

<特集「医学系研究における画像解析と臨床への応用」>

## がん不均一性への空間生物学的解析

吉村佳奈子\*, 光田 順一\*, 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

### Spatial Biology-based Profiling of Tumor Heterogeneity

Kanako Yoshimura\*\*, Junichi Mitsuda\*\*, Takahiro Tsujikawa\* and Shigeru Hirano

*Department of Otolaryngology-Head & Neck Surgery,*

*Kyoto Prefectural University of Medicine Graduate School of Medical Science*

#### 抄 録

がんは増殖・浸潤・転移の過程で遺伝子的、微小環境的な多様性を獲得することが知られ、がんには不均一性が存在する。がん不均一性は病理学的評価やバイオマーカー発現のばらつきによる診断上の問題や、薬物療法や放射線治療後の再発・新規病変を含む治療抵抗性などの臨床的な問題と関連している。がん不均一性を治療前から予測・評価することはがんの個別化診断・治療に繋がるが、現状ではがん不均一性について位置情報を保持したまま定量的に解析する空間生物学的手法は確立されていない。我々は個々の細胞の空間情報が保ちながら単一細胞解析を可能にする多重免疫染色を用いて、がん細胞と免疫細胞で形成されるがん不均一性の存在と予後や悪性形質との関連性を示してきた。本稿ではがん不均一性に起因する臨床上の問題点や不均一性の要因となるがん生物学的背景因子について解説し、多重免疫染色を用いたがん不均一性への定量的な評価にむけた我々の取り組みについて紹介する。

キーワード：がん不均一性，空間生物学，多重免疫染色。

#### Abstract

Cancer is known to acquire genetic and microenvironmental heterogeneity during the growth, invasion, and metastasis, leading to the presence of tumor heterogeneity. Tumor heterogeneity is associated with diagnostic problems due to variations in pathological evaluation and biomarker expression, as well as clinical problems such as treatment resistance, including recurrence or new lesions after chemo or radiation therapy. Pretherapeutic prediction and evaluation of tumor heterogeneity would lead to patient stratification and personalized treatment. However, currently no spatial biological method has been established to quantitatively analyze tumor heterogeneity with preserved location information. Using multiplex immunohistochemistry, enabling single-cell analysis with preserved spatial information of individual cells, we have shown that the

令和4年10月25日受付 令和4年10月25日受理

\*この2人の著者は本研究に等しく貢献 (equal contribution) した。

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

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

doi:10.32206/jkpum.131.12.965

presence of tumor heterogeneity derived from cancer cells and immune cells is associated with prognosis and cancer cell capabilities. In this review, we describe the clinical challenges and biological background related to the tumor heterogeneity, and introduce our ongoing endeavor to quantitatively assess tumor heterogeneity using multiplex immunohistochemistry.

**Key Words:** Tumor heterogeneity, Spatial biology, Multiplex immunohistochemistry.

## はじめに

がんが遺伝子・微小環境的に不均一な細胞集団であることがこれまでの研究で明らかになり、発がんから進行・転移の中でがん細胞は多様な悪性形質や遺伝的多様性を獲得し、組織内のがん細胞以外の様々な宿主由来細胞の性質を変化させ、がん不均一性を生じていることが分かってきた<sup>1)</sup>。薬物療法が発展し、一部のバイオマーカー、がんゲノム医療が実用化している近年のがん診療において、がん不均一性は診断や治療抵抗性による臨床的な問題を生じているため、その背景であるがん生物学的機序の解明とそれに対応した解析手段が求められている。

空間生物学は様々な特性を有する細胞間の位置関係・分布に基づいて疾患の性質や生物学的機序を解明する比較的新しい研究領域で、組織内の位置情報を有する単一細胞解析が可能となったことで急速に発展している。がん組織の特性はがんを形成するがん細胞や微小環境の細胞要素の頻度・特性・相互作用により成り立つ

ため、がん組織への空間生物学的なアプローチはがん不均一性の理解や定量的な解析に貢献することが期待される。本稿では、がん不均一性に伴う臨床上的問題を詳述し、その背景となる生物学的機序と多重免疫染色を活用したがん不均一性への空間生物学的な解析手法について概説する。

## がん不均一性に起因する臨床上的問題点

がん不均一性に起因する臨床上的問題は診断と治療の2点に大別され、一つは治療選択バイオマーカー診断における生検と全組織との不一致、もうひとつは不均一性による治療抵抗性や再発転移の問題が存在する(図1)。

### 1. がん不均一性による診断上の問題

がん不均一性はがん診療における病理学的評価の上で臨床的な問題を生じる。例えば、甲状腺がんにおける高分化と低分化あるいは未分化成分の混在<sup>2)</sup>、非小細胞肺がんの成分を含む肺混合性小細胞癌<sup>3)</sup>、胃がんにおける印環細胞癌と管

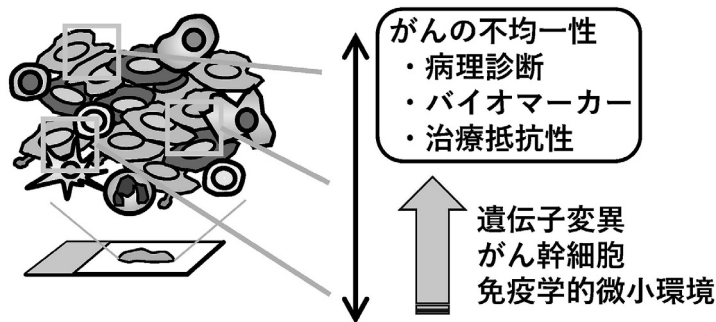


図1 がん不均一性：遺伝子変異，がん幹細胞，免疫学的癌微小環境といった生物学的背景によって腫瘍内部は部位ごと異なる性質を持つ。このがん不均一性により、病理診断の不一致，バイオマーカー探索の必要性，治療抵抗性といった臨床上の諸問題を生じている。

状腺癌の混在<sup>4)</sup>など、様々ながん種において分化度や組織型における不均一性がみられる。このような病理学的がん不均一性は、悪性度の評価やそれに伴う治療方針の決定に影響を与え、臨床的な問題となっている。

治療効果を予測する組織バイオマーカー発現の不均一性も臨床上的問題となる。免疫チェックポイント阻害薬である抗PD-1 (Programmed cell death-1) 抗体の治療標的機構であるPD-L1 (Programmed cell death-ligand 1) のがん細胞や腫瘍内免疫細胞の発現がバイオマーカーとして複数のがん種で普及しているが<sup>5)6)</sup>、腫瘍内でのPD-L1発現は局在や病変によるばらつきが生じうる。PD-L1発現の不均一性への対応として、病理診断では組織全体の複数箇所が発現を数値化・平均化しているが、生検検体において腫瘍全体像や病変毎の不一致が問題となる<sup>7)8)</sup>。分子標的薬のバイオマーカーにおいても不均一性が問題となり、例えば、乳がんにおけるHER2発現は原発巣と再発・転移巣で程度が異なることが知られ、治療薬の適応判断の上で課題となる<sup>9)</sup>。

がん不均一性はがんゲノム医療の上でも問題となる。同一患者内の複数部位や同一部位の腫瘍内の複数個所で行う高深度ゲノムシーケンスによって、部位や局在間で共有される変異は一部であることが明らかになっている<sup>9)10)</sup>。重要なことにこうした変異の多様性は治療標的となるドライバー変異においても確認されており、組織からのがん遺伝子パネル検査により同定された治療標的において治療後の抵抗性が生じうる問題がある。

## 2. がん不均一性による悪性形質と治療耐性

がん診療における障壁のひとつである再発・転移にもがん不均一性が関与することが知られる。化学放射線治療によって完全寛解した症例における局所再発や、薬物療法により腫瘍縮小を維持していた症例における再増大や新規病変の出現は臨床によく経験され、このような事例はがん組織が不均一な細胞集団で構成されることを示唆する。また、複数の転移性病変が存在する場合に薬物療法の反応性が病変によって異

なるMixed responseも経験され、特に免疫チェックポイント阻害薬において臨床上的問題となっている。この生物学的な背景には、がん遺伝子変異、がん幹細胞、微小環境や免疫特性におけるがんの不均一性があり、耐性を獲得した細胞集団の出現や薬剤浸透性の不均一性の存在が考えられる<sup>11)</sup>。このような不均一性を治療前から予測・評価することが出来れば患者の層別化や個別化治療に繋がるが、現状ではまだ確立されたものはなく、さらに時間経過や治療経過によっても絶えず変化し得ることがさらにその予測を困難にしている。

## がん不均一性に関わる がん生物学的背景因子

不均一性、多様性の獲得は自然界の個体レベルでも観察される生存戦略であり、がん生物学的な観点においてがん細胞も類似した戦略の存在が考えられる。

### 1. がん遺伝子変異による不均一性

がん遺伝子変異のクローン進化 (clonal evolution) はがん不均一性を生み出す重要な分子機構のひとつである<sup>12)</sup>。多くのがんは複数のゲノム異常が蓄積して発症することが明らかになっており、その結果として個体内で形質の異なる複数の亜集団 (サブクローン) を形成する。その中から、生存に有利な特定のゲノム異常を持つ集団が優勢的に増殖する (clonal selection)。このクローン進化に関する臨床的なエビデンスは、特に経時的な変異をモニタリングしやすい造血器疾患で進んでおり、慢性骨髄性白血病が急性転化を起こすたびに異なる変異やエピゲノム異常が集積することが知られている<sup>13)</sup>。固形がんにおいても長期間生体内に存在する中でがん細胞集団内の不均一性が形成され、治療抵抗性に関与している。

### 2. がん幹細胞による不均一性

がん不均一性の要因として、腫瘍組織中で自己修復能や多分化能を有する少数のがん幹細胞が起始細胞となり多様な癌細胞が枝分かれ的に

分裂・増殖し、その結果として様々な形質を有するがん細胞が共存するというモデルが提唱されている<sup>14)</sup>。がん幹細胞は低酸素や酸化ストレスへの高い抵抗性やDNA修復機構の亢進、アポトーシスの抑制等の特徴を持つことが報告されており、結果として抗がん薬、放射線療法に対して抵抗性が高い<sup>15)</sup>。さらに、がん関連線維芽細胞や腫瘍関連マクロファージ由来のサイトカインががん幹細胞の恒常性に寄与することも知られ、腫瘍微小環境との関連も示唆されている<sup>16)</sup>。

### 3. がん微小環境による不均一性

がん不均一性の構成には、がん細胞を取り巻く宿主由来の細胞で形成される微小環境とがん細胞の相互作用が重要な役割を有する。がん細胞による自体が血管増殖因子を分泌し、血管新生を誘導すると同時に、しばしば低酸素状態の微小環境を作りがん細胞の増殖や免疫逃避に関与することが知られている<sup>17)</sup>。近年の研究により神経とがん微小環境の関連性も明らかとなり、頭頸部がんではアドレナリン作動性神経から放出されたノルアドレナリンによって血管新生が誘導され、がんの進行を促進することが明らかになっている<sup>18)</sup>。

一方、がん微小環境における免疫細胞も複雑な構成を有し、抗腫瘍免疫はがん細胞や微小環境由来の様々な機構により抑制的に制御されていることが知られている<sup>19)</sup>。実際に、我々の研究においても頭頸部扁平上皮癌組織の腫瘍中心部での低酸素に関わるHIF1 $\alpha$ 発現や浸潤先進部における上皮間葉転換(EMT)関連マーカであるZEB2発現やT細胞の腫瘍外への排除などのがん微小環境の不均一性が見られている<sup>20)</sup>。また、腫瘍周囲の酸性環境もPD-L1発現亢進、免疫逃避につながる事が明らかになり<sup>21)</sup>、がん微小環境の特性によりがん細胞の不均一性が生じることが示唆された。

### がん不均一性への 空間生物学的な解析手段

癌微小環境において免疫細胞同士、あるいは免疫細胞と腫瘍細胞の間には様々な相互作用が

あること、またその予後の影響が報告されている一方で<sup>22-24)</sup>、腫瘍内における免疫細胞の詳細な位置情報は技術的な点からこれまで解明が進んでおらず、腫瘍内の不均一性とその予後の重要性は未だ不明な点が多い。がん不均一性は治療効果や予後と関連するため、空間生物学的にがん不均一性を定量的に評価することはバイオマーカー同定につながる。

### 1. がん細胞の不均一性の空間生物学的評価

近年のシングルセル解析技術の進歩により腫瘍組織の多様性を単一細胞レベルで調べることが可能となりがん不均一性の概念が知られるようになってきた。しかし、これまでの手法では解析の途中で個々の細胞の空間情報が失われてしまいがん細胞同士やがん細胞と微小環境との相互関係を評価するのが困難という課題があった。

この課題を克服するために、我々は1切片で12-14マーカーを可視化・定量化可能な多重免疫組織染色法を用いて<sup>25)</sup>、メタ解析で抽出された頭頸部がん細胞バイオマーカーを1切片上で解析し、マーカー毎の局在性、腫瘍内不均一性を示した<sup>20)</sup>。免疫細胞とがん細胞を同時に解析することで、組織中心部での $\beta$ -catenin発現がん細胞とCD66b<sup>+</sup>顆粒球などの免疫抑制的な骨髄系免疫細胞の共局在が観察され、がん細胞と免疫細胞で形成されるがん不均一性の存在が示唆された<sup>26)</sup>。

### 2. 免疫的微小環境の不均一性の評価

免疫的ながん不均一性評価のために、我々は多重免疫染色を用いて、がん包巣、浸潤辺縁部、周囲非がん部などにがん組織を区画化し、領域ごとに細胞の分布や密度を解析している。これまでの中咽頭がんにおける解析では、免疫細胞の腫瘍内局在ががん包巣と周囲間質で異なっており、Th2細胞、B細胞、CD66b<sup>+</sup>顆粒球が腫瘍内間質に局在していることが明らかになった<sup>27)</sup>。さらに、探索群・検証群にわたる予後の解析において、がん包巣内にPD-1<sup>+</sup>ヘルパーT細胞が高密度で存在することが独立した予後不良因子で

あることが明らかとなった<sup>27)</sup>。甲状腺濾胞がんにおける解析では、被膜浸潤部においてT細胞/CD66b<sup>+</sup>顆粒球比が高く、がん細胞におけるPD-L1高発現が示された<sup>28)</sup>。このように免疫細胞の不均一性に着目することで、予後や病理学的侵襲性と関連するがん不均一性を定量的に評価できる可能性がある。

### 3. がん不均一性への定量的な解析

多重免疫染色、空間的ゲノム解析技術の発達をバイオマーカーにつなげるために求められる次の段階は不均一性の定量化・指数化である。これには、がん組織内の多くの構成要素のどれを選択し、大きな組織構造から単一細胞・分子レベルまでどの解像度で調べ、どのように統合するか、などの技術的課題が存在し、複数の試みが進められている。

単一細胞レベルでの空間的解析として、我々は現在、森林学で分布・局在解析で用いられる pair correlation index から着想を得て、本手法を用いてがん細胞・免疫細胞の空間的パターンを評価している<sup>29)30)</sup>。細胞間距離は必然的に細胞

密度に影響を受けるが、この pair correlation index は細胞間距離に応じた細胞密度で補正されているため、信頼性が高い。同一患者から取得した初発と治療後局所再発頭頸部がんの多重免疫染色解析に本手法を適応し、がん細胞と17種類の免疫細胞の位置・空間的関係性を調べたところ、初発腫瘍に比べて再発腫瘍は制御性T細胞が近く、NK細胞が遠い位置関係に存在することが示された<sup>30)</sup>。相対的な位置関係のみならず、指数として定量化することが可能なため、予後情報を有する検体にこの解析を応用して、バイオマーカーを同定することが期待される。

組織構造レベルでの空間的解析として進めているのが、組織切片全体を微小な格子状の解析領域に分けて、小領域の不均一性と組織全体の特性とを比較する試みである。頭頸部癌には腫瘍内不均一性が存在し、病理診断ならびにPD-L1発現評価への生検部位の選択が課題となっている。現在我々は生検部位の最適化を目的とし、2mm四方の解析領域と腫瘍全体の対応・一致率への検討を進めている<sup>31)</sup> (図2)。化学療法による前治療の有無や、同一の腫瘍内でも部位に

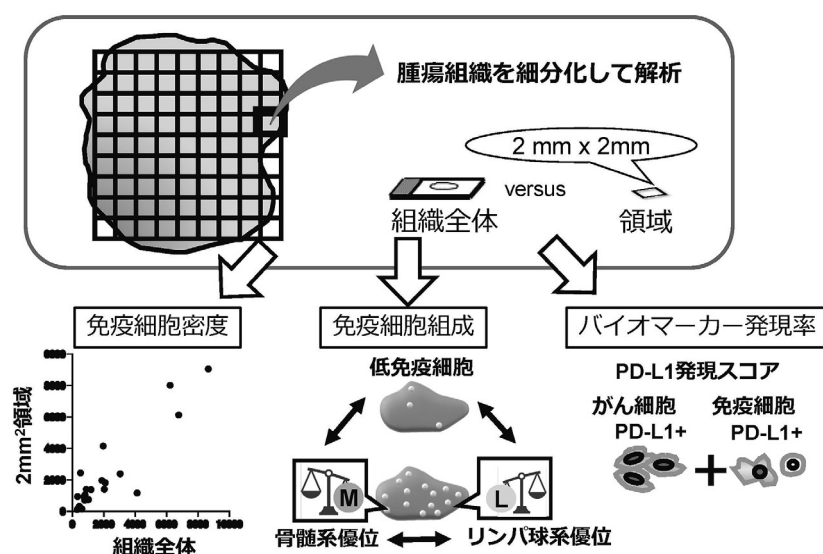


図2 組織構造レベルでの空間的解析：腫瘍組織全体の免疫学的がん微小環境を2mm四方の解析領域に細分化し、免疫細胞密度、免疫細胞の組成、PD-L1発現スコアについてそれぞれの解析領域と組織全体を比較検討する試みを進めている。

よって免疫細胞の不均一性に差があることが分かってきており、不均一性を指数化することによって予後や治療効果、抵抗性との関連性が定量的に解析可能となることが期待される。

### まとめと展望

がんの有する遺伝子的・微小環境的な不均一性に起因する診断の不一致や治療抵抗性の存在が基礎的・臨床的課題となっている。がん細胞や免疫細胞の局在を把握し定量化できる空間生物学的解析を通じて、我々は腫瘍内の局在によるがん細胞や免疫細胞の分布・特性が異なることを明らかにしてきた。現在、急速に発展している空間生物学によるがん組織の解析が進むことで、がん不均一性を背景とした診断や治療上

の課題が解決される可能性がある。さらに、定量的ながん不均一性の解析は既存・新規治療と与えるがん不均一性の増大・減弱も評価できる可能性があり、がん不均一性自体を制御する治療手段の開発・同定に寄与することが期待される。

### 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) に深謝の意を表する。

開示すべき潜在的利益相反状態はない。

### 文 献

- Ge R, Wang Z, Cheng L. Tumor microenvironment heterogeneity an important mediator of prostate cancer progression and therapeutic resistance. *npj Precis Oncol*; 6. 2022.
- 林俊哲, 廣川満良, 兼松里紗, 鈴木彩葉, 樋口観世子, 宮内 昭. 甲状腺低分化癌について. *内分泌外会誌*. 36: 141-145. 2019.
- 林諭史, 北田正博, 小沢恵介, 佐藤一博, 徳差良彦, 三代川齊之. 神経内分泌形質を有する腺癌を混在した肺混合型小細胞癌の1例. *肺癌*, 49: 268-272, 2009.
- 岩本淳一, 下河辺宏一, 伊藤真典, 溝上裕士. ESD施行早期胃癌における未分化型癌混在病変の検討. *Progress of Digestive Endoscopy*, 73: 54-57. 2008.
- Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson A, Hui R, Csösz T, Fülöp A, Gottfried M, Peled N, Tafreshi A, Cuffe S, O'Brien M, Rao S, Hotta K, Leiby MA, Lubiniecki GM, Shentu Y, Rangwala R, Brahmer, JR. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N engl J med*, 375, 1823-1833. 2016.
- Meulenaere AD, Vermassen T, Aspeslagh S, Huvenne W, Dorpe JV, Ferdinande L, Rottey S. Clinical utility of PD-L1 expression in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol* 70: 34-42, 2017.
- Rasmussen JH, Lelkaitis G, Håkansson K, Vogelius IR, Johannesen HH, Fischer BM, Bentzen SM, Specht L, Kristensen CA, Buchwald C, Wessel I, Friborg J. Intratumor heterogeneity of PD-L1 expression in head and neck squamous cell carcinoma. *Br J Cancer*, 120: 1003-1006. 2019.
- Muggilli M, Russell D, Zhou Z. Comparison of programmed death ligand 1 immunostaining for pancreatic ductal adenocarcinoma between paired cytological and surgical samples. *Cytojournal*. 3; 18: 28. 2021.
- Miglietta F, Griguolo G, Bottosso M, Giarratano T, Lo Mele M, Fassan M, Cacciatore M, Genovesi E, De Bartolo D, Vernaci G, Amato O, Porra F, Conte P, Guarneri V, Dieci MV. HER2-low-positive breast cancer: evolution from primary tumor to residual disease after neoadjuvant treatment. *NPJ Breast Cancer*. 20; 8: 66. 2022.
- Gerlinger M, Horswell S, Larkin J, Rowan AJ, Salm MP, Varela I, Fisher R, McGranahan N, Matthews N, Santos CR, Martinez P, Phillimore B, Begum S, Rabinowitz A, Spencer-Dene B, Gulati S, Bates PA, Stamp G, Pickering L, Gore M, Nicol DL, Hazell S, Futreal PA, Stewart A, Swanton C. Genomic architecture and evolution of clear cell renal cell carcinomas defined by multiregion sequencing. *Nat Genet*. 46: 225-233. 2014.
- Matsui Y, Niida A, Uchi R, Mimori K, Miyano S, Shimamura T. phyC: Clustering cancer evolutionary trees. *PLoS Computational Biology*. 2017. doi: org/10.1371/journal.pcbi.1005509

- 12) Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*. 194: 23-28. 1976.
- 13) Ochi, Y, Yoshida K, Huang YJ, Kuo MC, Nannya Y, Sasaki K, Mitani K, Hosoya N, Hiramoto N, Ishikawa T, Branford S, Shanmuganathan N, Ohyashiki K, Takahashi N, Takaku T, Tsuchiya S, Kanemura N, Nakamura N, Ueda Y, Yoshihara S, Bera R, Shiozawa Y, Zhao L, Takeda J, Watatani Y, Okuda R, Makishima H, Shiraiishi Y, Chiba K, Tanaka H, Sanada M, Takaori-Kondo A, Miyano S, Ogawa S, Shih LY. Clonal evolution and clinical implications of genetic abnormalities in blastic transformation of chronic myeloid leukaemia. *Nat Commun* 12, 2833. 2021.
- 14) Tang DG. Understanding cancer stem cell heterogeneity and plasticity. *Cell Res*. 22: 457-472. 2012.
- 15) Peitzsch C, Perrin R, Hill RP, Dubrovskaya A, Kurth I. Hypoxia as a biomarker for radioresistant cancer stem cells. *Int J Radiat Biol*. 90: 636-652. 2014.
- 16) 赤司浩一. がん幹細胞研究の進歩と治療開発. *日本内科学会雑誌*. 106: 9, 1723-1733. 2017.
- 17) Kunz M, Ibrahim S. M. Molecular responses to hypoxia in tumor cells. *Molecular Cancer*, 2: 23. 2003.
- 18) Amit M, Takahashi H, Dragomir MP, Lindemann A, Gleber-Netto FO, Pickering C. R, Anfossi S, Osman AA, Cai Y, Wang R, Knutsen E, Shimizu M, Ivan C, Rao X, Wang J, Silverman DA, Tam S, Zhao M, Caulin C, Zinger A, Tasciotti E, Dougherty P. M, El-Naggar A, Calin G. A, Myers J. N. Loss of p53 drives neuron reprogramming in head and neck cancer. *Nature* 578, 449-454. 2020.
- 19) Gajewski TF, Schreiber H, Fu YX. Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment. *Nat Immunol*. 14: 1014-1022. 2013.
- 20) Mitsuda J, Tsujikawa T, Yoshimura K, Saburi S, Suetsugu M, Kitamoto K, Takenaka M, Ohmura G, Arai A, Ogi H, Itoh K, Hirano S. A 14-Marker Multiplexed Imaging Panel for Prognostic Biomarkers and Tumor Heterogeneity in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in Oncology*. 11: 713561, 2021.
- 21) Mori D, Tsujikawa T, Sugiyama Y, Kotani SI, Fuse S, Ohmura G, Arai A, Kawaguchi T, Hirano S, Mazda O, Kishida T. Extracellular acidity in tumor tissue upregulates programmed cell death protein 1 expression on tumor cells via proton-sensing G protein-coupled receptors. *Int J Cancer*. 149: 2116-2124. 2021.
- 22) Coussens LM, Zitvogel L, Palucka AK. Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet? *Science*.; 339: 286-291. 2013.
- 23) Kumagai S, Togashi Y, Kamada T, Sugiyama E, Nishinakamura H, Takeuchi Y, Vitaly K, Itahashi K, Maeda Y, Matsui S, Shibahara T, Yamashita Y, Irie T, Tsuge A, Fukuoka S, Kawazoe A, Udagawa H, Kirita K, Aokage K, Ishii G, Kuwata T, Nakama K, Kawazu M, Ueno T, Yamazaki N, Goto K, Tsuboi M, Mano H, Doi T, Shitara K, Nishikawa H. The PD-1 expression balance between effector and regulatory T cells predicts the clinical efficacy of PD-1 blockade therapies. *Nat Immunol* 21, 1346-1358. 2020.
- 24) Gong J, Chehrazi-Raffle A, Reddi S, Salgia R. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: A comprehensive review of registration trials and future considerations. *J Immunother Cancer*, 6: 1-18. 2018.
- 25) Tsujikawa T, Kumar S, Borkar RN, Azimi V, Thibault G, Chang YH, Balter A, Kawashima R, Choe G, Sauer D, Rassi EEI, 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 Rep*. 19: 203-217. 2017.
- 26) 光田順一, 辻川敬裕, 木村有佐, 森本寛基, 吉村佳奈子, 佐分利純代, 大村学, 新井啓仁, 平野滋. 頭頸部腫瘍薬物療法中の腫瘍内不均一性と悪性形質における経時変化の検討. *頭頸部腫瘍*. 47: 227. 2021.
- 27) Yoshimura K, Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Saburi S, Ohmura G, Arai A, Shibata S, Thibault G, Chang YH, Clayburgh DR, Yasukawa S, Miyagawa-Hayashino A, Konishi E, Itoh K, Coussens LM, Hirano S. Spatial Profiles of Intratumoral PD-1 + Helper T Cells Predict Prognosis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Front Immunol*. 12: 769534. 2021.
- 28) 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. *Mod Pathol*. 35: 721-727. 2022.
- 29) Nanami S, Kawaguchi H, & Yamakura T. Dioecy-Induced Spatial Patterns of Two Codominant Tree Species, *Podocarpus nagi* and *Neolitsea aciculata*. *Journal of Ecology*, 87, 678-687. 1999.
- 30) Banik G, Betts CB, Liudahl SM, Sivagnanam S, Kawashima R, Cotechini T, Larson W, Goecks J, Pai SI, Clayburgh DR, Tsujikawa T, Coussens LM. High-

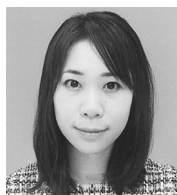
dimensional multiplexed immunohistochemical characterization of immune contexture in human cancers. In *Methods in enzymology*. 635, 1-20. 2020.

31) 吉村佳奈子, 辻川敬裕, 光田順一, 木村有佐, 森本寛

基, 佐分利純代, 大村 学, 新井啓仁, 平野 滋. 頭頸部扁平上皮癌における生検・腫瘍全体のPD-L1発現, 免疫特性の一致率の検討. 日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会プログラム・予稿集, 31: 273, 2022.



## 著者プロフィール



## 吉村 佳奈子 Kanako Yoshimura

所属・職：京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室 研修員  
京都第二赤十字病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員

略歴：2013年3月 京都府立医科大学医学部医学科 卒業  
2013年4月 公立南丹病院（現：京都中部総合医療センター）初期研修医  
2015年4月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学 専攻医  
2016年1月 京都市立病院耳鼻いんこう科 専攻医  
2018年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科 入学  
2022年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科 修了 博士（医学）  
2022年4月 京都済生会病院 医長  
2022年10月～現職

専門分野：頭頸部癌

- 主な業績：1. Yoshimura K, Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Saburi S, Ohmura G, Arai A, Shibata S, Thibault G, Chang YH, Clayburgh DR, Yasukawa S, Miyagawa-Hayashino A, Konishi E, Itoh K, Coussens LM, Hirano S. Spatial Profiles of Intratumoral PD-1<sup>+</sup> Helper T Cells Predict Prognosis in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Front Immunol.* **12**: 769534. 2021.
2. Mitsuda J, Tsujikawa T, Yoshimura K, Saburi S, Suetsugu M, Kitamoto K, Takenaka M, Ohmura G, Arai A, Ogi H, Itoh K, Hirano S. A 14-Marker Multiplexed Imaging Panel for Prognostic Biomarkers and Tumor Heterogeneity in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in oncology.* **11**: 713561, 2021.
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. *Mod Pathol.* **35**(6): 721-727. 2022.
4. 辻川 敬裕, 光田 順一, 吉村 佳奈子, 大村 学, 新井 啓仁, 平野 滋. 頭頸部癌における免疫組織化学バイオマーカーの現状と多重免疫染色の応用. *癌と化学療法* **48**: 889-893, 2021.
5. Makutani Y, Kawakami H, Tsujikawa T, Yoshimura K, Chiba Y, Ito A, Kawamura J, Haratani K, Nakagawa K. Contribution of MMP14-expressing cancer-associated fibroblasts in the tumor immune microenvironment to progression of colorectal cancer. *Frontiers in oncology*, **12**. 956270. 2022.
6. 吉村 佳奈子, 豊田 健一郎, 森岡 繁文, 藤田 朋己. 中耳唾液腺分離腫の1例. *Otol Jpn* **28**(5): 697-701, 2018.

## 著者プロフィール



## 光田 順一 Junichi Mitsuda

所属・職：京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学教室 研修員  
京都第一赤十字病院耳鼻咽喉科・頭頸部外科 医員

略歴：2013年3月 徳島大学医学部医学科卒業  
2013年4月 大津市民病院初期研修医  
2014年4月 京都府立医科大学付属病院初期研修医  
2015年4月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学  
2016年4月 済生会滋賀県病院耳鼻咽喉科  
2018年4月 京都府立医科大学耳鼻咽喉科・頭頸部外科学  
2022年4月～現職

専門分野：頭頸部癌

- 主な業績：1. Mitsuda J, Tsujikawa T, Yoshimura K, Saburi S, Suetsugu M, Kitamoto K, Takenaka M, Ohmura G, Arai A, Ogi H, Itoh K, Hirano S. A 14-Marker Multiplexed Imaging Panel for Prognostic Biomarkers and Tumor Heterogeneity in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Frontiers in oncology*, **11**: 2021.
2. Tsujikawa T, Mitsuda J, Ogi H, Miyagawa-Hayashino A, Konishi E, Itoh K, Hirano S. Prognostic significance of spatial immune profiles in human solid cancers. *Cancer science* **111**: 3426-3434, 2020.
3. 辻川 敬裕, 光田 順一, 吉村 佳奈子, 大村 学, 新井 啓仁, 平野 滋. 頭頸部癌における免疫組織化学バイオマーカーの現状と多重免疫染色の応用. *癌と化学療法* **48**: 889-893, 2021.
4. 光田 順一, 安田 誠, 鯉田 篤英, 采野 舞侑, 大西 俊範. 血管塞栓後に摘出した鼻中隔血管線維腫例. *耳鼻咽喉科臨床* **109**: 775-780, 2016.

