

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09638

研究課題名(和文) PD-L1の遺伝子変異および糖鎖修飾の意義とバイオマーカー開発に関する研究

研究課題名(英文) Significance of genetic alterations and glycosylation in PD-L1 and their biomarker development

研究代表者

秋田 弘俊 (Akita, Hirotoshi)

北海道大学・大学病院・教授

研究者番号：70222528

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、非小細胞肺癌の新たなバイオマーカーを探索した。非小細胞肺癌手術検体154検体を用いてPD-L1免疫組織化学染色を実施した。全解析症例検体の46.8%でH score 10%以上の発現を認めた。扁平上皮癌、喫煙者においてH scoreが高かった。次世代シーケンス解析を実施できた129検体においてPD-L1 3' UTR miRNA seeding領域の遺伝子変異(SNP-A)を検出した。SNP-Aにおいて、腫瘍部と正常部のgenotype一致群(52/114)に比し不一致群(10/12)はPD-L1免疫染色陽性率が有意に高かった(P = 0.01)。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗PD-1/PD-L1抗体薬の治療効果予測因子は、肺癌においてはPD-L1免疫染色であるが、同一腫瘍内の不均一性や臨床経過による変化があり、より“固定的で安定な”治療効果予測因子の開発が求められる。本研究では、PD-L1遺伝子の遺伝子変異(SNP)に着目し、新たなバイオマーカー(抗PD-1/PD-L1抗体薬の治療効果予測因子)を探索した意義は極めて大きく、今後、肺癌のみならず、肺癌以外の癌腫においても参考になるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We explored new biomarkers in non-small cell lung cancers (NSCLCs). We studied PD-L1 expression by IHC in 154 surgically resected NSCLC specimens, and found H score > or = 10% in 46.8 % of specimens, which were associated with squamous cell carcinoma compared with adenocarcinoma, and with smoking. We studied SNP in PD-L1 3' UTR miRNA seeding region by NGS in 126 surgically resected NSCLC specimens, and found higher PD-L1 expression in the cancer/normal-matched group (52/114) than the cancer/normal-mismatched group (10/12) (P = 0.01).

研究分野：内科学

キーワード：非小細胞肺癌 PD-L1タンパク質発現 PD-L1遺伝子変異

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

進行非小細胞肺癌において抗 PD-1/PD-L1 抗体薬の臨床開発はめざましく、肺癌薬物療法のニューパラダイムとして期待されている。PD-L1 発現陽性未治療非小細胞肺癌症例を対象とした Pembrolizumab 対プラチナ併用化学療法の新相臨床試験では、PD-L1 免疫染色 $\geq 50\%$ の症例において Pembrolizumab はプラチナ併用化学療法に対して無増悪生存期間、全生存期間が大きく上回っており、進行非小細胞肺癌の 1 次治療の標準治療のひとつになることが予想される (Reck et al. *N Engl J Med*, 2016)。肺癌組織の PD-L1 免疫染色は抗 PD-1/PD-L1 抗体薬の効果予測因子ではあるものの、PD-L1 発現は同一腫瘍内の不均一性や臨床経過による変化が示されており、“変動的で不安定な”効果予測因子と言える。抗 PD-1/PD-L1 抗体薬においても、EGFR 遺伝子変異や ALK 融合遺伝子のような、ゲノムレベルの“固定的で安定な”効果予測因子の開発が期待された。

2. 研究の目的

肺癌において抗 PD-1/PD-L1 抗体薬の治療効果予測因子 PD-L1 免疫染色には同一腫瘍内の不均一性や臨床経過による変化があり、より“固定的で安定な”治療効果予測因子の開発が求められ、本研究では、PD-L1 の遺伝子変異について解析し、腫瘍免疫病態への関与を明らかにするとともに、新たなバイオマーカーを探索した。

3. 研究の方法

北海道大学病院の非小細胞肺癌手術検体 154 検体 (ホルマリン固定パラフィン包埋材料) から薄切組織切片を作製し、PD-L1 免疫組織化学染色を実施した。抗 PD-L1 抗体としてはクローン SP142 を用いた。また、北海道大学病院病理部に設置されている自動染色器を使用した。1980 年代から 1994 年の比較的古い非小細胞肺癌手術検体を用いた研究であるが、PD-L1 発現を安定的に検出することができた。性別や喫煙歴、患者生存期間・予後などの臨床的因子との関係、組織型や分化度、TNM 分類などの臨床病理学的因子との関係を統計学的に解析した。

また、非小細胞肺癌手術検体 154 検体から DNA を抽出精製し、PCR 法で遺伝子増幅の後、次世代シーケンサーを用いて PD-L1 遺伝子変異解析を行っている。検体は古いホルマリン固定パラフィン包埋材料であり、次世代シーケンス解析が難しく、繰り返して DNA の抽出と精製を要している検体もあるが、129 検体において次世代シーケンス解析を実施できている。PD-L1 3' UTR miRNA seeding 領域の遺伝子変異を検出して、PD-L1 タンパク質発現との関係、腫瘍部と正常部の比較、患者予後との関係等を解析した。

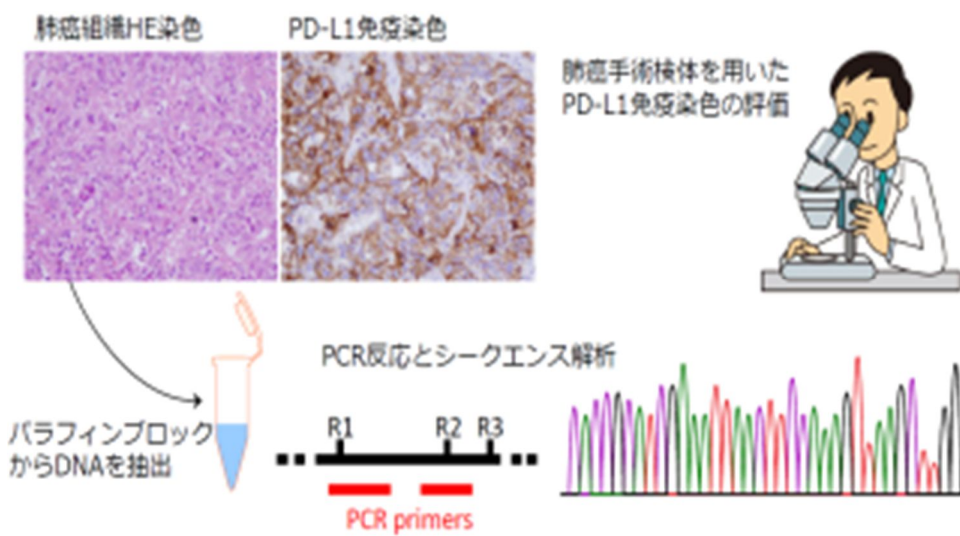
4. 研究成果

PD-L1 免疫組織化学染色を実施し、PD-L1 タンパク質発現を判定したところ、154 検体中 51 検体 (33%) で PD-L1 の発現を認めた。性別や喫煙歴、患者生存期間・予後などの臨床的因子との関係、組織型や分化度、TNM 分類などの臨床病理学的因子との関係を統計学的に解析した結果、全解析症例検体の 46.8% で H score 10% 以上の発現を認めた。組織型では腺癌に比し扁平上皮癌、喫煙との関係では非喫煙者に比し喫煙者において H score が高かった。

次世代シーケンサー解析については、129 検体において PD-L1 3' UTR miRNA seeding 領域の

遺伝子変異(SNP、2か所；SNP-A及びSNP-B)を検出することができ、PD-L1タンパク質発現との関係、腫瘍部と正常部の比較を解析した。SNP-Aが解析できた126検体において、腫瘍部と正常部のgenotypeが一致していたのは114検体(90.5%)、不一致だったのは12検体(9.5%)。SNP-Bが解析できた122検体において、腫瘍部と正常部のgenotypeが一致していたのは111検体(91.0%)、不一致だったのは11検体(9.0%)。PD-L1免疫染色陽性は64検体/129検体(50%)。SNP-Aにおいて、腫瘍部と正常部のgenotype一致群(52/114)に比し不一致群(10/12)はPD-L1免疫染色陽性率が有意に高い($P = 0.01$)という結果を得た。

本研究においてPD-L1遺伝子の遺伝子変異(SNP)に着目し、新たなバイオマーカー(抗PD-1/PD-L1抗体薬の治療効果予測因子)を探索した意義は極めて大きく、今後、肺癌のみならず、肺癌以外の癌腫においても参考になるものと考えられる。



図．非小細胞肺癌手術検体におけるPD-L1遺伝子変異解析とPD-L1免疫組織化学染色．

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	松野 吉宏 (Matsuno Yoshihiro)		
研究協力者	木下 一郎 (Kinoshita Ichiro)		
研究協力者	外丸 詩野 (Tomaru Utano)		
研究協力者	畑中 豊 (Hatanaka YUtaka)		
研究協力者	大原 克仁 (Ohhara Yoshihito)		