

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：12501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17603

研究課題名（和文）胆嚢癌におけるPD-L1発現抑制を目標とした新規癌免疫療法の追求

研究課題名（英文）Inflammation-induced PD-L1 expression enhances tumor immune escape and promotes tumor progression in gallbladder cancer

研究代表者

佐藤 豊 (SATO, Yutaka)

千葉大学・大学院医学研究院・特任助教

研究者番号：90867285

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：胆嚢癌におけるPD-L1発現は、胆嚢癌の悪性度や予後を反映した有用なバイオマーカーとなり得ることが示唆された。また、胆嚢癌の腫瘍微小環境における炎症因子とPD-L1発現とに相関を認め、NF- κ B活性化亢進を介したPD-L1発現の誘導機構を確認した。胆嚢癌において、PD-L1阻害のほかNF- κ B阻害を治療標的とすることで、PD-L1発現制御を介した新規の癌免疫療法に繋がる可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

胆嚢癌は外科手術が進歩した現在でも未だ予後不良な疾患であり、新たなバイオマーカーの探索や新規標的治療の開発が急務である。近年、PD-1/PD-L1経路による癌免疫逃避機構が解明されつつあるが、胆嚢癌におけるPD-L1発現に関する報告は乏しく、その詳細な機序は報告されていない。本研究において、胆嚢癌におけるPD-L1発現の臨床的意義を報告するとともに、炎症性転写因子の活性化亢進を介したPD-L1発現機構を解明することにより、胆嚢癌に対する新規癌免疫療法の開発につながる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：In summary, inflammatory condition around gallbladder cancer (GBC) enhances PD-L1 expression in GBC, resulting in suppressing anti-tumor immune response of CD8+ T cells, leading to aggressive tumor progression and poor prognosis. Moreover, inflammation-related NF- κ B activation is the potent signaling for inducing PD-L1 overexpression in GBC. Therefore, regulation of PD-L1 function by PD-L1 inhibition, or suppression of PD-L1 expression by NF- κ B inhibition will help us to develop new therapeutic approaches for advanced GBC.

研究分野：消化器外科

キーワード：胆嚢癌 PD-L1発現

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 胆嚢癌は集学的治療の進歩した現在であっても依然として予後不良な疾患であり、新たなバイオマーカーや新規治療標的の探索が急務である。近年、programmed death 1 (PD-1) /programmed death ligand 1 (PD-L1)経路を標的とした癌免疫療法の開発が様々な癌種で進んでおり、PD-L1 発現の予後予測因子としての有用性が報告されている⁽¹⁾。しかし、胆嚢癌におけるPD-L1 発現の臨床的意義を検討した研究はまだ乏しい。

(2) また、MSI high 固形癌に対する抗 PD-1 抗体が保険適応となったが、胆嚢癌における MSI high 症例の頻度は0.5-5%と非常に低率と報告されており、MSI high 胆嚢癌をターゲットとした癌免疫療法の臨床的意義は低いと言わざるを得ない。現在研究されている治療法は、既に癌に発現しているPD-L1 を標的として抗 PD-1/PD-L1 抗体を用いる治療法がほとんどであり、癌におけるPD-L1 発現自体の制御を試みる研究は乏しい。癌におけるPD-L1 発現は様々なシグナル因子により制御されている⁽²⁾ことが知られており、*in vitro*ではNF- κ BやSTAT3などの炎症性転写因子の活性亢進がPD-L1 発現を誘導する可能性が報告されているが、胆嚢癌におけるPD-L1 発現メカニズムは未だ明らかではない。胆嚢癌においてPD-L1 発現を抑制することができれば、宿主の細胞性免疫が活性化され腫瘍進展を抑制することができる可能性がある。

2. 研究の目的

(1) 胆嚢癌におけるPD-L1 発現のバイオマーカーとしての臨床的意義を検討すること。

(2) 炎症性転写因子を介したPD-L1 発現機構について検討すること。

3. 研究の方法

(1) 臨床検体を用いた検討では、2003年から2016年に当科で手術を施行したT2以深の進行胆嚢癌94例を対象に、腫瘍細胞および腫瘍浸潤免疫細胞におけるPD-L1 発現を免疫組織化学染色にて評価し、臨床病理学的因子や予後との関連を検討した。また、CD8陽性T細胞およびCD163陽性マクロファージの腫瘍浸潤とPD-L1 発現との関連を評価した。さらに、炎症性カスケードの活性化の指標として、リン酸化NF- κ B-p65およびリン酸化STAT3の核内発現を免疫組織化学染色にて評価した。

(2) 胆嚢癌細胞株を用いた実験では、IL-6あるいはTNF- α 刺激下に、NF- κ B経路およびSTAT3経路を介したPD-L1のタンパク発現をwestern blottingにて検討した。

4. 研究成果

(1) 胆嚢癌の臨床検体において、T3/4症例ではT2症例に比べ有意に術前WBC、CRPが高値で、術前の閉塞性黄疸の併発例が有意に多かった。また、腫瘍細胞におけるPD-L1 発現の陽性率は1%以上陽性をカットオフとして38.3% (36例)であった。腫瘍細胞におけるPD-L1 陽性例では陰性例に比べ有意にリンパ管・静脈浸潤、リンパ節転移、肝転移が多く、術前WBC高値および術前の画像上の肝内胆管拡張の残存と有意に相関した。腫瘍細胞におけるPD-L1 発現陽性例では陰性例に比べ有意に全生存期間 ($P=0.017$) および無再発生存期間 ($P=0.010$) の短縮を認めた。一方、腫瘍浸潤免疫細胞におけるPD-L1 発現は予後との相関を認めなかった (図1)。

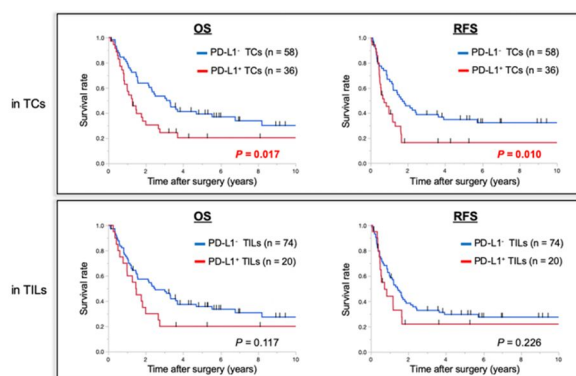


図1 腫瘍細胞におけるPD-L1 発現と生存率

(2) CD8陽性T細胞の腫瘍への浸潤を免疫組織化学染色にて評価したところ、腫瘍先進部におけるCD8陽性T細胞の高浸潤群のサブグループ(いわゆるHOT tumor群)では低浸潤群に比べ有意に全生存期間の延長を認めた。しかし、HOT tumor群においても、PD-L1 発現陽性例では陰性例に比べ有意に全生存期間、無再発生存期間の短縮を認めた。さらに、HOT tumor群での多変量解析ではPD-L1 発現は全生存期間に対する独立した予後不良因子として抽出された。

(3) 腫瘍微小環境において腫瘍促進性の役割を果たすとされる腫瘍関連マクロファージ(tumor-associated macrophage; M2 TAM)の腫瘍への浸潤を、その表面マーカーであるCD163を用いた

免疫組織化学染色にて評価すると、M2 TAM 高浸潤群では低浸潤群に比べ有意に全生存期間の短縮を認めた。加えて、M2 TAM 高浸潤群では術前 WBC、CRP が有意に高値で、術前胆管炎あるいは胆嚢炎の併発と相関した。

(4) 以上より、腫瘍微小環境での炎症性カスケードは胆嚢癌において PD-L1 発現の誘導に関与している可能性が示唆された。そこで、切除標本における炎症性転写因子活性を免疫組織化学染色にて評価したところ、リン酸化 NF- κ B-p65 の核内陽性率と PD-L1 発現とに正の相関を認めた。

(5) 細胞実験にて炎症性転写因子の PD-L1 発現への影響を検討した。まず、2 種類の胆嚢癌細胞株 (NOZ-1033、OCUG-1) に TNF- α 刺激を加えたところ、NF- κ B 活性亢進を介した PD-L1 発現の有意な増強を認めた。一方で、IL-6 刺激を加えた場合、STAT3 活性亢進を認めるものの PD-L1 発現に有意差は認められなかった。さらに、TNF- α 刺激により増強された PD-L1 発現は NF- κ B 阻害剤の添加により抑制されることを確認した。以上より、胆嚢癌における PD-L1 発現は腫瘍微小環境の炎症により惹起され、抗腫瘍免疫の抑制を介し腫瘍進展に寄与すると考えられた。

(6) 以上より、胆嚢癌における PD-L1 発現は、特に HOT tumor 症例において胆嚢癌の悪性度や予後を反映した有用なバイオマーカーとなり得ることが示唆された。また、胆嚢癌の腫瘍微小環境における炎症因子と PD-L1 発現とに相関を認め、NF- κ B 活性亢進を介した PD-L1 発現の誘導機構を確認した。胆嚢癌において、PD-L1 阻害のほか NF- κ B 阻害を治療標的とすることで、PD-L1 発現制御を介した新規の癌免疫療法に繋がる可能性が示唆された。

< 引用文献 >

- 1) Roy S. Herbst, Jean-Charles Soria, Marcin Kowanetz et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014;515:563-567.
- 2) Peixin Dong, Ying Xiong, Junming Yue et al. Tumor-intrinsic PD-L1 signaling in cancer initiation, development and treatment: Beyond immune evasion. *Front Oncol* 2018;8:386.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yutaka Sato
2. 発表標題 Clinical implication of PD-L1 expression in gallbladder cancer
3. 学会等名 14th World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 佐藤 豊
2. 発表標題 進行胆嚢癌におけるPD-L1発現の臨床的意義
3. 学会等名 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2021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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------