

令和 6 年 6 月 8 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15529

研究課題名（和文）肝癌におけるC5aRとPD-L1阻害剤との相互作用を介した革新的治療の開発

研究課題名（英文）Development of Innovative Therapy via Interaction between C5aR and PD-L1 Inhibitors in Hepatocellular Carcinoma

研究代表者

甲斐田 剛圭 (Kaida, Takayoshi)

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：80792580

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：臨床検体における免疫染色による発現解析を実施し栄養状態や予後の関連を評価した。腫瘍内のPD-L1とPD1は有意に逆相関がみられ、PD-L1陽性症例は無再発生存期間が有意に不良であった。臨床検体においてC5aRの発現を免疫染色で確認した。癌細胞膜表面での発現の程度と予後には明らかな関係が認められなかった。in vitroにおいて、肝臓の間質細胞株の中からC5aR高発現株であるLX2とC5aR低発現である肝細胞癌細胞株のHLF、HLEを用いて共培養を行った。recombinant C5aを用いてLX2を刺激するとHLE、HLFは増殖能の亢進は認めなかったが浸潤能は有意な亢進を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肝細胞癌は未だ難治性の消化器癌の1つであり有効な抗がん剤は数少なく、効果も乏しいのが現状である。近年新しく開発された免疫チェックポイント阻害剤の恩恵を受けられる症例が少しずつ報告されて脚光を浴びている。肝細胞癌においてPD-L1陽性症例は、無再発生存期間が有意に不良であった。PD1/CD8が低いほど無再発生存期間が有意に不良であることがわかった。さらにフレイルの人は有意に腫瘍内PD-L1陽性症例の割合が高いことが判明した。

研究成果の概要（英文）：Immunostaining expression analysis in clinical specimens was performed to evaluate nutritional status and prognostic associations. PD-L1 and PD1 in tumors were significantly inversely correlated, and PD-L1-positive patients had significantly worse recurrence-free survival. C5aR expression was confirmed in clinical specimens by immunostaining. In vitro, we co-cultured a liver stromal cell line with LX2, which expresses high levels of C5aR, and HLF and HLE, which are hepatocellular carcinoma cell lines that express low levels of C5aR. with recombinant C5aR, HLE and HLF showed no increase in proliferative ability, but significant increase in invasive ability.

研究分野：消化器系悪性腫瘍

キーワード：肝細胞癌 C5aR

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

補体ががん微小環境においても多数存在しておりがんの増殖・浸潤に大きく関与していることがわかってきた。我々は、補体を構成する因子の一つである C5a receptor (C5aR) がヒトの固形癌にも発現しており、癌における C5aR は、がんの浸潤・転移に関与していることを報告した(Nitta H et al, Clin Cancer Res 2013, Kaida T et al, Oncotarget 2016)。癌細胞は自身の C5aR を利用することで浸潤・増殖を促進しているが、癌の微小環境において自身の増殖、浸潤に有利な環境を作成している可能性がある。現在、多くの癌腫において C5a や C5aR をはじめ補体関連因子ががんの浸潤・転移に関与していることが報告されている(Lubka TR et al, Nat. Rev. Cancer 2020)

近年、悪性腫瘍において腫瘍に発現した補助刺激シグナルにより腫瘍免疫を引き起こしていることがわかり、注目を浴びている。悪性腫瘍は腫瘍に対する免疫応答を回避するために、腫瘍表面に PD-L1 を発現し PD-1 を介した T 細胞の疲弊を誘導し免疫寛容を引き起こしていると考えられている。消化器分野における悪性腫瘍においてもその使用適応が広がってきているが、その恩恵を受けられる症例は限られている。最近、肺癌において PD-1 と C5a を阻害することにより腫瘍増大と転移を抑制することが可能であるといった報告がされている(Daniel A et al, Cancer Discov. 2017)。肝がんにおける PD-1、PD-L1 と C5a との相互作用の関係について研究した報告はほとんどみられない。

2. 研究の目的

本研究は、肝がんにおける補体ケモカインである C5a-C5aR と免疫チェックポイント機構である PD-1-PD-L1 の発現意義と相互作用を明らかにするとともに、近年、臨床研究が進んでいる免疫チェックポイント阻害剤を利用した新しい治療戦略を探索することを目的とする。

3. 研究の方法

(1)熊本大学病院において、肝細胞癌の診断で肝切除を行った 149 症例を対象にした。切除標本より癌部・癌周囲肝組織の PD-L1 発現を免疫染色で確認を行った。免疫染色の結果と臨床 data とを解析し、RFS と OS を比較検討した。また C5aR の免疫染色後にその発現程度と臨床因子を解析し DFS、OS を比較検討した。

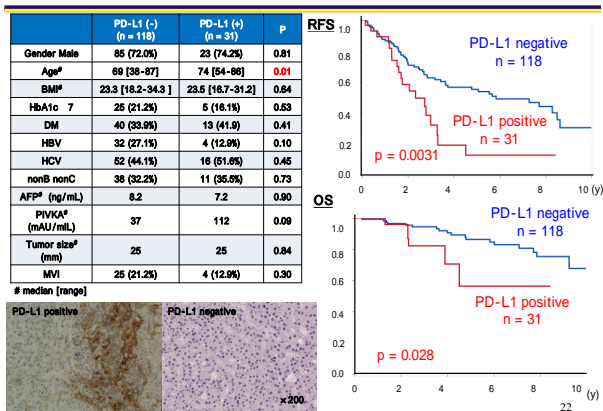
(2)熊本大学病院消化器外科で保管してある肝細胞癌細胞株 8 種類と肝間質細胞 3 種類において C5aR の発現を確認した。C5aR 発現のない肝細胞癌細胞株と C5aR 発現のある間質細胞株とを共培養モデルを作成した。その共培養において肝細胞株の増殖能や浸潤能を評価した。

4. 研究成果

(1)臨床検体における免疫染色による発現解析を実施し栄養状態や予後の関連を評価した。腫瘍内のPD-L1とPD1は有意に逆相関がみられ、PD-L1陽性症例は無再発生存期間が有意に不良であった。

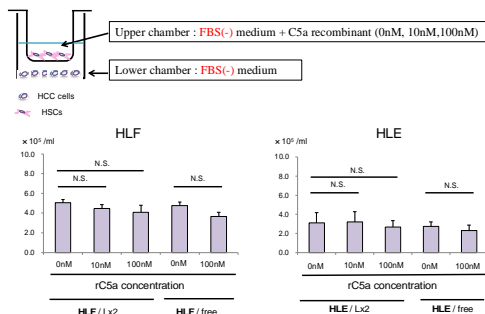
臨床検体においてC5aRの発現を免疫染色で確認した。癌細胞膜表面での発現の程度と予後には明らかな関係が認められなかった。

PD-L1発現と予後の関連

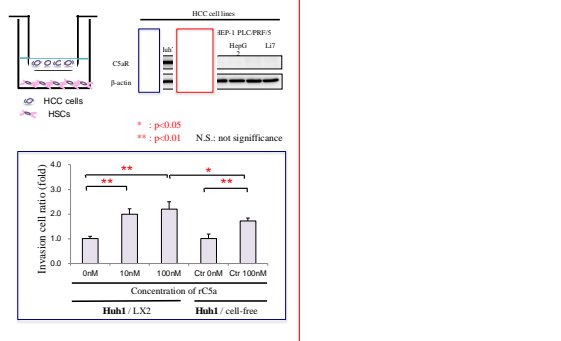


(2) in vitroにおいて、肝臓の間質細胞株の中からC5aR高発現株であるLX2とC5aR低発現である肝細胞癌細胞株のHLF、HLEを用いて共培養を行った。recombinant C5aを用いてLX2を刺激するとHLE、HLFは増殖能の亢進は認めなかったが浸潤能は有意な亢進を認めた。C5aRの発現がない肝細胞癌においてもがん周囲の間質環境においてC5aR発現を持った間質細胞が存在すれば、炎症により活性化され、がん細胞の浸潤に影響を与える可能性があることがわかった。

HCC細胞株とLx2との共培養による増殖能の検討



HCC細胞株とLx2との共培養による浸潤能の検討



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 遊佐俊彦、山下洋市、甲斐田剛圭、美馬浩介、中川茂樹、林洋光、今井克憲、馬場秀夫
2. 発表標題 肝細胞癌における免疫細胞の局在と相互関係が予後に与える影響について検討
3. 学会等名 第122回日本外科学会総会
4. 発表年 2022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
---------	---------