

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19898

研究課題名(和文)腫瘍免疫におけるTSP-1によるPD-1, PDL-1への作用機序の解明

研究課題名(英文)The Impact of the correlation between thrombospondin-1 and immune checkpoint

研究代表者

中尾 寿宏 (NAKAO, Toshihiro)

徳島大学・大学院医歯薬学研究部(医学系)・徳島大学特別研究員

研究者番号：60531754

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文):本研究はTHBS-1/TSP-1による免疫チェックポイントへの作用と機序を解明し、THBS-1/TSP-1を癌免疫療法への応用するための研究基盤を確立することが目的である。胃癌症例において、PD-1、THBS-1 double positive群では予後不良であった。さらにPD-1・THBS-1発現はTGF $\beta$ 発現と関連していた。粘膜萎縮とTHBS1発現を検討したところ粘膜萎縮あり、多発癌の症例でTHBS1が高値を示した。CD36、TGFレセプター2、STAT3はTHBS1高値群で高値を示していた。多発癌ではTHBS1、TGF $\beta$ R2が有意に高値であり、CD36・STAT3が高い傾向を示した。

研究成果の概要(英文):The aim of this study was to investigate the impact of correlation between TSP-1 and immune-checkpoint and clarify the role of TSP1 in gastric carcinogenesis. TSP-1 and PD-1 was a significant prognostic factor. Furthermore TSP1 was correlated with TGF $\beta$  expression. The expression of TSP1 was high in the mucosal atrophy group and tended to be high in the Helicobacter pylori (H.pylori) (+) and multiple cancer groups. The levels of CD36, STAT3 and TGF $\beta$ R2 mRNA were significantly higher in the TSP1 high group. TSP1 signaling pathway was induced in multiple cancer or atrophy (+) or H.pylori (+) compared to cases with single cancer, atrophy (-) and H.pylori (-). Expression of proteins involved in the TSP1 signaling pathway in non-cancer tissues with multiple gastric cancers were higher than that with single gastric cancer.

研究分野：医歯薬学

キーワード：胃癌 免疫チェックポイント THBS-1 発癌

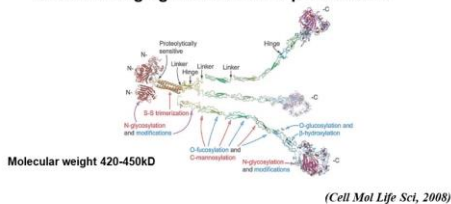
1. 研究開始当初の背景

今回我々が着目しました **Thrombospondin 1(TSP-1/THBS-1)**は細胞外 matrix 構成する glycoprotein で、多彩な生理活性を持ち、癌においては血管新生促進作用や腫瘍増殖抑制因子である TGFβ 刺激などの作用を有し、癌の悪化や、腫瘍免疫に関与することが報告されている。(図1)。

図1

**Thrombospondin1 (THBS1)**

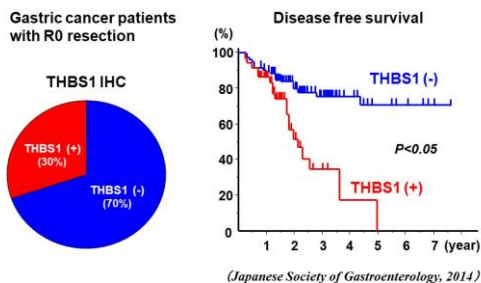
- 1. Multifunctional glycoprotein
- 2. Platelet aggregation, inflammatory reaction
- 3. Tumor angiogenesis and TGFβ stimulation



進行胃癌において TSP-1 の発現が血管新生や TGFβ を介し再発予後と関連することや、CD133、Histone deacetylase 1 との関連することを解明してきた (図2)。

図2

**THBS1 in gastric cancer**



また、胃癌において免疫チェックポイント分子である Programmed cell death protein 1 (PD-1) が予後や制御性 T 細胞のマスター遺伝子である Foxp3 の発現に関与することを解明してきた。これまで TSP-1 が血管新生抑制、血小板凝集、炎症反応、創傷治癒、腫瘍発育など多彩な生理活性を有することや、T 細胞や樹状細胞の抑制やマクロファージの食食抑制などの腫瘍免疫への関与が報告されているが、TSP-1 と免疫チェックポイントとの関連は明らかにされていない。

2. 研究の目的

本研究は TSP-1 による免疫チェックポイントへの作用と機序、それを介した抗腫瘍効果

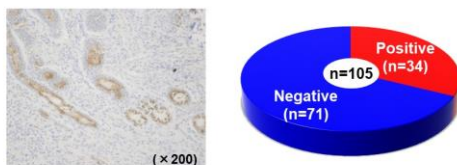
を解明し、TSP-1 を癌免疫療法への応用するための研究基盤を確立することが目的である。

3. 研究の方法

- (1) 胃癌切除標本における PD-1、PD-L1 と THBS-1 発現の意義を免疫染色で検討した。対象は 2004-2011 年に根治切除を施行された Stage II III胃癌 105 例(図3)。

図3

**- THBS1 -**



THBS1 IHC: anti-THBS1 antibody (Sigma-Aldrich, 1:100)  
**Positive expression:**  
 Divide into 2 categories based on the percentage of stained cells and their staining intensities.  
 Positive: >30% of the population stained moderate to strong  
 Negative: <30% of the entire population of cells stained weakly or moderately  
 (Int J Clin Onco, 2011)

4. 研究成果

- (1) 根治切除を行った胃癌症例において、PD-1、THBS-1 double positive 群では有意に予後不良であった (図4)。

図4

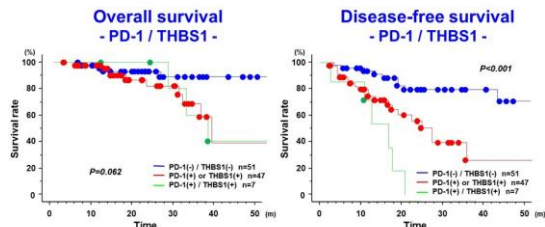


表1

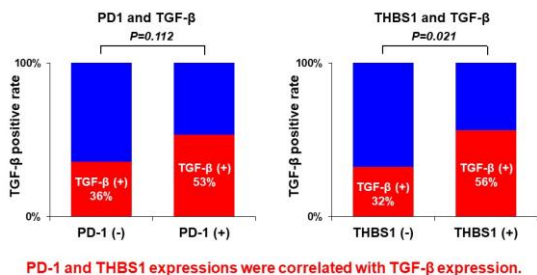
**Univariate analysis - Disease-free survival -**

Factor	3-years DFS (%)	P value
Age (<70 / 70≤)	64.0 / 47.8	0.146
Gender (Male / Female)	50.3 / 70.2	0.035
Differentiated / Undifferentiated	55.9 / 57.4	0.860
T 1,2 / 3,4	65.1 / 35.6	0.046
N (-) / (+)	55.1 / 56.4	0.870
Stage II / III	62.5 / 52.5	0.430
v (-) / (+)	74.9 / 46.6	0.051
ly (-) / (+)	69.4 / 35.0	0.007
PD-1 (-) / (+)	64.7 / 36.1	0.022
THBS1 (-) / (+)	70.1 / 25.3	<0.001

性別、T 因子 PD-1、THBS-1 発現は予後因子であった (表 1)。さらに PD-1・THBS-1 発現は TGF  $\beta$  発現と相関していた (図 5)。

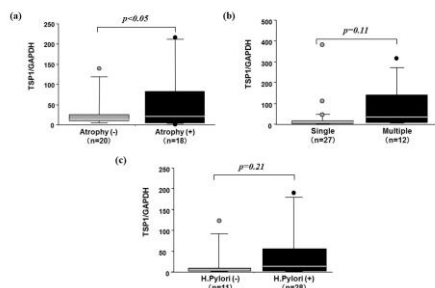
図 5

Correlation between PD-1, THBS1 and TGF- $\beta$



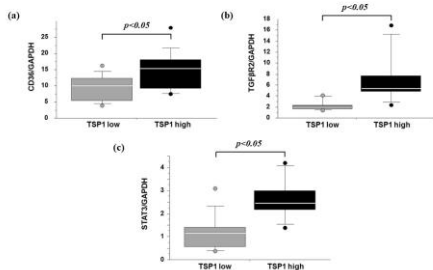
(2) 発癌と関連があるとされている、粘膜萎縮、ピロリ菌陽性、および発癌活性が高い多発癌について、THBS1 との関連を検討した。

図 6



粘膜萎縮と THBS1 発現を検討したところ、粘膜萎縮ありの症例で THBS1 が有意に高値を示した (図 6)。

図 7



単発、多発癌の比較を行いましたところ、多発癌で THBS1 高値の傾向を認めました (図 7) CD36 は THBS1 高値群で有意に高値を示していた。TGF  $\beta$  レセプター 2 は THBS1 高値群で高値を示していました。STAT3 は THBS1 高値群

で高値を示していました。多発癌では THBS1, TGF  $\beta$  R2 が有意に高値であり、CD36・STAT3 が高い傾向を示した (図 8)。

図 8

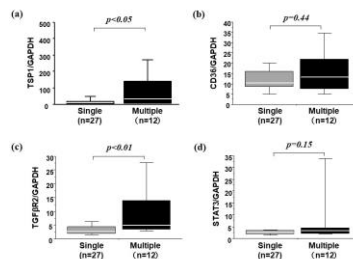
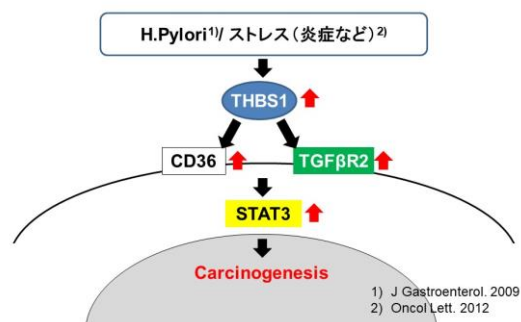


図 9

胃発癌とTHBS1



今回の結果より THBS1 は CD36 や TGF  $\beta$  レセプター 2・STAT3 を介して carcinogenesis を引き起こす可能性が示唆された (図 9)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 1 件)

1. Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K, Higashijima J, Tokunaga T, Nishi M, Takasu C, Ishikawa D. Correlation Between Thrombospondin-1 Expression in Non-cancer Tissue and Gastric Carcinogenesis.

DOI:10.21873/anticancerres.11724.

Anticancer Res. 2017;37(7):3547-3552.(査

読有)

[学会発表] (計 1 件)

1. Kashihara H, Shimada M, Yoshikawa K,  
Higashijima J, Nishi M, Takasu C.  
Thrombospondin-1 expressions in  
non-cancer tissue correlated with  
gastric carcinogenesis.  
**American Society of Clinical Oncology  
2017 Gastrointestinal Cancer Symposium  
(ASCO-GI 2017)** 2017年1月19日-21日  
MosconeMosconeWestBuilding(USA, San Francisco)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中尾 寿宏 (NAKAO, Toshihiro)  
徳島大学・大学院医歯薬学研究部・徳島大学特別研究員  
研究者番号：60531754

(4) 研究協力者

吉川 幸造 (YOSHIKAWA, Kozo)  
徳島大学・病院・講師  
研究者番号：80448331

東島 潤 (HIGASHIJIMA, Jun)  
徳島大学・病院・助教  
研究者番号：30467815