

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：16101

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15488

研究課題名（和文）抗PD-L1抗体による腫瘍内血管制御を介した新規腫瘍抑制機序とバイオマーカー解析

研究課題名（英文）Anti-angiogenic effects of PD-L1 blockade as a potential predictive biomarker

研究代表者

三橋 惇志（MITSUHASHI, Atsushi）

徳島大学・大学院医歯薬学研究部（医学域）・特任助教

研究者番号：00833732

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）：進行固形がん治療において抗PD-L1抗体等の免疫チェックポイント阻害薬は優れた治療成績を示しており、その治療効果予測因子の探索が求められている。本研究では、マウスモデルにおいて抗PD-L1抗体による腫瘍縮小効果を示した組織では血管新生が抑制され、血中において血管新生阻害作用を有するケモカインCXCL10/11の発現が亢進していることが明らかになった。これらケモカインの受容体であるCXCR3の中和抗体および、腫瘍細胞におけるCXCL10/11のノックダウンで抗PD-L1抗体治療感受性は低下した。臨床肺がん症例においても、血中CXCL10/11濃度が抗PD-1抗体の治療効果と正の相関性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害薬は進行がん治療において中心的な役割を担っており、その治療効果予測因子を同定することでがん免疫療法の分野における個別化医療の進展が見込まれる。さらに、腫瘍細胞由来ケモカイン発現を中心とした治療耐性化メカニズムの同定を目的としており、耐性克服に向けた新規複合がん免疫療法の開発が期待される。また、腫瘍免疫と血管新生の関連性における新たな知見が認められ、学術的な進展にも寄与すると考える。

研究成果の概要（英文）：PD-L1 blockade has been approved for various cancers as immune checkpoint inhibitor (ICI). However, the underlying anti-tumor mechanisms mediated by ICIs and the predictive biomarkers remain unclear. We found that PD-L1 blockade inhibited tumor angiogenesis and induces hypoxia only in ICI-sensitive mouse model. In tumor tissue and serum of ICI-sensitive cell line-bearing mice, IFN- γ inducible angiostatic chemokines CXCL10/11 were upregulated by PD-L1 blockade. The CXCL10/11 receptor CXCR3-neutralizing antibody or CXCL11-silencing in tumor cells inhibited the anti-angiogenic effect of PD-L1 blockade in vivo. In pretreatment serum of lung adenocarcinoma patients receiving anti-PD-1 antibody, the concentration of CXCL10/11 correlated with the clinical outcome. Our results demonstrated the anti-angiogenic function of PD-L1 blockade and identify tumor-derived CXCL10/11 as a potential predictive biomarker of therapeutic sensitivity.

研究分野：がん

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 血管新生 CXCL10/11 がん

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗PD-1/PD-L1抗体に代表される免疫チェックポイント阻害薬は優れた治療成績を示しており、さらなる治療効果の向上と最適化に向け、その作用機序、耐性獲得機序および治療効果予測因子の探索がなされてきた。また、腫瘍微小環境を制御する重要なメカニズムとして腫瘍血管新生が重要な治療標的とされており、血管新生阻害が免疫チェックポイント阻害薬の治療効果に密接に関連するとの報告もなされている。一方で、腫瘍微小環境に多大な影響を与える免疫チェックポイント阻害薬の、腫瘍内血管への作用については不明な点が多い。研究開始時点で、研究代表者はマウス腫瘍皮下移植モデルにおいて、抗PD-L1抗体による治療感受性を示した組織では成熟した腫瘍内血管の形成が阻害され、特徴的な網目状の低酸素領域を示すことを見出した(図1, 図2)。

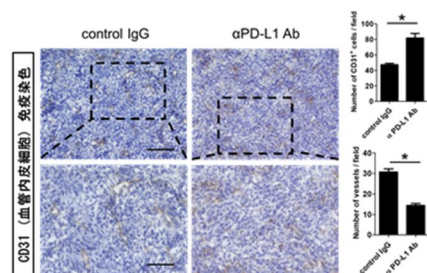


図1. マウス中皮腫細胞株AB1-HA皮下移植モデル(抗PD-L1抗体治療感受性)における抗PD-L1抗体の腫瘍内血管新生におよぼす影響

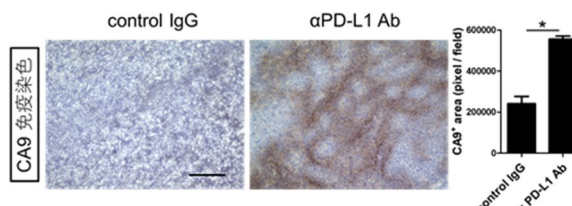


図2. マウス中皮腫細胞株AB1-HA皮下移植モデル(抗PD-L1抗体治療感受性)における抗PD-L1抗体の腫瘍内低酸素におよぼす影響

2. 研究の目的

本研究では、免疫チェックポイント阻害薬が腫瘍内血管を制御する機序の解明と、その応用による免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測因子の探索を目的とした。その中でも腫瘍細胞に由来する血管新生促進および抑制因子の発現変化に着目して検討を行った。

3. 研究の方法

複数のマウス腫瘍細胞株を皮下移植し、抗PD-L1抗体治療を行い治療感受性と腫瘍内CD31陽性血管内皮細胞の染色像との相関性を検討した。治療感受性および抵抗性のマウスモデルからそれぞれ腫瘍組織および血清を回収し、血管新生関連因子の遺伝子、蛋白質発現量を比較した。さらに、臨床肺がん症例においても治療前の血管新生関連因子蛋白濃度と、抗PD-1抗体による治療効果との相関性をそれぞれ比較した。

4. 研究成果

(1) 抗PD-L1抗体治療後の皮下移植腫瘍組織においてCD31血管内皮染色を行ったところ、治療感受性を示したモデルでは管腔形成を伴う成熟した腫瘍内血管新生が抑制されている一方、治療抵抗性のモデルでは変化を認めなかった。各モデルの腫瘍組織において、血管新生関連因子の遺伝子発現変化を確認したところ、治療感受性モデルではIFN-誘導性の血管新生抑制ケモカインであるCXCL10/11の発現が亢進していた。また、抗PD-L1抗体に感受性を示した細胞株は、*in vitro*においてもIFN-刺激でCXCL10/11発現の著しい上昇を認めた(図3)。

(2) 抗PD-L1抗体に治療感受性を示す中皮腫細胞株AB1-HAにおいて、CXCL10/11の受容体であるCXCR3の中和抗体を併用したところ、抗腫瘍効果及び成熟した血管新生阻害作用は認められなくなった。さらに、AB1-HAにレンチウイルスによりshCXCL11 vectorを導入し、発現抑制を行った細胞株の皮下移植モデルを実施したところ、抗PD-L1抗体による治療効果は低下した(図4)。これらの結果から、抗PD-L1抗体の抗腫瘍効果には腫瘍細胞由来CXCL10/11発現と、それによる血管新生阻害作用が重要である可能性が示唆された。

(3) 臨床肺がん症例における治療前血清にてCXCL10/11濃度と抗PD-1抗体治療による治療効果(無増悪生存期間)を比較したところ、正の相関性を認めた(図5)。この結果から、血中CXCL10/11濃度が免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

< Real time PCR / tumor cell line >

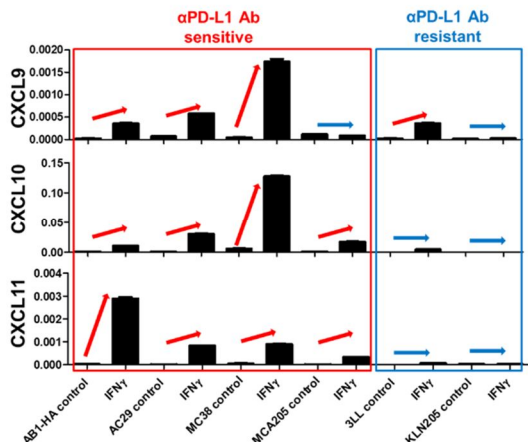


図3. マウス腫瘍細胞株におけるIFN-γ誘導性ケモカイン発現変化と抗PD-L1抗体感受性との関係

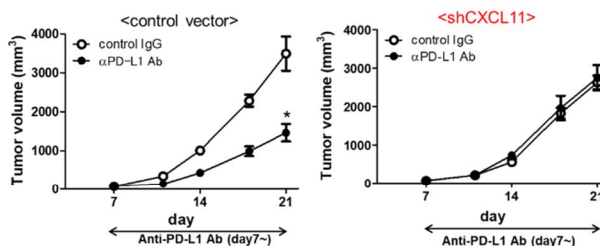


図4. 抗PD-L1抗体治療効果における腫瘍細胞由来CXCL11発現抑制の影響
マウス上皮腫瘍細胞株AB1-HA皮下移植モデル

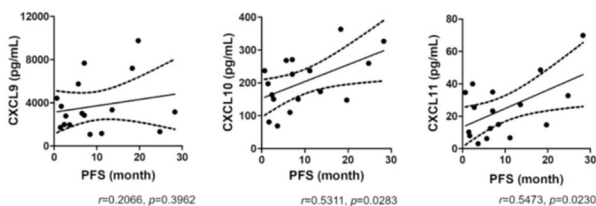


図5. 肺がん症例における血中ケモカイン濃度と抗PD-1抗体治療予後との相関

(Cancer Sci. 2021;112(12):4853-4866.)

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 0件/うちオープンアクセス 1件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Mitsuhashi Atsushi, Kondoh Kensuke, Horikawa Kazuki, Koyama Kazuya, Nguyen Na Thi, Afroj Tania, Yoneda Hiroto, Otsuka Kenji, Ogino Hirokazu, Nokihara Hiroshi, Shinohara Tsutomu, Nishioka Yasuhiko | 4. 巻 112 |
| 2. 論文標題 Programmed death (PD) 1/PD ligand 1 blockade mediates antiangiogenic effects by tumor derived CXCL10/11 as a potential predictive biomarker | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Cancer Science | 6. 最初と最後の頁 4853 ~ 4866 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.15161 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である) | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 三橋惇志, 荻野広和, 米田浩人, 大塚憲司, 軒原浩, 西岡安彦. |
| 2. 発表標題 抗PD-1/PD-L1抗体による血管新生制御メカニズムの解析と治療効果予測バイオマーカーとしての応用. |
| 3. 学会等名 第62回日本肺癌学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 三橋惇志, Tania Afroj, Nguyen Thi Na, 荻野広和, 米田浩人, 大塚憲司, 軒原浩, 西岡安彦. |
| 2. 発表標題 抗PD-1/PD-L1抗体による腫瘍血管新生抑制メカニズムの解析と治療効果予測バイオマーカーとしての応用 |
| 3. 学会等名 第25回日本がん分子標的治療学会学術集会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Atsushi Mitsuhashi, Hirokazu Ogino, Hiroshi Nokihara, Yasuhiko Nishioka. |
| 2. 発表標題 PD-1/PD-L1 blockade mediates antiangiogenic effects by tumor derived CXCL10/11 as a potential predictive biomarker. |
| 3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会(Cancer Science Young Scientists Award Lectures) (招待講演) |
| 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 |
|---------|---------|
|---------|---------|