

令和 2 年 6 月 4 日現在

機関番号：21601  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2016～2019  
課題番号：16K10511  
研究課題名(和文) 消化器癌におけるPD-L1発現機構の解明と免疫チェックポイント阻害療法の開発

研究課題名(英文) PD-L1 expression in GI cancer and Immune checkpoint inhibitor

研究代表者  
河野 浩二 (Kono, Koji)  
福島県立医科大学・医学部・教授

研究者番号：40283204  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：消化器癌におけるPD-L1の発現調節機構について、消化器固形がんは30株中の28株で、JAK-STAT系を介してIFN-gammaで発現増加が認められた食道扁平上皮がんの手術検において、EMTscoreと、PD-L1に正の相関があった。腫瘍微小環境由来のmicroRNAがPD-L1蛋白発現をNegativeに制御していることを突き止めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
消化器癌におけるPD-L1の発現調節機構を解明することで、免疫チェックポイント阻害剤の効果増強、ResponderのPrediction、Non-responderの機序解明に寄与できる。

研究成果の概要(英文)：(I)PD-L1 is upregulated by IFN-g through JAK-STAT pathway in GI-tract cancer.(II)There is a positive correlation between EMT status and PD-L1 expression in GI tract cancer.(III)microRNA from tumor microenvironment can down-regulate PD-L1 expression in colon cancer

研究分野：消化器外科学

キーワード：免疫チェックポイント阻害 消化器癌 Nivolumab

## 1. 研究開始当初の背景

癌細胞と T 細胞間にある Immune checkpoint (PD-L1 と PD1) の阻害療法の成功は、癌治療における大きな break through をもたらし、癌免疫療法は新しい時代を迎えた。本申請研究は、消化器癌における PD-L1 の調節機序を、IFN- $\gamma$  と Epithelial Mesenchymal Transition の観点から詳細に検討することを主眼とし、ヒト癌細胞株と手術摘出標本を用いた質の高い Translational research の実践を目指す。Immune checkpoint 阻害抗体が common cancer である消化器系腫瘍に適応拡大された際、これらの情報は必須であり、有効例の選択、治療の個別化、併用療法の選択などの点で、消化器癌治療において、きわめて大きな福音となりえる。

## 2. 研究の目的

消化器癌における PD-L1 の発現調節機構を解明し、免疫チェックポイント阻害剤の効果増強、Responder の Prediction、Non-responder の機序解明に寄与することを目的とする。

## 3. 研究の方法

*In vitro* 検討 我々の実験室が所有する消化器腫瘍細胞株 (26 株) を用いて

(i) Gene expression array により、EMT marker (CDH1, ZEB1, ZEB2, CDH2, VIM) の遺伝子発現を mRNA レベルで定量化する。上記の 5 遺伝子の発現強度を Score 化し、各細胞株における EMT status score と PD-L1 タンパク発現強度 (Flow cytometry) との相関関係を検討する。

(ii) 腫瘍細胞を各種条件下の IFN-gamma 存在下で培養し、PD-L1 タンパク発現を定量化し、同時に JAK-STAT 系のリン酸化、MAPK 経路、PI3K 経路の各リン酸化を Western blot で検討し、その相関関係を調べる。

(iii) 我々が樹立した抗腫瘍特異的 CTL クローン (Anti-LY6K specific CTL) を用いて、MKN7 や KYSE30 を標的として、抗 PD1 抗体存在下での細胞障害性試験を実施する。

*In vivo* 検討 胃癌、食道癌の手術摘出標本 (各 200 例) を用いて

(i) PD-L1 と Vimentin、E-cadherin を免疫染色し、Auto-analyzing system により半定量化し、PD-L1 発現と EMT status の関連を検討する。

(ii) PD-L1 と、CD3, CD4, CD8 細胞、および IFN- $\gamma$  を免疫染色し、Auto-analyzing system により半定量化し、PD-L1 発現と T 細胞浸潤、および IFN- $\gamma$  産生との相関を検討する。特に、PD-L1 と IFN- $\gamma$  の発現は、同一切片での Double staining を行う。

(iii) 上記 (iv) (v) の各因子と臨床病理学的因子 (TNM) との関連を、多変量解析で検討する

## 4. 研究成果

30 種類の消化器系固形癌細胞株を対象とし、MAPK 阻害剤、あるいは IFN-gamma 存在下で培養し、PD-L1 の発現、MHC class I 発現を Flow cytometry で、JAK-STAT、および ERK タンパクを Western Blot で検討した。その結果、消化器固形がんは 30 株中の 28 株で、JAK-STAT 系を介して IFN-gamma で発現増加が認められた (論文発表、Cancer Science 2018)。

EMT を惹起する *In vitro* モデルで、Mesenchymal 形質に変化することにより、Snail を介し

て、PD-L1の発現増加が認められた。また、食道扁平上皮がんの手術検体において、EMTscoreと、PD-L1に正の相関があった。したがって、消化器固形がんではEMT変化により、PD-L1の発現増加が証明できた（論文発表 Cancer Medicine 2018）。

腫瘍微小環境由来のmicroRNAがPD-L1蛋白発現をNegativeに制御していることを突き止め、Molecular Cancer Research2019に報告した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Mimura Kousaku, TEH Jun, Okayama Hirokazu, Shiraishi Kensuke, Kua Ley-Fang, Koh Vivien, Smoot Duane T, Ashktorab Hassan, Oike Takahiro, Suzuki Yoshiyuki, Fazreen Zul, Asuncion Bernadette, Shabbir Asim, Yong Wei Peng, So Jimmy, Soong Richie and Kono, Koji.	4. 巻 109
2. 論文標題 PD-L1 expression is mainly regulated by IFN- associated with JAK-STAT pathway in gastric cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 43-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 15.Thar Min AK, Okayama H, Saito M, Ashizawa M, Aoto K, Nakajima T, Saito K, Hayase S, Sakamoto W, Tada T, Hanayama H, Saze Z, Momma T, Ohki S, Sato Y, Motoyama S, Mimura K, Kono K.	4. 巻 7
2. 論文標題 Epithelial-mesenchymal transition-converted tumor cells can induce T-cell apoptosis through upregulation of programmed death ligand 1 expression in esophageal squamous cell carcinoma	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Medicine	6. 最初と最後の頁 3321-3330
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 該当する

1. 著者名 Mimura Kousaku, TEH Jun, Okayama Hirokazu, Shiraishi Kensuke, Kua Ley-Fang, Koh Vivien, Smoot Duane T, Ashktorab Hassan, Oike Takahiro, Suzuki Yoshiyuki, Fazreen Zul, Asuncion Bernadette, Shabbir Asim, Yong Wei Peng, So Jimmy, Soong Richie and Kono, Koji.	4. 巻 109
2. 論文標題 PD-L1 expression is mainly regulated by IFN- associated with JAK-STAT pathway in gastric cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 43-53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/cas.13424	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 該当する

1. 著者名 Nakayama Yuko, Mimura Kosaku, Tamaki Tomoaki, Shiraishi Kensuke, Kua Ley?Fang, Koh Vivien, Ohmori Masato, Kimura Ayako, Inoue Shingo, Okayama Hirokazu, Suzuki Yoshiyuki, Nakazawa Tadao, Ichikawa Daisuke, Kono Koji	4. 巻 54
2. 論文標題 Phospho?STAT1 expression as a potential biomarker for anti?PD?1/anti?PD?L1 immunotherapy for breast cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 2030-2038
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2019.4779	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Ashizawa M, Okayama H, Ishigame T, Thar Min AK, Saito K, Ujiie D, Murakami Y, Kikuchi T, Nakayama Y, Noda M, Tada T, Endo H, Fujita S, Sakamoto W, Saito M, Saze Z, Momma T, Ohki S, Mimura K, Kono K.	4. 巻 17
2. 論文標題 miRNA-148a-3p Regulates Immunosuppression in DNA Mismatch Repair-Deficient Colorectal Cancer by Targeting PD-L1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Cancer Res	6. 最初と最後の頁 1403-1413
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1541-7786.MCR-18-0831.	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 三村耕作、河野浩二
2. 発表標題 消化器癌におけるPD-L1発現調節機構の解明
3. 学会等名 日本外科学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Koji KONO
2. 発表標題 Regulatory mechanisms of PD-L1 on GI cancer
3. 学会等名 2017 annual meeting of Singapore Gastric Cancer Consocium (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016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	中島 隆宏  (Nakajima Takahiro)  (90567447)	福島県立医科大学・医学部・博士研究員    (21601)	