

令和元年6月15日現在

機関番号：24303

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2016～2018

課題番号：16K10705

研究課題名（和文）悪性胸腺上皮性腫瘍のPD1/PDL1作用に関する病態解明と新たな免疫療法の開発

研究課題名（英文）Novel Immunotherapy for Malignant Thymic Epithelial Tumors with PD1/PDL1 Signaling

研究代表者

井上 匡美（INOUE, Masayoshi）

京都府立医科大学・医学（系）研究科（研究院）・教授

研究者番号：10379232

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：胸腺上皮性腫瘍66例について、PD-L1発現を免疫染色で調べた。目視評価に加え、Whole Slide Imaging(WSI)による客観的評価も加え目視法との相関を確認し、PD-L1発現レベルと予後（無再発生存および全生存）との相関を解析した。結果として、WSIは胸腺腫においては目視法と相関したが、胸腺癌においてはばらつきを認めた。胸腺上皮性腫瘍の組織学的悪性度・病期とPD-L1発現レベルは相関した。PD-L1高発現症例は、無再発生存および全生存期間が短く予後不良であった。以上の結果から、悪性胸腺上皮性腫瘍ではPD-L1発現レベルがバイオマーカーとなりうるということが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究は比較的稀な悪性腫瘍である胸腺腫・胸腺癌における免疫チェックポイント分子の発現解析に関し、従来の免疫染色法に加えより客観的なデジタルイメージ解析を行ったもので、将来的な免疫チェックポイント阻害薬の開発と実臨床に寄与する可能性がある。

研究成果の概要（英文）：We investigated PD-L1 expression in 66 thymic epithelial tumors. In addition to conventional visual evaluation, we performed Whole Slide Imaging (WSI), which enable an objective assessment, and analyzed their relationship. As a result, 1, WSI is available in thymoma, but not in thymic carcinoma due to its variety. 2, PD-L1 expression level is correlated with histological grade and stage in thymic epithelial tumors overall. 3, Patients with PD-L1 high expression tumors show poor prognosis in both relapse-free and overall survivals. These results suggest PD-L1 expression could be an biomarker in malignant thymic epithelial tumors.

研究分野：呼吸器外科学

キーワード：胸腺上皮性腫瘍 PD-L1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、これまでの殺細胞性抗癌剤や分子標的薬に加え PD-1/PDL-1 阻害に基づいた悪性腫瘍に対する免疫療法が開発され、褐色細胞腫や非小細胞肺癌などで臨床試験が行われ一定の効果が報告されつつある。PD-1 は共刺激系 B7/CD28 ファミリーのひとつで T 細胞受容体(TCR)-主要組織適合抗原(MHC)シグナルによる免疫反応を抑制する働きをしている。これまでに、胸腺腫と胸腺癌が含まれる悪性胸腺上皮性腫瘍に対する有効な免疫療法についての報告はなく、わずかに腫瘍胸腺上皮細胞の PDL-1 発現が解析されているにとどまる。胸腺癌は発見時に切除不能の進行癌であることが多く、薬物療法に対する期待が大きい悪性腫瘍である。さらに、最近では、完全切除のみが根治の必要条件であり術前導入療法後の拡大切除も試みられているため、薬物療法の重要性は以前にもまして大きくなっている。一方で、胸腺腫は重症筋無力症や赤芽球癆など種々の自己免疫疾患の合併や、自己免疫性を伴う場合があることが知られている悪性腫瘍であり、腫瘍内 T 細胞分化がその発症に関与することが示されている。正常胸腺内での T 細胞分化には PD-1/PDL-1 シグナルが関与している可能性が報告されており、胸腺腫の自己免疫性に関する機序解明には、腫瘍胸腺上皮細胞の PDL-1 発現に加えて腫瘍内の未熟な T 細胞分画とその PD-1 発現との関係についての解析が必要である。私はこれまでにヒト胸腺および胸腺腫内における T 細胞分化に関する研究を行い、胸腺腫内では腫瘍胸腺上皮細胞の存在下に未熟な T 細胞が一定の分化成熟をきたすことを示した。そして、その分化の程度は腫瘍胸腺上皮細胞の主要組織適合抗原(MHC) class II の発現レベルと相関することを示し、胸腺腫の自己免疫原性に関する機序を報告してきた。胸腺腫に PD-1/PDL-1 阻害薬を使用する際には、その免疫抑制系の遮断という作用機序から自己免疫疾患およびそれに準じた病態を惹起する危険性を十分に配慮しなければならず、実臨床においては投与可能な症例と危険な症例の鑑別が必要となる。元来、自己免疫原性を伴っている可能性のある胸腺腫では、抗腫瘍効果を期待した PD-1/PDL-1 シグナル阻害薬の使用に際しては自己免疫疾患を発症する危険性のある症例を除外する指標が必要となる。

2. 研究の目的

悪性胸腺上皮性腫瘍における PD-1/PDL-1 作用の病態解明

3. 研究の方法

これまでに外科的切除され、パラフィン包埋された胸腺腫及び胸腺癌組織を用いて腫瘍細胞と腫瘍内リンパ球・間質細胞の PD-1/PDL-1 発現を免疫組織染色により調べた。また、PD-L1 発現評価には、通常の免疫染色目視法とデジタルイメージ解析法の2種類を行い、これらの結果について相関性を確認した。同時に、京都府立医科大学病理部およびドイツ・マンハイム大学病理部の協力を得て HE 染色標本で胸腺腫の WHO 組織

分類と PD-1/PD-L1 発現評価を行い, 進行病期・組織型と腫瘍における PD-1/PDL-1 発現の相関の有無について調べた. さらに, 症例ごとの予後調査を行い, PD-1/PDL-1 発現レベルと無再発生存期間について生存分析を行った.

ついで, 小児正常胸腺と胸腺腫浸潤リンパ球を抽出し, T 細胞分画ごとの PD-1 発現解析をフローサイトメリーにより行った. T 細胞分画の同定に使用した抗体は, CD4, CD8, CD3, CD69, PD-1 である.

4. 研究成果

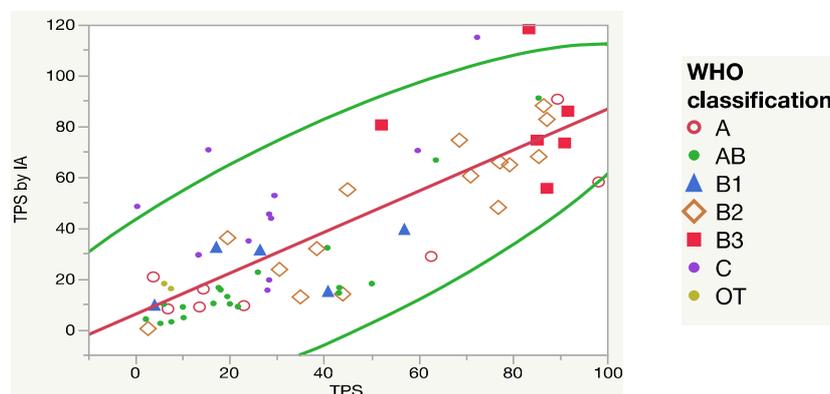
66 例の胸腺上皮性腫瘍を解析した.

PD-L1 発現については以下の表に示す.

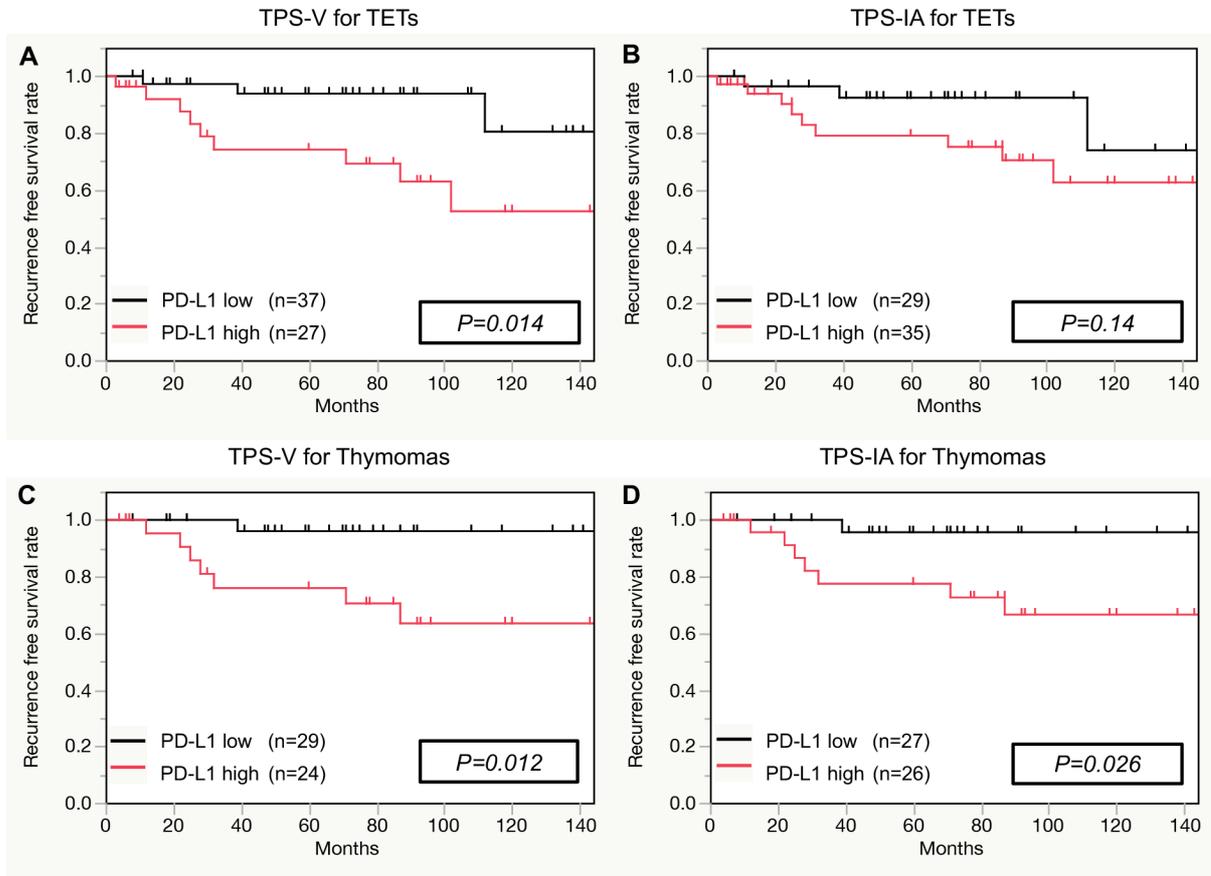
WHO subtype	n	TPS-目視法 (%)		TPS-デジタル解析 (%)	
		Median (range)	Average (SD)	Median (range)	Average (SD)
A	8	2 (0-80)	20 (±34)	18 (8-91)	30 (±28)
AB	18	2 (0-29)	5 (±8)	19 (2-91)	19 (±22)
B1	5	10 (0-80)	34 (±38)	25 (9-39)	25 (±11)
B2	15	65 (0-90)	55 (±32)	55 (0-82)	48 (±26)
B3	6	90 (30-95)	79 (±24)	78 (55-118)	81 (±19)
Metaplastic thymoma	2	1 (0-2)	1 (±1)	17 (16-17)	17 (±1)
Carcinoma	11	20 (0-60)	25 (±18)	44 (11-115)	46 (±29)
Total	66	17	31	29	38

TPS: Tumor proportion score

TPS-目視法と TPA-デジタル解析の相関性



TPS-目視法とTPS デジタル解析による PD-L1 発現レベル別の無再発生存率



5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 3 件)

石原駿太, 岡田悟, 常塚啓彰, 井上匡美. Type AB 胸腺腫 19 例の type A 型・B 型領域別による検討. 第 38 回日本胸腺研究会, 2019 年 2 月 2 日, 名古屋市立大学医学部研究棟(口演).

石原駿太, 岡田悟, Alexander Marx, 常塚啓彰, 加藤大志朗, 島田順一, 井上匡美. Whole Slide Imaging を用いた悪性胸腺上皮性腫瘍における PD-L1 発現のデジタル解析. 第 71 回日本胸部外科学会定期学術集会, 2018 年 10 月 3 日 ~ 10 月 6 日, グランドプリンスホテル新高輪国際館パミール(口演).

Ishihara S, Okada S, Ogi H, Kodama Y, Itoh K, Marx A, Inoue M. The expression pattern of programmed death- ligand 1 according to the pathological type of malignant thymic epithelial tumor. 19th World Congress On Lung Cancer. 2018 Sep 23-26; Metro Toronto Convention Centre, Toronto, Canada (Poster).

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.f.kpu-m.ac.jp/k/thoracic/medical/conference.html>

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名:常塚 啓彰

ローマ字氏名: Akihiro Tsunozuka

所属研究機関名:京都府立医科大学

部局名:大学院医学研究科

職名:助教

研究者番号(8桁):00453100

研究分担者氏名:加藤 大志朗

ローマ字氏名: Daishiro Kato's

所属研究機関名:京都府立医科大学

部局名:大学院医学研究科

職名:講師

研究者番号(8桁):70315943

(2)研究協力者

研究協力者氏名:石原 駿太

ローマ字氏名: Shunta Ishihara

所属研究機関名:京都府立医科大学

部局名:大学院医学研究科

職名:大学院生