

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08984

研究課題名(和文)新規治療薬開発を目指した腫瘍微小環境におけるPD-L1発現の意義と機序解明

研究課題名(英文)The significance and the mechanism of PD-L1 expression in the tumor microenvironment for novel therapeutic agents

研究代表者

塚本 雅代(Tsukamoto, Masayo)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員

研究者番号：30836268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：まず、実験に用いた全ての表現型の活性化マクロファージがtumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ を産生すること、及びTNF- $\alpha$ が膵癌細胞株におけるPD-L1の発現を増強することを確認した。また、活性化マクロファージと共培養した膵癌細胞で、PD-L1の発現が増強されることも確認した。一方で、膵癌の臨床検体において、PD-L1の発現とマクロファージのマーカーであるCD163陽性マクロファージの数が相関することを示した。更に、同一切片を用いた二重染色でも、PD-L1を発現した膵癌細胞の近傍に多くのマクロファージが存在することを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍微小環境に存在する各種サイトカインの中で、IFN- $\gamma$ がPD-L1の発現を増強することは周知の事実であるが、これまでの研究活動により、マクロファージが分泌するTNF- $\alpha$ により癌細胞におけるPD-L1の発現が増強され、免疫チェックポイント機構を介して免疫抑制に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：First of all, we confirmed that activated macrophages of all phenotypes used in the experiments produced tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  and that TNF- $\alpha$  enhanced PD-L1 expression in pancreatic cancer cell lines. We also confirmed that PD-L1 expression is enhanced in pancreatic cancer cells co-cultured with activated macrophages.

On the other hand, we showed that PD-L1 expression correlated with the number of CD163-positive macrophages in clinical specimens of pancreatic cancer. Furthermore, double staining of the same sections also confirmed the presence of many macrophages near pancreatic cancer cells expressing PD-L1.

IFN- $\gamma$  is well known to enhance PD-L1 expression among various cytokines in the tumor microenvironment. In this study, TNF- $\alpha$  secreted by macrophages have suggested to enhance PD-L1 expression in pancreatic cancer cells and can be involved in immunosuppression via immune checkpoint mechanisms.

研究分野：消化器外科

キーワード：PD-L1 TNF- $\alpha$  マクロファージ 膵癌

### 1. 研究開始当初の背景

膵癌は予後不良な疾患の一つである。外科的切除、化学療法や分子標的治療、放射線治療に加えて、第4の治療法として抗腫瘍免疫療法が登場し、脚光を浴びている。特に、免疫チェックポイント機構を標的とした抗PD-1抗体は、いくつかの癌腫において効果が認められている。しかしながら、膵癌においてはその効果は未だ確定的でない。また、抗PD-1抗体の効果については各種の臨床試験の結果から疑いようのない事実であるが、PD-L1の発現メカニズムについては未解明の部分が多い。膵癌におけるPD-L1の発現は約40%で認められ、膵癌細胞におけるPD-L1の発現が高い群で予後不良であることがこれまでに報告されている (Clin Cancer Res. 2007)。我々は、膵癌におけるPD-L1の発現メカニズムを解明し、膵癌の新たな治療戦略について検討することとした。

### 2. 研究の目的

膵癌に対し、根治の望める治療法は手術のみであるにも関わらず、診断時には既に進行していることが多く、手術適応となるのは15-20%である (N Engl J Med. 2014)。近年、抗PD-1抗体等の免疫チェックポイント機構を利用した薬剤が消化器癌においても使用され、その臨床的有用性が注目されている (Lancet 2017, J Clin Oncol. 2017)。膵癌におけるPD-L1 (Programmed cell death 1 ligand 1) の発現は約40%で認められ、膵癌細胞におけるPD-L1の発現が高い群は予後不良であることがこれまでに示されている (Clin Cancer Res. 2007)。しかし、PD-L1発現のメカニズムは未だ明らかにされていない。本研究の目的は、膵癌におけるPD-L1の発現メカニズムを解明し、膵癌の新たな治療戦略開発について検討することである。

### 3. 研究の方法

癌組織においては、癌細胞だけでなく、線維芽細胞や樹状細胞、腫瘍関連マクロファージ、各種リンパ球、Myeloid-derived suppressive cells (MDSCs) 等の免疫細胞、および関連するサイトカイン、ケモカインが存在し、あわせて腫瘍微小環境を形成している。癌細胞の進展や薬剤耐性の発現において、これら腫瘍微小環境が重要であることが、近年注目されている。一方で、膵癌の発癌の過程において炎症が関与していることが知られている (Nat Rev Cancer 2002)。我々は、腫瘍間質細胞の中でも特に炎症との関連の深いマクロファージに焦点を当て、膵癌におけるPD-L1の発現と腫瘍浸潤マクロファージとの関連について解析した。

### 4. 研究成果

まず、実験に用いた全ての表現型の活性型マクロファージが tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  を産生すること、及び TNF- $\alpha$  が膵癌細胞株におけるPD-L1の発現を増強することを確認した。また、活性型マクロファージと共培養した膵癌細胞で、PD-L1の発現が増強されることも確認した。

一方で、膵癌の臨床検体において、PD-L1の発現とマクロファージのマーカーであるCD163陽性

マクロファージの数が相関することを示した。更に、同一切片を用いた二重染色でも、PD-L1 を発現した隣癌細胞の近傍に多くのマクロファージが存在することを確認した。

更に、マクロファージが分泌するサイトカインである TNF- $\alpha$  とその中和抗体を用いて、TNF- $\alpha$  の中和抗体の存在下では PD-L1 の発現が低下することも mRNA レベル及び蛋白質レベルで確認している。

腫瘍微小環境に存在する各種サイトカインの中で、IFN- $\gamma$  が PD-L1 の発現を増強することは周知の事実であるが、これまでの研究活動により、マクロファージが分泌する TNF- $\alpha$  により癌細胞における PD-L1 の発現が増強され、免疫チェックポイント機構を介して免疫抑制に関与している可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 足立優樹、林洋光、遊佐俊彦、塚本雅代、山尾暢宣、東孝暁、山村謙介、今井克憲、山下洋市、馬場秀夫
2. 発表標題 肝細胞癌におけるmicrovascular invasionリスクスコアの臨床的有用性に関する検討
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020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
研究分担者	今井 克憲 (Imai Katsunori) (60555746)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員  (17401)	
研究分担者	林 洋光 (Hayashi Hiromitsu) (80625773)	熊本大学・病院・講師  (17401)	
研究分担者	岡部 弘尚 (Okabe Hirohisa) (40573621)	熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・特定研究員  (17401)	
研究分担者	中川 茂樹 (Nakagawa Shigeki) (10594872)	熊本大学・病院・特任助教  (17401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------