

<特集「医学系研究における画像解析と臨床への応用」>

がんの個別化診断に向けた多重免疫染色による 免疫的がん微小環境解析

辻川 敬裕*, 平野 滋

京都府立医科大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学

Personalized Diagnosis of Cancer Via Multiplex Immunohistochemical Analysis for Tumor-immune Microenvironment

Takahiro Tsujikawa and Shigeru Hirano

Department of Otolaryngology-Head & Neck Surgery,

Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science

抄 録

多くのがん種において免疫チェックポイント阻害薬が普及し、化学療法、分子標的薬との複合や順次治療が開発され、がんの個別化診断にがん細胞の悪性形質のみならず、免疫的微小環境の特性を含める必要性が高まっている。がん組織の免疫的な特性を理解するためには、様々な免疫細胞の頻度、分布、特性を構造・位置情報を保持したまま定量的に評価する必要がある。この技術的課題を解決するため、我々は免疫組織化学の手法を発展させ、抗体の由来種に関わらず、1切片において12から14種類の抗体での染色を可能にする多重免疫染色・イメージサイトメトリー法を開発した。これにより1切片から複数の免疫細胞系統標識を位置情報含め単一細胞ごとに可視化・定量化することが可能になった。本手法をがん種横断的に用いることで、骨髄系免疫細胞の予後的意義、免疫細胞の位置情報にもとづくがん組織の特性、免疫的がん微小環境の経時変化、腸内細菌叢との関連性などが明らかとなった。がんの個別化診断に向けて、本稿では免疫的がん微小環境が進行や治療効果に関わる要素を整理し、がん細胞と免疫的特性の両方を組織から評価する画像解析手法について概説する。

キーワード：個別化医療、免疫組織化学、多重免疫染色、がん微小環境、腫瘍免疫。

Abstract

Recent advancement of combined and sequential treatment of immunotherapy with chemotherapy, and molecular-targeted therapy mandates individualized diagnosis of cancer based on the immune microenvironmental profiles. To quantitatively evaluate tumor immune microenvironment with preserved structural and positional information, we have developed a multiplex immunohistochemistry/image cytometry

令和4年10月12日受付 令和4年10月13日受理

*連絡先 辻川敬裕 〒602-8566 京都市上京区河原町通広小路上路梶井町465番地

tu-ji@koto.kpu-m.ac.jp

doi:10.32206/jkpum.131.12.955

methodology that allows staining with 12 to 14 different antibodies in a single section, regardless of the antibody species. This enables quantification of multiple immune cell lineage markers with spatial information for each single cell from a single section of formalin-fixed, paraffin-embedded specimen, which is widely available in pathological diagnosis. This method has revealed the prognostic significance of myeloid immune cells, cancer tissue characteristics based on immune cell location, changes over time in the tumor-immune microenvironment, and the association with the gut microbiota in a wide range of cancer types. Toward personalized diagnosis of cancer, this review summarizes the factors involved in the tumor-immune microenvironment in cancer progression and outlines imaging methodologies to evaluate both cancer cells and immune characteristics from the tissue.

Key Words: Personalized medicine, Immunohistochemistry, Multiplex immunohistochemistry, Tumor microenvironment, Tumor immunity.

がんの個別化診断の現状と課題

悪性腫瘍は臓器部位や進行度のみで分類されてきたが、近年、治療標的分子・遺伝子異常の有無などの分子生物学的特性に基づいた個別化診断が発展し、日常診療の一部に取り入れられている。これまでに分子標的薬は世界で139種類が承認され、がん増殖に関わるシグナル経

路異常を標的とした低分子化合物や、がんに特異的に発現する表面抗原へのモノクローナル抗体医薬ががん種横断的に開発され、その多くがコンパニオン診断薬により適応が決定されている¹⁾。

分子生物学的特性に基づいたがんの個別化診断が普及してきた一方で、がんの免疫的な性質に基づいた診断法はほとんど存在しない(図1)。

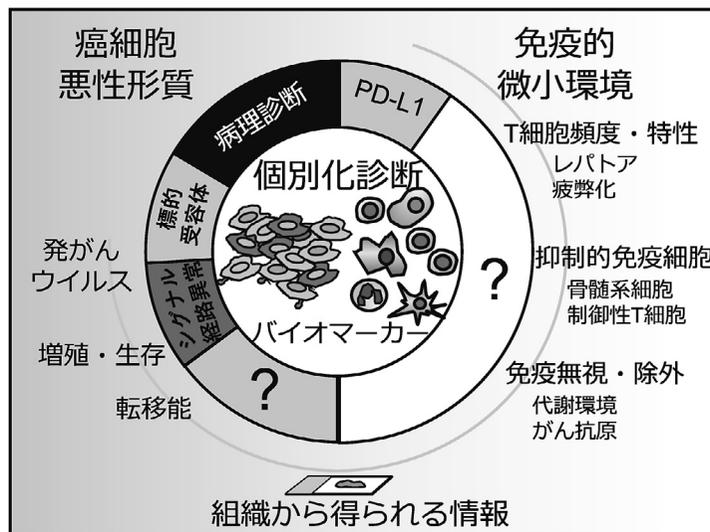


図1 がん悪性形質と免疫特性に基づくがんの個別化診断

多くのがん種でこれまでの診断に加え、標的受容体やシグナル経路異常などのがん細胞の特性に基づいた診断・分類が普及してきている(左)。しかしながら、免疫チェックポイント阻害薬が普及してきたにもかかわらず、免疫的ながんの個別化診断は進んでいない(右)。

多くのがん種で免疫チェックポイント阻害薬による抗腫瘍免疫機序を介した悪性腫瘍治療が実用化し、さらに、がん細胞をとりまく免疫細胞や間質細胞から構成されるがん微小環境が腫瘍の進展や治療抵抗性に関わることが明らかとなり²⁾、がんを理解するためにがん細胞の悪性形質のみならず、免疫特性も把握することが重要となってきた。さらに、免疫チェックポイント阻害薬単剤での治療だけでなく、異なる免疫チェックポイント阻害薬の併用や分子標的薬との複合や順次治療がこの数年で急速に広がり、がんを免疫的微小環境の側面から個別的に診断する必要性が高まっている。本稿では免疫的がん微小環境ががんの進行に関わる要素を整理し、がん細胞と免疫的特性の両方を組織から評価する手法として、免疫組織化学を発展させた多重免疫染色法について概説する。

がんの進行・治療抵抗性・経時的变化と関わる免疫的がん微小環境

がん細胞の6種類の代表的な悪性形質を2000年にHanahanとWeinbergが「Hallmarks of cancer」として提唱してから³⁾、20年経過して改訂された最新のHallmarksは14種類に増加し、当初はがん細胞の性質が中心であったが、免疫細胞、代謝、体内微生物などがん細胞のみでなく宿主由来の構成要素が含まれるよう発展してきた⁴⁾。すなわち、がんの進行にあたり、がん細胞は自身の悪性形質の獲得に加え、宿主要素にも関わって進展することが理解されてきた。

1. 免疫逃避によるがんの進行機序

免疫機構はがん細胞の非自己性を認識して排除するが、排除を免れたがん細胞集団は平衡相を経て、免疫原性の減弱や免疫抑制機構を獲得し、抗腫瘍免疫から逃避する⁵⁾。この免疫逃避において、がん細胞からのサイトカイン・ケモカイン産生、代謝環境改変、がん細胞や周囲細胞による抑制的な免疫チェックポイント発現などにより、T細胞の疲弊化やがん包巣からの除外を行い、さらに、免疫抑制的な制御性T細胞、腫瘍関連マクロファージ、好中球なども集積さ

れる²⁾。こうして宿主由来の構成要素も改変しつつがん細胞の生存と増殖に有利ながん微小環境が構築される。

2. 免疫療法の治療効果への影響

がん微小環境の構築はがんの進行のみならず、免疫療法の治療抵抗性とも深く関わることが分かっている。免疫特性の分類として、免疫細胞浸潤が豊富な腫瘍、がん抗原の少なさや主要組織適合遺伝子複合体の発現低下などにより免疫細胞浸潤が乏しい腫瘍、さらに微小環境制御によりT細胞浸潤を抑制し、がん包巣からT細胞が除外された腫瘍に大別される⁶⁾。これらの免疫細胞が乏しい腫瘍や免疫細胞が除外された腫瘍は抗腫瘍免疫を担当するエフェクター細胞が機能することができないため、免疫チェックポイント阻害薬に抵抗性を示す。さらに、この治療抵抗性は免疫療法中の変化により後から獲得されることも知られ、がん細胞側の性質の変化や腫瘍内不均一性の関与が示唆されている⁷⁾。

3. 化学療法・分子標的薬の治療効果への影響

がん微小環境と治療効果の関連性は、免疫療法のみならず、本来、免疫機構とは独立して抗腫瘍効果を有する殺細胞性の化学療法や分子標的薬でもみられる。この背景にある免疫的機序として、殺細胞性薬剤により、がん細胞が免疫原性の高い細胞死を起こし、がん特異的な抗原が放出されることで免疫応答を誘導するがん免疫サイクルの関与が考えられている⁸⁾。興味深いことに、固形がんへの化学療法薬の中でも種類により免疫的機序の程度に差があることが知られ、例えば、フルオロウラシル、プラチナ製剤よりもタキサン製剤がより免疫原性の高い細胞死を生じることが予想されている⁹⁾。分子標的薬による免疫的効果には、がん細胞や免疫細胞内のシグナル経路・特性に与える影響が関与し、例えば、EGFR阻害薬であるセツキシマブは免疫原性の高い細胞死を誘導することが大腸がんでは示されている¹⁰⁾。VEGFR阻害薬であるレンバチニブは血管新生の正常化による微小環境改善が基礎的に示され、抗PD-1抗体との併用が腎細

胞がん、子宮体がんにて認可されている¹¹⁾。免疫チェックポイント阻害薬と化学療法・分子標的薬との併用は今後さらに拡大が予想され、殺細胞性薬剤の免疫的機序の理解が重要となり、がん微小環境の構成要素を多角的に調べ、治療薬の組み合わせや対象を最適化することが求められる。

免疫的がん微小環境の構成・分布・経時的变化の定量的解析

がん細胞だけでなく、免疫特性も考慮したがんの個別診断には、がん微小環境内の免疫細胞を含む多様な構成要素を定量的に把握することが重要である。

1. がん微小環境解析における技術的課題

組織検体を利用したがん微小環境解析には考慮すべき技術的側面が存在する(表1)。特に、免疫細胞種の同定には、CD45, CD3, CD4, Foxp3など、複数の系統標識を要することから、免疫細胞の定量化には多数の標識要素を同時に単一細胞ごとに評価する必要がある(表1)。このため組織中の細胞を一細胞ごとに単離して、フローサイトメトリーで解析することが多いが、がん微小環境が有する不均一性や組織構造の情報を喪失する問題点がある¹²⁾。RNAシーケンス法は解析可能項目が網羅的で極めて高度な多重性がある一方、単一細胞ごとの解析ができない¹²⁾。Single cell RNAシーケンス法により単一細胞ごとの解析が可能となったが、同様に細胞の位置情報喪失が課題となる¹²⁾。イメージングマササイトメトリー法や制限酵素で切断可能なRNA

バーコードによる多重染色法により、70種類以上のマーカーを可視化・定量化する多重イメージング技術も普及してきた一方、これらの技術における検体中の解析可能領域の狭さが問題となり、手術検体など大きな組織全体を定量的に把握する上での課題となる¹²⁾(表1)。さらに、保存検体への対応も重要な側面であり、一般的な病理検体であるホルマリン固定パラフィン包埋検体に対応せず、新鮮検体を要する場合は、採取組織の病理診断への提出ができないこと、経時的变化を追う上で過去検体に戻ることができないこと、臨床現場からその都度検査対応を迅速に行う研究体制を要するなどの問題が生じる。解析や解析機器に要する費用も研究と臨床における汎用性の上で重要である。

2. 多重免疫染色によるがん微小環境解析

これらのがん組織解析への技術的側面を考慮すると、長い歴史をもつ免疫組織化学は後方視的に入手可能な保存検体を用いて、低費用で組織全体を評価でき、さらに細胞の分布・位置情報の解析が可能な利点を有する(表1)。しかしながら、従来の免疫組織化学では同一切片で解析可能な標識数が由来動物種の制約により蛍光多重染色でも3, 4種類に限られるため、多数の系統標識を要する免疫細胞の同定には不十分である。

この技術的問題を解決するため、我々は免疫組織化学の手法を発展させ、抗体の由来種に関わらず、1切片において12から14種類の抗体での染色を可能にする多重免疫染色を開発した(図2A)¹³⁾。この多重免疫染色法は、色素・抗体除去操作を用いることで、同一切片への免疫組

表1 組織によるバイオマーカー探索に必要な技術的側面

- a) 解析可能標識の多重性
- b) 単一細胞解析への対応
- c) 位置情報・組織構造解析
- d) 解析可能領域の広さ
- e) 保存検体への対応
- f) 検査・解析費用

織化学を反復する手法に基づいている。標準的な1次抗体、HRPポリマー結合2次抗体による染色後、アルコール可溶性のAminoethyl carbazole (AEC) を用いて発色し、デジタルスキャンにて画像取得後、エタノールによるAEC除去、熱処理による抗体除去を行い、次の染色に移行し、これを14回程度まで反復する。陰性対照を用意することで抗体除去の確認を確実に行うとともに、これまでの検討で、固形腫瘍、肺組織、腺組織ふくめ14回以上の熱処理でも組織脱落がなく、安定して多重染色が可能な手法が確立されている¹³⁾。取得したデジタル画像は画像処理によりピクセル単位で重ね合わせを行い、擬似的蛍光色で任意の色調で可視化される。

さらに、取得したデジタル画像はイメージサイトメトリー法にて定量化が可能である¹³⁾。ここでは、ヘマトキシリン画像をデジタル画像処理により単一細胞毎に区画化し、各細胞のそれぞれの抗体における染色強度を定量化することで、フローサイトメトリーと同様な定量化処理

を画像情報から再現している (図2B)。これにより14マーカーの発現強度の組み合わせにより細胞種や特性を定性的に分類することが可能となった。この解析では、各細胞の元画像におけるXY座標としての位置情報が取得されるため、細胞の分布や位置関係も定量的に把握できる。アイソタイプ・コントロール等での陰性染色対照を用いることで、陽性・陰性の判定閾値をフローサイトメトリーと同様に設定可能である。なお、これらの定量性を検証するため、同一腫瘍を2分割し、片方をフローサイトメトリー、もう片方を多重免疫染色・イメージサイトメトリーで定量化し、代表的な免疫細胞種において両者に良好な相関があることを確認している¹³⁾。この手法により、白血球共通抗原 (CD45)、T細胞 (CD3, CD8, Foxp3)、B細胞 (CD20)、ナチュラルキラー細胞 (NkP46)、マクロファージ (CD68, CSF1R)、樹状細胞 (MHC class II, DC-LAMP, DC-SIGN)、肥満細胞 (Tryptase)、顆粒球 (CD66b) などの複数の免疫細胞系統標

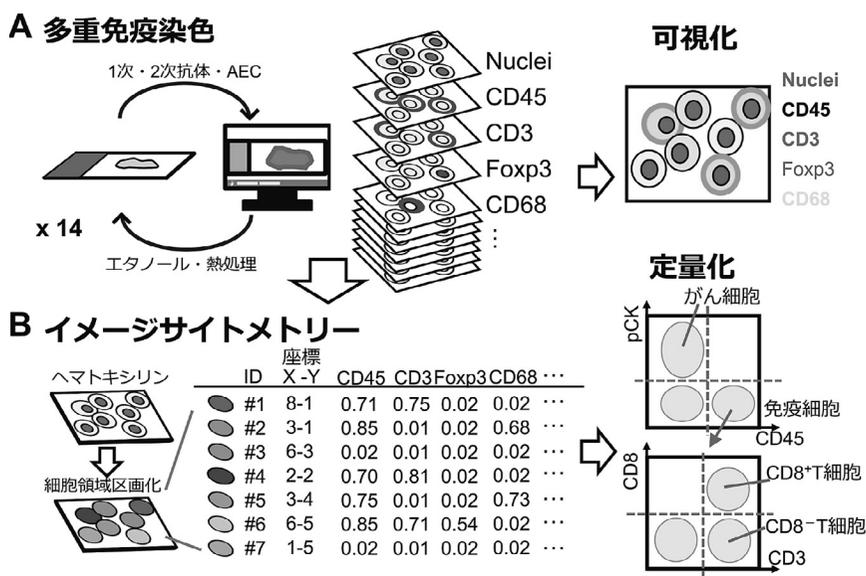


図2 多重免疫染色・イメージサイトメトリーの概要

(A) 生検や手術で得られたホルマリン固定パラフィン包埋切片1枚を反復して染色し、切片全体のデジタル画像の取得、重ね合わせ処理の上、可視化する。(B) 得られた連続画像は単一細胞毎に区画化処理を行い、各区画内の染色強度、位置情報を取得することで、サイトメトリー解析による定量化を行う (文献13)。

識を1切片上で単一細胞ごとに位置情報とともに定量的に評価することが可能になった。

多重免疫染色により明らかとなった がん微小環境の免疫的側面

多重免疫染色により組織中の各種免疫細胞の頻度・構成と分布が解析可能となり、これまでの検討で頭頸部がん、甲状腺がん、膵臓がん、乳がん、悪性黒色腫、悪性中皮腫、大腸がんでは予後と相関する免疫特性の存在が示された。この取り組みにより、骨髄系免疫細胞の予後的意義、免疫細胞の位置情報にもとづくがん組織の特性、免疫的がん微小環境の経時変化、腸内細菌叢との関連性などが明らかとなった。

1. 骨髄系免疫細胞の予後的意義

多重免疫染色による10-15種類の免疫細胞の腫瘍内細胞密度の検討を通じて、マクロファージ、好中球、肥満細胞などの骨髄系免疫細胞が優位な免疫特性が頭頸部扁平上皮がん¹³⁾¹⁴⁾、膵臓がん¹⁵⁾¹⁶⁾の予後不良や甲状腺乳頭がん・濾胞がん¹⁷⁾¹⁸⁾の病理学的侵襲性と関連することが示されている。免疫細胞は主にリンパ球系と骨髄系に分類され、骨髄系免疫細胞の多くは異物への即時的な免疫反応である自然免疫を担い、獲得免疫系との橋渡しの役割を有する。一方で、骨髄系免疫細胞は過剰な免疫を制御するために免疫抑制的な役割を担い、例えば、マクロファージは創傷治癒過程の後期で抗炎症作用を有し、組織再構築に貢献する¹⁹⁾。この抑制的な作用ががん微小環境における免疫逃避機構とも深く関与することが示唆され、新たな治療標的と考えられている²⁾。

2. 免疫細胞の位置情報にもとづくがん組織の特性

腫瘍内における免疫細胞の分布・局在ががんの進行や予後との関連について、多重免疫染色の位置情報解析能を利用して調べられてきた。大腸がんでは13カ国3539例での検討で腫瘍内・浸潤辺縁部のT細胞の頻度を数値化したImmunoscore[®]が予後と相関することが知られている²⁰⁾。我々はStage IIIの大腸がん85例を13

マーカーの多重免疫染色で検討し、T細胞の腫瘍包巣外への排除に腫瘍内MMP14陽性線維芽細胞が関与することを明らかにした²¹⁾。さらに、多重免疫染色による位置情報解析を通じて、頭頸部がんではPD-1陽性ヘルパーT細胞ががん包巣内に存在すると腫瘍関連マクロファージの集積と関連し、予後不良であることが示され²²⁾、乳がんではCD8陽性T細胞と肥満細胞の細胞間距離が近接している症例の予後が不良であることが分かってきた²³⁾。位置情報解析をもとに甲状腺濾胞がんの被膜浸潤部でのProgrammed cell death ligand 1 (PD-L1) 高発現やT細胞とCD66b陽性顆粒球の比率が高いことも分かり、がん細胞の病理学的侵襲性獲得の機序への関与が示唆された¹⁸⁾。このように免疫細胞の位置情報・分布、不均一性が細胞間の相互作用など腫瘍の特性を反映することが考えられ、今後、空間生物学的なアプローチが予後予測バイオマーカー同定につながる可能性がある。

3. 免疫的がん微小環境の経時変化

再発や治療介入によるがんの性質の経時的な変化について、多重免疫染色の保存検体での解析可能な利点を用いて解析されてきた。遺伝子変異を含むがん細胞の特性や免疫的がん微小環境は、腫瘍免疫や抗腫瘍治療による選択により淘汰・選択され、進化することが知られている。頭頸部がんでは同一患者からの初発と局所再発腫瘍について29マーカーの多重免疫染色で比較し、免疫抑制的な骨髄系免疫細胞の増加、Inducible T-cell co-stimulator (ICOS) 陽性制御性T細胞の増加、PD-L1の変動が確認されている¹⁴⁾。さらに、膵がんの抗PD-1抗体とワクチン療法の併用を調べる臨床試験では、治療前と治療中生検組織を比較する多重免疫染色解析で、奏功例におけるCD8陽性T細胞の増加、非奏功例における腫瘍関連マクロファージの増加を認めた¹⁵⁾。薬物療法が1次治療から2次、3次と順次的に行われ、各治療ラインにおける治療選択肢が増加していることを考慮すると、経時的に変化するがんの性質に対応した治療選択とその評価法の確立が求められる。

4. 腸内細菌叢との関連性

腫瘍内免疫環境の構築にはがん細胞の性質のみでなく、宿主の免疫特性が関わるが、その背景に腸内細菌叢の種類・組成が影響することが知られてきた。多重免疫染色を用いて明らかにした悪性黒色腫内の免疫細胞組成と腸内細菌叢の種類・組成に相関が見られることが判明し²⁴⁾、現在、多くの臨床試験で腸内細菌叢の調整により免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を高める試みが検証されている。このように多重免疫染色による組織解析により、がん微小環境の免疫的側面が明らかとなり、免疫特性ががんの悪性度、経時変化、治療抵抗性に関わることが示されてきた。

5. 今後の方向性

免疫チェックポイント阻害薬単剤や化学療法・分子標的薬との併用が行われ、治療の組み合わせや順序の選択肢が増加する中で、がん組織の免疫的側面を考慮した個別的診断への需要が高まることが予想される。単純にT細胞の頻度を調べるだけでは精度の高い免疫的診断は難しく、今後の免疫的がん微小環境解析の方向と

して、多要素の構成要素を把握し、空間的に位置情報・分布・不均一性を評価し、さらに時間的に再発や治療による経時変化をふまえて深く理解することが求められる。多重免疫染色をはじめとした組織の構成要素を包括的に定量評価する手法が今後発展し、これに染色の自動化・迅速化、機械・深層学習技術を用いた解析精度の向上を経ることで、多面的ながんの個別診断の加速が期待される。

謝 辞

本研究の遂行に多大なる支援をいただいた本学分子病態病理学教室伊東恭子先生、萩寛志先生、柴田沙耶様 (SCREEN Holdings), Lisa M. Coussens先生 (Oregon Health & Science University) に深謝の意を表す。本研究は ENTM Dr. 浅野登&輝子基金医学基礎研究助成、日本耳鼻咽喉科頭頸部外科学会研究奨励賞、JSPS 科研費 (19K18814, 22K09688) から支援を受けた。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

文 献

- 1) 水上民夫. 承認された分子標的抗がん剤一覧 2021. 日本がん分子標的治療学会 JAMTTC News Lett. 25: 9-10, 2021.
- 2) Palucka AK, Coussens LM. The basis of oncoimmunology. *Cell*. 164: 1233-1247, 2016.
- 3) Hanahan D, Weinberg RA. The Hallmarks of Cancer. *Cell* [Internet]. 2000 Jan 7; 100(1): 57-70. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)
- 4) Hanahan D. Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer Discov* [Internet]. 2022 Jan 12; 12(1): 31-46. Available from: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
- 5) Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol*. 3: 991-998, 2002.
- 6) Chen DS, Mellman I. Elements of cancer immunity and the cancer-immune set point. *Nature*. 541: 321-330, 2017.
- 7) Sharma P, Hu-Lieskovan S, Wargo JA, Ribas A. Primary, adaptive, and acquired resistance to cancer immunotherapy. *Cell*. 168: 707-723, 2017.
- 8) Chen DS, Mellman I. Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*. 39: 1-10, 2013.
- 9) Galluzzi L, Humeau J, Buqué A, Zitvogel L, Kroemer G. Immunostimulation with chemotherapy in the era of immune checkpoint inhibitors. *Nat Rev Clin Oncol*. 17: 725-741, 2020.
- 10) Pozzi C, Cuomo A, Spadoni I, Magni E, Silvola A, Conte A, et al. The EGFR-specific antibody cetuximab combined with chemotherapy triggers immunogenic cell death. *Nat Med*. 22: 624-631, 2016.
- 11) Taylor MH, Schmidt E V, Dutcus C, Pinheiro EM, Funahashi Y, Lubiniecki G, et al. The LEAP program: Lenvatinib plus pembrolizumab for the treatment of advanced solid tumors. *Futur Oncol*. 17: 637-648, 2021.

- 12) Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Miyagawa-Hayashino A, Konishi E, Itoh K, et al. Prognostic significance of spatial immune profiles in human solid cancers. *Cancer Sci*. 111: 3426, 2020.
- 13) Tsujikawa T, Kumar S, Borkar RNRN, Azimi V, Thibault G, Chang YHYH, et al. Quantitative multiplex immunohistochemistry reveals myeloid-inflamed tumor-immune complexity associated with poor prognosis. *Cell Rep*. 19: 203-217, 2017.
- 14) Banik G, Betts CBCB, Liudahl SMSM, Sivagnanam S, Kawashima R, Cotechini T, et al. High-dimensional multiplexed immunohistochemical characterization of immune contexture in human cancers. In: *Methods in Enzymology*. Elsevier; 2020. p. 1-20.
- 15) Tsujikawa T, Croceni T, Durham JN, Sugar EA, Wu AA, Onners B, et al. Evaluation of cyclophosphamide/gvax pancreas followed by listeria-mesothelin (crs-207) with or without nivolumab in patients with pancreatic cancer. *Clin Cancer Res*. 26: 3578-3588, 2020.
- 16) Liudahl SM, Betts CB, Sivagnanam S, Morales-Oyarvide V, Silva ADA, Yuan C, et al. Leukocyte heterogeneity in pancreatic ductal adenocarcinoma: Phenotypic and spatial features associated with clinical outcome. *Cancer Discov*. 11: 2014-2031, 2021.
- 17) Means C, Clayburgh DRDR, Maloney L, Sauer D, Taylor MHMH, Shindo MLML, et al. Tumor immune microenvironment characteristics of papillary thyroid carcinoma are associated with histopathological aggressiveness and BRAF mutation status. *Head Neck*. 41, 2019.
- 18) Saburi S, Tsujikawa T, Miyagawa-Hayashino A, Mitsuda J, Yoshimura K, Kimura A, et al. Spatially resolved immune microenvironmental profiling for follicular thyroid carcinoma with minimal capsular invasion. *Mod Pathol*. 1-7, 2021.
- 19) Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *Int J Mol Sci*. 19: 1801, 2018.
- 20) Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou F-S, Bifulco C, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet*. 391: 2128-2139, 2018.
- 21) Makutani Y, Kawakami H, Tsujikawa T, Yoshimura K, Chiba Y, Ito A, et al. Contribution of MMP14-expressing cancer-associated fibroblasts in the tumor immune microenvironment to progression of colorectal cancer. *Front Oncol*. 12, 2022.
- 22) Yoshimura K, Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Saburi S, Ohmura G, et al. Spatial Profiles of Intratumoral PD-1 + Helper T Cells Predict Prognosis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Front Immunol*. 4554, 2021.
- 23) Reddy SMSM, Reuben A, Barua S, Jiang H, Zhang S, Wang L, et al. Poor response to neoadjuvant chemotherapy correlates with mast cell infiltration in inflammatory breast cancer. *Cancer Immunol Res*. 7, 2019.
- 24) Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* (80-). 359, 2018.

著者プロフィール



辻川 敬裕 Takahiro Tsujikawa

所属・職：京都府立医科大学大学院医学研究科耳鼻咽喉科・頭頸部外科学・学内講師

経歴：2004年3月 京都府立医科大学医学部 卒業

2004年4月～2006年3月

京都府立医科大学附属病院 初期臨床研修医

2006年4月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室

2007年4月～2009年3月

社会保険神戸中央病院耳鼻咽喉科 医員

2014年9月～2017年2月

Oregon Health & Science University 博士研究員

2017年7月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室 助教

2020年4月～現職

専門分野：頭頸部がん，がん微小環境

- 主な業績：1. [Tsujikawa T, Kumar S, Borkar RN, Azimi V, Thibault G, Chang YH, Balter A, Kawashima R, Choe G, Sauer D, El Rassi E, Clayburgh DR, Kulesz-Martin MF, Lutz ER, Zheng L, Jaffee EM, Leyshock P, Margolin AA, Mori M, Gray JW, Flint PW, Coussens LM. Quantitative multiplex immunohistochemistry reveals myeloid-inflamed tumor-immune complexity associated with poor prognosis. *Cell Reports* **19**\(1\): 203-217. 2017. 4.](#)
2. [Tsujikawa T, Crocenzi T, Durham JN, Sugar EA, Wu AA, Onners B, Nauroth JM, Anders RA, Fertig EJ, Laheru DA, Reiss K, Vonderheide RH, Ko AH, Tempero MA, Fisher GA, Conside M, Danilova L, Brockstedt DG, Coussens LM, Jaffee EM, Le DT. Evaluation of cyclophosphamide/GVAX pancreas followed by Listeria-mesothelin \(CRS-207\) with or without nivolumab in patients with pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research* **26**\(14\): 3578-3588. 2020. 7.](#)
3. [Saburi S, Tsujikawa T, Miyagawa-Hayashino A, Mitsuda J, Yoshimura K, Kimura A, Morimoto H, Ohmura G, Arai A, Ogi H, Konishi E, Itoh K, Sugino K, Hirano S. Spatially resolved immune microenvironmental profiling for follicular thyroid carcinoma with minimal capsular invasion. *Modern Pathology* **35**\(6\): 721-727. 2022. 6.](#)

