 啓之 (大阪府立成人病センター)
堀口 裕 (慶應義塾大学医学部)
- 2004 魚住 公治 (鹿児島大学病院)
(24卷) 清宮 啓之 (癌研・癌化学療法センター)
田中 文啓 (京都大学医学部)
古谷 和久 (愛知県がんセンター)
森 正樹 (九州大学生体防御医学研究所)
- 2005 熊谷 昌明 (国立成育医療センター)
(25卷) 國土 典宏 (東京大学医学部附属病院)
並木 幹夫 (金沢大学医学部附属病院)
長谷川好規 (名古屋大学医学部附属病院)
林 慎一 (東北大学医学部)
- 2006 泉本 修一 (大阪大学大学院)
(26卷) 太田 三徳 (近畿中央胸部疾患センター)
小林 浩 (奈良県立医科大学)
澤田 明久 (大阪府立母子保健総合医療センター)
福岡 和也 (兵庫医科大学)
- 2007 磯本 一 (長崎大学医学部・歯学部附属病院)
(27卷) 馬屋原健司 (癌研・有明病院)
篠浦 伸禎 (東京都立駒込病院)
高見 昭良 (金沢大学医学部附属病院)
- 2008 掛地 吉弘 (九州大学大学院)
(28卷) 新地 洋之 (鹿児島大学大学院)
松村 保広 (国立がんセンター東病院)
吉崎 智一 (金沢大学大学院)
- 2009 出水みいる (九州大学病院)
(29卷) 塚田 敬義 (岐阜大学大学院)
長谷川 潔 (東京大学大学院)
本田 五郎 (東京都立駒込病院)
- 小泉和三郎 (北里大学東病院)
高橋 慶一 (東京都立駒込病院)
戸田 正博 (慶應義塾大学医学部)
- 小野寺雅史 (筑波大学臨床医学系)
弦間 昭彦 (日本医科大学)
杉山 徹 (岩手医科大学医学部)
平井 康夫 (癌研・癌研究所)
- 河野 嘉文 (鹿児島大学大学院医歯学総合研究科)
高山 浩一 (九州大学病院)
中島 淳 (慶應義塾大学医学部)
星 宣次 (山形県立中央病院)
山本 昇 (国立がんセンター中央病院)
- 甲能 直幸 (杏林大学医学部)
土屋 弘行 (金沢大学大学院)
萩原 弘一 (埼玉医科大学)
羽生 大記 (大阪市立大学大学院)
日野 雅之 (大阪市立大学大学院)
- 井上 啓史 (高知大学医学部)
大東 弘明 (大阪府立成人病センター)
佐治 重衡 (東京都立駒込病院)
竹内 聡 (神戸医療センター)
藤井 正人 (東京医療センター)
- 上野 清伸 (大阪府立成人病センター)
椎名秀一朗 (東京大学医学部附属病院)
新地 洋之 (鹿児島大学医学部・歯学部附属病院)
細野 亜古 (国立がんセンター中央病院)
粕谷 英樹 (名古屋大学医学部)
竹島 信宏 (癌研・有明病院)
元雄 良治 (金沢医科大学)
渡邊 昌彦 (北里大学医学部)
高野 晋吾 (筑波大学大学院)
中森 正二 (大阪医療センター)
服部 豊 (慶應義塾大学薬学部)
宮田 博志 (大阪大学大学院)

- 2010 東 治人 (大阪医科大学) 石川 剛 (京都府立医科大学)
(30卷) 庄 雅之 (奈良県立医科大学) 楯 真一 (千葉大学大学院)
谷 眞至 (和歌山県立医科大学) 津田 浩史 (慶應義塾大学医学部)
藤原 義之 (大阪大学大学院) 山口 和也 (岐阜大学医学部)
- 2011 江口 英利 (大阪大学大学院医学系研究科) 菊地 栄次 (慶應義塾大学医学部)
(31卷) 堤 莊一 (群馬大学大学院医学系研究科) 藤谷 和正 (国立病院機構大阪医療センター)
本告 正明 (大阪府立成人病センター) 宮田 康好 (長崎大学病院)
宮田 義浩 (広島大学原爆放射線医科学研究所) 元井 冬彦 (東北大学病院)
山下 継史 (北里大学医学部)
- 2012 浦本 秀隆 (産業医科大学) 葛西 和博 (岩手医科大学医学部)
(32卷) 小西 毅 (がん研究会有明病院) 佐藤 康史 (札幌医科大学)
澤木 正孝 (愛知県がんセンター中央病院) 高橋 秀典 (大阪府立成人病センター)
谷岡 真樹 (兵庫県立がんセンター) 本間 尚子 (東京都健康長寿医療センター研究所)
松木 絵里 (慶應義塾大学病院) 村上 英樹 (金沢大学整形外科)
- 2013 井上 啓史 (高知大学教育研究部) 沖 英次 (九州大学病院)
(33卷) 河合 憲康 (名古屋市立大学大学院医学研究科) 北郷 実 (慶應義塾大学医学部)
黒川 幸典 (大阪大学大学院医学系研究科) 笹田 哲朗 (久留米大学医学部)
島崎 猛夫 (金沢医科大学総合医学研究所) 種村 匡弘 (呉医療センター・中国がんセンター)
野尻 俊輔 (名古屋市立大学病院) 丸橋 繁 (大阪府立成人病センター)
- 2014 木下 学 (大阪府立成人病センター) 小坂 威雄 (慶應義塾大学医学部)
(34卷) 小西 毅 (がん研究会有明病院) 末原 義之 (順天堂大学医学部)
高橋 信 (東北大学加齢医学研究所) 谷内 恵介 (高知大学医学部附属病院)
富田 直人 (横浜市立大学大学院医学研究科) 中前 博久 (大阪市立大学大学院医学研究科)
南谷 泰仁 (東京大学医学部附属病院) 長谷川大一郎 (兵庫県立こども病院)
- 2015 石山 博條 (北里大学医学部) 板野 理 (慶應義塾大学医学部)
(35卷) 里井 壯平 (関西医科大学) 白石 治 (近畿大学医学部)
高張 大亮 (がん研究会有明病院) 内藤 立暁 (静岡県立静岡がんセンター)
西田 純幸 (大阪大学医学部附属病院) 林 洋光 (熊本大学大学院生命科学研究部)
水島 恒和 (大阪大学大学院医学系研究科)
- 2016 伊佐山浩通 (東京大学大学院医学系研究科) 小沼 貴晶 (東京大学医科学研究所附属病院)
(36卷) 佐伯 浩司 (九州大学大学院) 杉村啓二郎 (大阪府立成人病センター)
瀧口 修司 (大阪大学医学系研究科) 藤阪 保仁 (大阪医科大学附属病院)
前田 亮 (藤田保健衛生大学) 若槻 尊 (がん研究会有明病院)
- 2017 秋田 裕史 (大阪国際がんセンター) 泉 浩二 (金沢大学大学院医薬保健学総合研究科)
(37卷) 神田 光郎 (名古屋大学医学部附属病院) 野見 武男 (奈良県立医科大学)
馬場 祥史 (熊本大学大学院生命科学研究部)

- 2018 池上 徹 (九州大学病院)
(38卷) 立石 健祐 (横浜市立大学大学院医学研究科)
畠 達夫 (東北大学大学院医学系研究科)
- 2019 北郷 実 (慶應義塾大学医学部)
(39卷) 杉町 圭史 (九州がんセンター)
田辺 真彦 (東京大学医学部附属病院)
- 2020 岩槻 政晃 (熊本大学大学院)
(40卷) 高森 信吉 (九州がんセンター)
森根 裕二 (徳島大学大学院医歯薬学研究部)
- 後藤太一郎 (山梨県立中央病院)
谷口 浩二 (慶応義塾大学医学部)
増田 隆明 (九州大学病院別府病院)
佐藤 和秀 (名古屋大学高等研究院・名古屋大学大学院医学系研究科)
高野 重紹 (千葉大学大学院医学研究院)
宮本 裕士 (熊本大学病院)
庄司 文裕 (九州医療センター)
廣野 誠子 (和歌山県立医科大学)

がん治療のあゆみ 第41巻

2022年3月25日 印刷
2022年3月31日 発行

非 売 品

発行人 公益財団法人
がん集学的治療研究財団
山 岸 久 一

お問い合わせは下記にお願いいたします。
〒136-0071 東京都江東区亀戸1-28-6
タニビル3F
電話 (03)5627-7593

印刷所 (株)糸川印刷

本書の内容の一部あるいは全部を無断で、複写機器等いかなる方法によっても複写・複製することは、法律で認められた場合を除き、著者および出版者の権利の侵害になりますので、予め小社の許諾を求めて下さい。