

令和 2 年 7 月 1 日現在

機関番号：14202

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10780

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害薬のバイオマーカー探索

研究課題名（英文）Search for the biomarker of the immune checkpoint inhibitor

研究代表者

五十嵐 知之（Igarashi, Tomoyuki）

滋賀医科大学・医学部・非常勤講師

研究者番号：00510314

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）：非小細胞肺癌におけるPD-L1分子の発現制御はIFN γ により可逆性に制御を受けることを示した。さらに、早期非小細胞肺癌でのPD-L1分子高発現と無再発生存期間の延長、進行期では逆に短縮する関連性を示した。肺癌組織におけるPD-L1分子発現と術前採血による血漿中の可溶性PD-L1分子の関連において、血漿中可溶性PD-L1分子は肺癌細胞のみならず、腫瘍浸潤マクロファージも影響する可能性を示した。がん関連線維芽細胞のPD-L1高発現群は無再発生存期間が延長することを示し、予後予測のための独立した予後マーカーであることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非小細胞肺癌において、免疫チェックポイント阻害薬を用いて治療を行う際の、治療効果予測のためのバイオマーカーを探索し、非小細胞肺癌におけるPD-L1発現の臨床病理学的な意義について示した。

研究成果の概要（英文）：The expression of PD-L1 molecules in non-small cell lung cancer was reversibly controlled by IFN γ . Furthermore, PD-L1 molecules overexpression in early non-small cell lung cancer means prolong relapse free survival, but in an advanced stage, it means shorten relapse free survival adversely. We showed the possibility that plasma PD-L1 molecules were influenced not only PD-L1 expression on lung cancer cells but also the tumor infiltrated macrophages. PD-L1 overexpression of cancer-associated fibroblasts means prolong relapse free survival and it was the independent convalescence marker for convalescence predictions.

研究分野：肺がん

キーワード：非小細胞がん PD-L1 がん関連線維芽細胞 無再発生存期間

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

非小細胞肺癌に対する一次治療においては、免疫チェックポイント阻害薬である抗 Programmed death receptor-1 (PD-1) 抗体である Pembrolizumab が、がん細胞の Programmed cell death ligand-1 (PD-L1) 陽性率が 50%以上の症例に対して、10.3 ヶ月の無増悪生存期間 (中央値) という治療効果を示し、従来の化学療法 (無増悪生存期間 (中央値) は 6.0 ヶ月) を凌ぐ ($p < 0.001$) 治療効果を示した (Reck M et al. N Engl J Med, 2016)。非小細胞肺癌の診療ガイドラインにおいても、免疫チェックポイント阻害薬の抗 PD-1 抗体と抗 PD-L1 抗体は、今や、標準療法としての地位を確立している。抗 PD-1 抗体を用いて治療を行う際には、免疫組織化学染色により、がん細胞の PD-L1 発現率を求めて、これにより治療適応の判断がなされている。しかし、これまでの我々の研究成果によれば、非小細胞肺癌における PD-L1 発現は空間的、時間的に極めて不均一であるため、単にがん細胞の PD-L1 発現のみで、抗 PD-1 抗体による治療適応の判断 (治療効果の予測) をして良いものか疑問が挙がった。この疑問を解決するために、以下のような研究に取り組んだ。

2. 研究の目的

非小細胞肺癌において、免疫チェックポイント阻害薬を用いて治療を行う際の、治療効果予測のためのバイオマーカーを探索する。そのための足掛かりを得るために、非小細胞肺癌における PD-L1 発現の臨床病理学的な意義について解明する。

3. 研究の方法

(1) 非小細胞肺癌における PD-L1 分子の発現制御について

非小細胞肺癌細胞株にサイトカインであるインターフェロン γ ($IFN\gamma$) を添加して 48 時間、培養した後、細胞を回収して、PD-L1 のタンパクレベルでの発現をフローサイトメトリーで、mRNA レベルでの発現を Real-Time PCR で解析する。また、 $IFN\gamma$ を添加して 48 時間に $IFN\gamma$ を除去し、さらに 48 時間、培養した後、細胞を回収して、同様の実験を行う。

(2) 非小細胞肺癌における PD-L1 分子の発現と臨床病理学的所見との関連性について

非小細胞肺癌 (浸潤性肺腺がんと扁平上皮がん) に対して、肺葉切除術以上の完全切除術が実施された症例を対象に、がん細胞の PD-L1 分子の発現を免疫組織化学染色で評価し、この結果と、術後の無再発生存期間との関連について解析する。

(3) 非小細胞肺癌における血漿中の可溶性 PD-L1 分子の継時的変動について

非小細胞肺癌の手術症例を対象に、末梢血中の可溶性 PD-L1 レベルを ELISA 法で計測し、手術前後における変動、また、がん細胞の PD-L1 発現との関連について解析する。

(4) がん関連線維芽細胞における PD-L1 分子の発現と臨床病理学的所見との関連性について

非小細胞肺癌 (浸潤性肺腺がんと扁平上皮がん) に対して、肺葉切除術以上の完全切除術が実施された症例 (リンパ節転移や遠隔転移を認めない症例) を対象に、がん関連線維芽細胞の PD-L1 分子の発現を免疫組織化学染色で評価し、この結果と、術後の無再発生存期間との関連について解析する。

4. 研究成果

(1) 非小細胞肺癌における PD-L1 分子の発現制御について

調査した細胞株において、 $IFN\gamma$ の刺激により PD-L1 分子の発現は、タンパクレベルおよび mRNA レベルで亢進した。また、この応答は、 $IFN\gamma$ の除去により減弱した。このことから、非小細胞肺癌における PD-L1 分子の発現は、 $IFN\gamma$ により可逆性に制御を受けることが判明した (Igarashi T, Teramoto, K, Daigo Y, et al, Oncol Rep 2017)。

(2) 非小細胞肺癌における PD-L1 分子の発現と臨床病理学的所見との関連性について

早期 (I 期) の非小細胞肺癌において、PD-L1 分子の高発現群は、無再発生存期間が有意に長いことが判明した。一方で、進行例 (II 期 ~ IIIA 期) においては、PD-L1 分子の高発現群は、無再発生存期間が短い傾向にあった。つまり、早期の非小細胞肺癌の症例においては、がん細胞の PD-L1 発現は、抗腫瘍免疫応答の惹起を意味し、進行例においては、免疫チェックポイント機構の稼働を意味している可能性が示唆された (投稿中)。

(3) 非小細胞肺癌における血漿中の可溶性 PD-L1 分子の継時的変動について

がん細胞の PD-L1 発現強度と手術前の血漿中の可溶性 PD-L1 レベルとの関連について調査したが、両者の間に有意な相関は認めなかった。肺がん組織の PD-L1 免疫組織染色を、さらに解析すると、PD-L1 陽性細胞は、単にがん細胞のみならず、腫瘍浸潤マクロファージも含まれることが判明した。このことから、手術前の血漿中の可溶性 PD-L1 レベルや、手術後の可溶性 PD-L1 レベルの変動には、腫瘍浸潤マクロファージも関与している可能性が示唆された。(今後、さらに検討する方針)

(4) がん関連線維芽細胞における PD-L1 分子の発現と臨床病理学的所見との関連性について
リンパ節転移や遠隔転移を認めない非小細胞肺がんの手術症例においては、PD-L1 陽性のがん関連線維芽細胞を認める群において無再発生存期間が有意に長いこと、がん関連線維芽細胞の PD-L1 発現は予後予測のために独立した予後マーカーであることが判明した (Teramoto K, Igarashi T, Kataoka Y, Daigo Y, et al, Lung Cancer 2019)

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 Igarashi Tomoyuki, Teramoto Koji, Ishida Mitsuaki, Hanaoka Jun, Daigo Yataro	4. 巻 38
2. 論文標題 The mechanism of de novo expression of programmed cell death-ligand 1 in squamous cell carcinoma of the lung	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Oncology Reports	6. 最初と最後の頁 2189 ~ 2196
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3892/or.2017.5876	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 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 寺本晃治、五十嵐知之、住本秀敏、醍醐弥太郎
2. 発表標題 非小細胞肺癌における血中可溶性PD-L1の継時的変動について
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 五十嵐知之、寺本晃治他
2. 発表標題 Prognostic value of PD-L1 expression intensity in patients with early stage non-small cell lung cancer
3. 学会等名 第15回日本臨床腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tomoyuki Igarashi, Koji Teramoto et al.
2. 発表標題 Monitoring of soluble PD-L1 levels in sera in non-small-cell cancer
3. 学会等名 第76回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2017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	花岡 淳 (Jun Hanaoka) (00452243)	滋賀医科大学・医学部・講師 (14202)	
研究 分担者	寺本 晃治 (Koji Teramoto) (10452244)	滋賀医科大学・医学部・特任講師 (14202)	