

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：15301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K15947

研究課題名(和文)新規抗腫自己抗体による膵癌制御法の開発

研究課題名(英文)Development of novel anti-cancer autoantibody for control of pancreatic cancer

研究代表者

松本 和幸 (Kazuyuki, Matsumoto)

岡山大学・大学病院・助教

研究者番号：40795027

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌患者の血清中抗RPL抗体をELISA法で測定した。結果、抗体価が高値と低値の患者で生存期間に差異はなく、治療別(手術、化学療法)でも同様の結果であった。今回の検討では、抗RPL抗体が膵癌予後に関与している可能性は低いと考える。

追加の検討でPD-1について着目し、膵癌において薬剤投与の目安となるコンパニオン診断法を検討した。膵癌患者のFNA検体と切除検体のPD-L1染色を行い一致率を検討した結果、PD-L1陽性率は全体で10%(11/94)、陽性一致率は55%(6/11)、陰性一致率は99%(82/83)であった。FNA検体を用いた抗体治療薬のコンパニオン診断ができる可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

RPL29に対する抗体を血中に有する膵臓癌の予後が良いという過去の報告や、RPL抗原が癌や血管内皮細胞増殖に関与している既報事実はあるものの、本研究では抗RPL抗体価の違いによる生存期間の差異はなかった。治療法別にも検討をしたが、同様に生存には寄与しなかった。

PD-L1染色の検討では、超音内視鏡で採取した検体と切除検体では、感度が約50%と低いものの、正診率は9割を超えており、今後、抗PD-L1抗体を投与する際のコンパニオン診断として有用になる可能性がある。治療効果が見込める患者への適切な投与により、治療効果の増大や、医療費の削減にもつながる可能性がある。

研究成果の概要(英文)： We evaluated the anti-RPL antibody in the serum of patients with pancreatic cancer using the ELISA method. The results showed that there was no significantly difference in the survival time between patients with high and low antibody titers. It is considered that anti-RPL antibody is not involved in the prognosis of patients with pancreatic cancer in this study.

For an additional study, we focused on PD-1 which has been clinically applied as an antibody therapeutic agent. We evaluated the relationship between the PD-L1 expression of surgical resected and FNA specimens for patients with pancreatic cancer. Of the 94 patients, 11 (10%) was defined as positive on resected cancer specimens. The concordance rates for the positive and negative frequency of PD-L1 expression between resected and FNA specimens were 55% (6/11) and 99% (82/83), respectively. These results have potential utility in the field of precision medicine for patients with pancreatic cancer.

研究分野：膵臓癌

キーワード：RPL29 PD-L1 膵臓癌 PD-1 FNA

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

### 1. 研究開始当初の背景

(1) 抗 RPL29 抗体に関する研究：膵癌は、年間 2 万 3 千人の患者が罹患し、近年増加している。癌自体の悪性度が高く、有効なスクリーニング検査がないことから、診断時 6 割が進行期で発見され、予後不良の疾患である。手術以外に有効な治療法はなく、手術不可能な症例に対しては、現在、新規抗癌剤プロトコル (FOLFIRINOX、GEM+nabPTX) が施行されているが、未だ効果は不十分である。一方で、予後が良い症例も存在する。そのような症例の特性を明らかにすることで、新たな視点による治療ターゲットが同定出来る可能性がある。予後良好症例の血液中に抗 RPL29 (60S ribosomal protein L29) 抗体が存在するという我々の既報結果 (引用文献 Muro, et al. Digestion 2015) 及び、RPL29 が腫瘍増殖や血管増生に必須のタンパク質であるという既報事実 (Jones D.T. et al. Dis Model Mech. 2013) は、本抗体が抗癌活性を有する新規抗体薬候補になり得ることを示している。

(2) PD-L1 染色に関する研究：近年、新規癌治療の方向性の一つとして、免疫医療、特に抗体医療が注目されている。悪性黒色腫をはじめとした種々の癌腫に対する抗体医薬として、免疫抑制分子 Programmed cell death(PD)-1 に対する抗体(抗 PD-1 抗体)は、その有用性が認められ、臨床応用されている。抗 PD-1 抗体は抑制された癌免疫を回復させることで広範な癌腫に対する有効性を引き出しているが、膵癌に関しては症例単位レベルでは効果を認めたものは存在するが、どの症例に効果があるかははっきりしていない。他臓器癌で報告されている治療効果予測バイオマーカーとして組織中 PD-L1 染色があり、PD-L1 が高発現のものは治療効果を認めるとされている。膵癌においては、手術検体での PD-L1 発現の報告はあるが、手術不能進行癌における現実的な組織採取法である FNA 検体での報告は無い。

### 2. 研究の目的

(1) 抗 RPL29 抗体：膵癌における抗 RPL29 抗体の臨床的意義を、より詳細に検討すること、他の癌種での臨床経過との相関を解析し、将来的に新規抗体医薬の開発に繋げることを目的とした。

(2) PD-L1 染色：膵癌の術前生検検体と切除検体を利用し、PD-L1 染色割合の一致率を検討することで、FNA 検体により、PD-L1 染色性が予測できるかどうか検討することを目的とした。

### 3. 研究の方法

(1) 抗 RPL29 抗体：RPL29 について、以下の項目について研究した。間接 ELISA 法による血清中抗 RPL29 抗体の定量化、血清中抗 RPL29 抗体価による生存率の違い、他の癌種における血清中抗 RPL29 抗体の有用性の確認

(2) PD-L1 染色：PD-L1 染色について、以下の項目について研究した。FNA 検体での PD-L1 染色陽性率、切除検体での PD-L1 染色陽性率、FNA 検体と切除検体での PD-L1 染色陽性一致率、それぞれの患者背景および予後

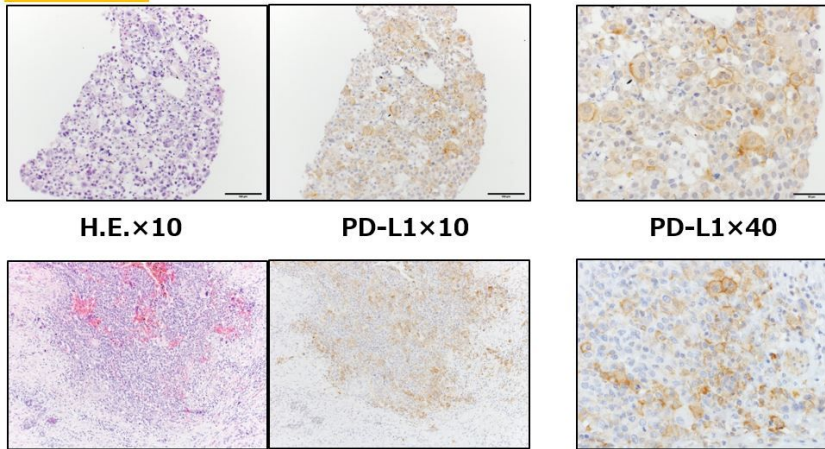
### 4. 研究成果

(1) 最終的な目標は抗 RPL29 抗体の抗体医薬としての可能性探索であったが、間接 ELISA 法による血清中抗 RPL29 抗体の絶対定量化の課題の達成に難渋した。従来使用していた ELISA キットでは、非特異的反応が大きいことが判明し、様々な ELISA プレート・ブロッキング液・RPL29 抗原・二次抗体などを検討し、非特異的反応が抑えられるキットを得ることができた。このキットを用いて、多施設から集積した膵癌患者の血清を使用し、データ欠損例を除いて 101 例(手術 21 例、化学療法 80 例)について、抗 RPL 抗体を測定し検討した。まず、全体の生存期間では手術の生存期間中央値は 960 日、化学療法では 293 日であり、コホートとしては他のデータから判断し妥当であると考えた。RPL 抗体価中央値を cut-off とし治療法別に生存期間を検討すると、手術を受けた 21 例で RPL 抗体価高値の生存期間中央値は 1125 日、低値では 915 日(log-rank、 $P=0.31$ )となり、抗体価の高低での有意な差は認めなかった。同様に化学療法を受けた 80 例について検討してみると、RPL 抗体価高値の生存期間中央値は 288 日、低値では 317 日(log-rank  $p=0.51$ )となり有意な差は認めなかった。化学療法を UICC のステージ別(Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ)以下)で同様に検討したが、抗体価の高低でいずれも生存期間に差異は認めなかった。当初の研究の方法、他の癌腫における血清中抗 RPL29 抗体の有用性の確認については、胆道癌患者 90 名で同様に検討を行ったが、抗体価の高低での生存期間に差異が認められなかった。今回の検討においては、本研究の当初の目標であった、新規抗体医薬の開発につながるには、不十分なデータとなった。

(2) PD-L1 染色性については、手術検体の cut-off 値を 5%とした場合、PD-L1 陽性率は 17% (16/94)であり、手術検体と FNA 検体の陽性一致率は 44% (7/16)、陰性一致率は 97% (76/78)であった。cut-off 値を 10%とした場合は、PD-L1 陽性率は 10% (11/94)であり、FNA 検体との陽性一致率は 55% (6/11)、陰性一致率は 99% (82/83)であった(図 2)。

## FNA検体

PD-L1 染色 FNAと手術検体一致例



## 手術検体

図2 FNA 検体、手術検体での PD-L1 染色

生存予後については手術検体 cut-off 値 10%以上を PD-L1 陽性とした場合、診断時の CA19-9 値は陽性例で有意に高く（陽性 247 U/mL vs 陰性 71 U/mL,  $p=0.04$ ）さらに、StageIIA 例において、有意に予後不良であった（陽性 633 日 vs 陰性 1308 日,  $p=0.009$ ）（図3）。今回の検討において、FNA 検体での PD-L1 染色は可能で、手術検体で陽性例の約半数および陰性例の大多数が診断できていた。染色方法や cut-off 値の設定など様々な limitation はあるが、膵癌患者に対する precision medicine に寄与する可能性があるものと考えた。

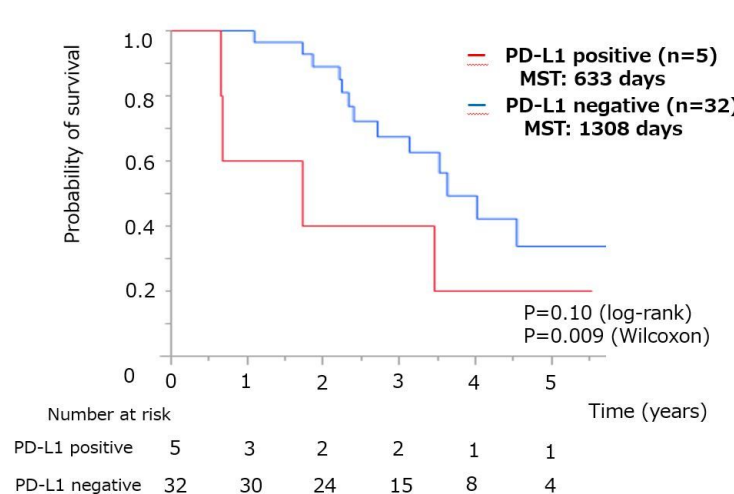


図3 生存比較（StageIIA 症例）

### < 引用文献 >

. Muro S, Miyake Y, Kato H, Tsutsumi K, Yamamoto K. Serum anti-60S ribosomal protein L29 antibody as a novel prognosis marker for unresectable pancreatic cancer. *Digestion*. 2015; 91: 164-173.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Matsumoto Kazuyuki, Ohara Toshiaki, Fujisawa Masayoshi, Takaki Akinobu, Takahara Masahiro, Tanaka Noriyuki, Kato Hironari, Horiguchi Shigeru, Yoshida Ryuichi, Umeda Yuzo, Fushimi Soichiro, Yagi Takahito, Matsukawa Akihiro, Okada Hiroyuki	4. 巻 54
2. 論文標題 The relationship between the PD-L1 expression of surgically resected and fine-needle aspiration specimens for patients with pancreatic cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Gastroenterology	6. 最初と最後の頁 1019 ~ 1028
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00535-019-01586-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Kazuyuki Matsumoto, Toshiaki Ohara, Masayoshi Fujisawa, Akinobu Takaki, Masahiro Takahara, Hironari Kato, Shigeru Horiguchi, Akihiro Matsukawa, Hiroyuki Okada
2. 発表標題 The relationship between the PD-L1 expression of surgical resected and fine-needle aspiration specimens for patients with pancreatic cancer
3. 学会等名 Digestive Disease Week 2019. AGA (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本 和幸, 高木 章乃夫, 大原 利章, 藤澤 真義, 高原 政宏, 加藤 博也, 吉田 龍一, 榎田 祐三, 八木 孝仁, 松川 昭博, 岡田 裕之
2. 発表標題 膵癌におけるFNA検体と切除検体とのPD-L1発現の検討
3. 学会等名 JDDW 2019
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松本 和幸, 高木 章乃夫, 大原 利章, 藤澤 真義, 高原 政宏, 加藤 博也, 吉田 龍一, 八木 孝仁, 松川 昭博, 岡田 裕之
2. 発表標題 膵癌におけるFNA検体と切除検体とのPD-L1発現の検討
3. 学会等名 日本内科学会 中国地方会
4. 発表年 2019年

〔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	高木 章乃夫  (Takaki Akinobu)	岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授  (15301)	
研究協力者	加藤 博也  (Kato Hironari)	岡山大学・大学病院・准教授  (15301)	
研究協力者	高原 政宏  (Takahara Masahiro)	岡山大学・医学部・客員研究員  (15301)	