

【要約】

Coexistence of regulatory B cells and regulatory T cells in intratumoral lymphoid follicles is a prognostic factor in patients with breast cancer

(乳癌における腫瘍内の制御性B細胞と制御性T細胞の共存と予後に関する研究)

千葉大学大学院医学薬学府  
先端医学薬学専攻  
(主任：大塚 将之 教授)  
石神 恵美

## 背景

腫瘍に対する免疫の関与がこれまで多く報告されてきた。初期には、腫瘍浸潤リンパ球(TIL)は細胞傷害性 T 細胞と理解され、その数が腫瘍免疫の応答の強さであると報告された。しかし今日では、腫瘍免疫は細胞傷害性細胞と免疫寛容細胞との複合的な応答の結果であるとされ、免疫寛容細胞、特に制御性 T 細胞 (Treg)の腫瘍に対する関与の重要性が報告されている。その中で近年、免疫寛容に関与する新たなサブセットとして制御性 B 細胞(Breg)が注目されている。Breg は B 細胞でありながら様々な免疫抑制能を有し、Treg と同様に自己免疫疾患、移植免疫、腫瘍免疫への関与が示唆されている。乳癌マウスモデルを用いた研究で、Breg は Treg を誘導し、肺転移の形成に関与することが報告された。Breg は乳癌の診断および治療の標的として期待されるが、その診断のための乳癌患者における Breg と Treg の応答のプラットフォームは明らかにされておらず、また臨床的意義も未だ報告されていない。そこで本研究は、乳癌の手術検体を用いた免疫染色の手法により、実際の乳癌腫瘍内における Breg と Treg の応答を直視し、その臨床的意義を検討することを目的とした。

## 患者と方法

リンパ節転移陽性浸潤癌患者 258 人と非浸潤癌患者 192 人の手術検体連続切片を用いて、腫瘍部の CD19 および CD3 の免疫組織化学染色を行った。CD19 陽性 B 細胞領域と CD3 陽性 T 細胞領域からなるリンパ濾胞様構造（本論文でこれを腫瘍内リンパ濾胞 intratumoral lymphoid follicle (ILF) と定義した）の存在と臨床病理学的因子との関係を検討した。さらに連続切片で CD25、IL-10、Foxp3 の免疫染色を行い、ILF における CD19 陽性細胞領域の CD25 及び IL10 陽性細胞を Breg と、ILF における CD3 領域における Foxp3 陽性細胞を ILF の Treg とした。これらの局在や、無転移生存率(MFS)との相関を検討した。

## 結果

まず、Breg が産生される場所を特定するために、腫瘍内の TIL を観察し、腫瘍内辺縁部に形成されるリンパ濾胞様構造に注目した。CD19 の染色にて、その構造の大部分が B 細胞であった。そしてこの B 細胞領域には、それに接して T 細胞の傍濾胞様構造が存在し、ILF を形成していた。非浸潤癌では 43%、浸潤癌では 48% に ILF が認められ、両者に有意差は無かった。非浸潤癌および浸潤癌における ILF 形成有無と臨床病理学的因子の関係について検討した。非浸潤癌においては、形成例で NG3, ER 陰性が有意に多く ( $p < 0.0001$ ,  $p = 0.0007$ )、浸潤癌では形成例で腫瘍径 2cm 以上、HG3、ER 陰性、PR 陰性、HER2 陽性、Ki67 15%

以上、ly 陽性が有意に高かった(p=0.0045, p=0.0042, p=0.0015, p=0.0005, p=0.0119, p<0.0001, p=0.0149)。非浸潤癌、浸潤癌ともに悪性度の高い症例で ILF 形成が高い傾向にあった。ところが、浸潤癌で ILF 非形成症例と形成症例間に MFS の有意差はなかった。

次に ILF における Breg の発現を評価した。ILF を有する非浸潤癌において CD25 陽性 Breg は 21%、IL10 陽性 Breg は 25% で、同様に ILF を有する浸潤癌では CD25 陽性 Breg は 50%、IL10 陽性 Breg は 46% で陽性で、浸潤癌では非浸潤癌に比して CD25 陽性 Breg、IL10 陽性 Breg の発生が有意に高かった(p<0.0001, p=0.0025)。

浸潤癌における、CD25 陽性と IL10 陽性には有意な相関関係が認められた(p<0.0001)。本研究において、CD25 あるいは IL10 の一方あるいは両方を発現する CD19 細胞を Breg と定義した。浸潤癌において Breg 陽性例と陰性例の病理学的因子を検討した。陽性例陰性例の 2 群で有意差はなかった。一方、Breg 陽性例は陰性例に比して、有意に MFS が短縮していた(p=0.0050)。

次に Breg により誘導されることが知られる Treg を評価した。Treg の大部分は腫瘍周囲と ILF に存在した。腫瘍周囲と ILF の Treg には相関はなかった。腫瘍周囲 Treg 陽性は陰性に比して MFS の差はなかった。これに対して、ILF 内の Treg

陽性は陰性に比して有意に MFS が短縮した( $p=0.0102$ )。さらに ILF 内の Treg は、ILF 内の Breg と有意に相関した( $p<0.0001$ )。

最後に、ILF 内の Breg と Treg の共存の臨床的意義を評価した。共存する症例は 51 例であった。その共存とともに臨床病理学的因子を含めた MFS に対する単変量解析において、腫瘍径、リンパ個数、HG、ER、ly、共存が MFS に相関した( $p<0.0003$ ,  $p=0.0041$ ,  $p<0.0005$ ,  $p=0.0445$ ,  $p=0.0289$ ,  $p<0.0005$ )。これらの 6 因子における多変量解析では、腫瘍径・HG とともに共存が MFS に相関した( $p=0.0091$ ,  $p=0.0423$ ,  $p=0.0069$ )。さらに ILF 内の Treg 集積例は 60 例であり、先述の共存例 51 例を除いた 9 例では、Breg の集積がなく、ILF 内の Treg 集積のみが認められた。ILF 内の Breg と Treg の共存の意義を明確にするために、Treg 単独群と、共存群との MFS での相関を比較した。共存群は Treg 単独群に比して有意に MFS が短縮した( $p=0.0475$ )。これらの結果は ILF 内の Breg と Treg の共存の臨床的意義を示唆した。

## 結論

乳癌の ILF における Breg と Treg の共存は独立した予後不良因子であった。ILF 内での Breg の産生は、Treg の誘導により複合的な免疫寛容をもたらし、乳癌の

遠隔転移に関与することが示唆された。**Breg**は乳癌の新たな診断および治療の新しい標的として期待される。

**Breast Cancer**

平成 29 年 12 月 9 日 投稿中