

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：85501

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2022

課題番号：19K09298

研究課題名（和文）悪性胸膜中皮腫に対するNK細胞に関連した免疫調節分子の発現制御療法の開発

研究課題名（英文）Development of immunomodulating therapy targeting immuncheckpoint molecules for NK cells in patients with malignant pleural mesothelioma.

研究代表者

沖田 理貴 (Okita, Riki)

独立行政法人国立病院機構山口宇部医療センター（臨床研究部）・その他部局等・呼吸器外科医長

研究者番号：90467762

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）：1. 肺癌細胞株とヒトNK細胞を用いた *in vitro* 実験系において、インターフェロン刺激に伴う腫瘍細胞のNK細胞からの免疫逃避機構を抗リウマチ薬tofacitinibで克服できることを見出した。2. 胸膜外肺全摘術を施行された悪性胸膜中皮腫患者において、腫瘍組織内のHLAクラスI分子発現が減弱していないにも関わらず腫瘍浸潤CD8陽性T細胞数が少ない症例群は予後不良であることを示し、さらに、複合的免疫パラメーターによるクラスター分類を行い、術後予後予測因子となりうるカテゴリーを見出した。加えて、血液検査で簡便に評価可能な炎症、免疫、栄養指標が術後予後予測因子となることも明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

*in vitro*実験では、腫瘍の細胞内シグナルをシグナル阻害剤でブロックすることで免疫チェックポイント分子の発現を抑制する、既存治療とは異なるストラテジーの免疫チェックポイント阻害療法の可能性を示した。また、胸膜外肺全摘術を施行された悪性胸膜中皮腫患者において、腫瘍微小環境の解析、術前血液検査の解析から、それぞれ術後予後予測因子となる因子を複数見出した。希少疾患である悪性胸膜中皮腫の腫瘍微小環境を明らかにすることは、未解明である悪性胸膜中皮腫における免疫チェックポイント阻害療法の耐性機序の発見とその克服にもつながりうる研究であり、学術的にも社会的にも本研究進展の意義は大きいと考える。

研究成果の概要（英文）：1. We showed tofacitinib overcame interferon-g induced tumor immunoescape in lung cancer cell line LC2/ad *in vitro*. 2. The concomitant lack of infiltrating CD8+ T cells with no loss of HLA class I predicted worse 5-year overall survival (OS) in patients with malignant pleural mesothelioma (MPM) undergoing extrapleural pneumonectomy. Moreover, cluster classifications among multiple immunoparameters showed that some categories predicted 5-year OS. We also assessed the prognostic value of complex inflammatory and nutritional parameters using data from patients with MPM undergoing extrapleural pneumonectomy.

研究分野：呼吸器外科、腫瘍外科、

キーワード：悪性胸膜中皮腫 腫瘍微小環境 予後因子 治療効果予測因子 PD-L1 腫瘍浸潤CD8T細胞 HLA class I 炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

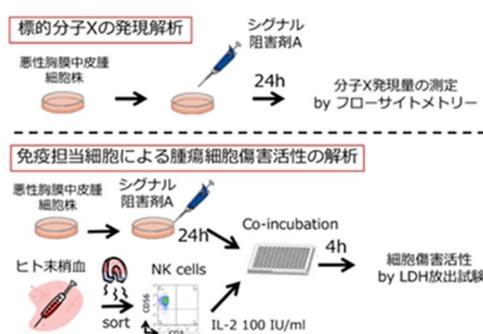
長年、手術を含む集学的治療が試みられるも極めて予後不良な悪性胸膜中皮腫は、アスベスト使用規制が遅れたアジア全域で患者数の爆発的増加が始まっている。本疾患において手術で根治可能な症例は極めて少数であり、治療の中心は薬物療法である。しかし、従来型の殺細胞型抗がん剤の奏効率は10%程度であり、予後延長効果も十分とは言い難かった。

がん治療にブレイクスルーをもたらした免疫チェックポイント阻害剤は、悪性胸膜中皮腫においても臨床試験で20%以上の奏効率が示され、殺細胞型抗がん剤を凌駕する予後改善効果から、2018年に悪性胸膜中皮腫に対する標準治療薬となった。しかし、その効果は患者の期待にはまだまだ程遠く、本疾患の予後を改善するには、免疫チェックポイント阻害剤の耐性克服が急務である。

2. 研究の目的

悪性胸膜中皮腫に対する免疫チェックポイント阻害剤耐性克服を念頭に、本研究を立案した。

(1) 悪性胸膜中皮腫の、NK細胞からの免疫逃避機構の解明ならびにその克服法の開発をめざした。具体的には、抗腫瘍活性を有するNK細胞が腫瘍細胞を攻撃する際に重要なNK活性化受容体NKG2Dのリガンドと抗腫瘍免疫に抑制的に働くprogrammed cell death ligand 1 (PD-L1)の、腫瘍細胞内での発現制御機構を解明することで、これらの免疫調節分子の発現制御を利用した悪性胸膜中皮腫に対する新規免疫療法開発のシーズとなることを目的とした。



(2) 悪性胸膜中皮腫患者から得られた臨床検体を用いて、腫瘍微小環境内のNKG2Dリガンド、PD-L1の発現を解析し、臨床病理学的因子や予後との関連について検討し、新たな予後因子や治療効果予測因子の発見を目指した。

図1 腫瘍細胞株を用いたin vitro実験による、細胞内シグナル阻害剤による免疫逃避解除法探索のための実験概略。

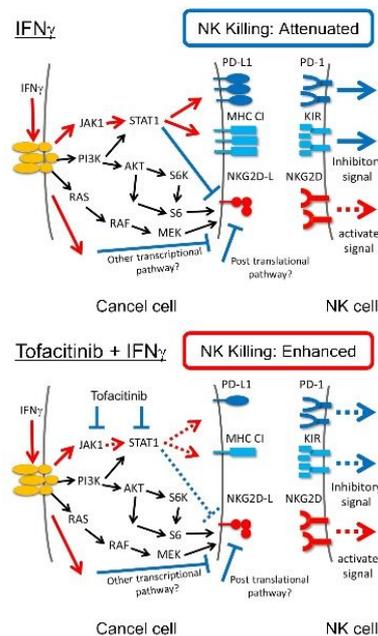
3. 研究の方法

(1) 腫瘍細胞を、免疫逃避しやすいフェノタイプから免疫逃避しにくいフェノタイプへ変換する方法の開発：細胞内シグナルへの介入による腫瘍細胞上のNKG2Dリガンド、PD-L1発現制御法について、腫瘍細胞株を用いたin vitro実験系により検討した(図1)。

(2) 悪性胸膜中皮腫手術例から得られた組織標本について、腫瘍組織内のPD-L1、CD8陽性T細胞、といった、免疫調節分子の発現と腫瘍浸潤リンパ球の有無について、免疫組織化学反応法で解析し、臨床病理学的因子、予後との関連について統計学的に解析した。

4. 研究成果

(1) in vitro実験については、これまで研究代表者が免疫逃避に関する研究で頻用してきた肺癌細胞株LC2/adを用いて、インターフェロン γ 刺激による腫瘍細胞表面のPD-L1発現増強が抗リウマチ薬としてすでに臨床応用されているJAK阻害剤 tofacitinibによりブロックされること、これに伴い、本来インターフェロン γ 刺激を受けた腫瘍細胞はNK細胞から免疫逃避しやすくなるがインターフェロン γ 刺激前に tofacitinib に曝露された腫瘍細胞はNK細胞から免疫逃避しにくくなること明らかにした(図2)(Okita R, et al. Thorac Cancer 2021)。一方で、悪性胸膜中皮腫細胞株を用いた同現象の実証には至っていない。



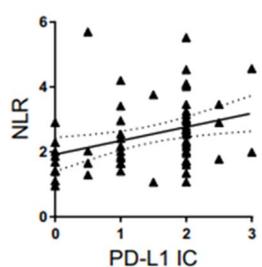
(2) 悪性胸膜中皮腫手術例について、腫瘍微小環境内PD-1、PD-L1、human leukocyte antigen (HLA) class I、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞を免疫組織化学反応法で解析し、HLA class I発現が独立した予後因子となること、

図2 IFN γ によるPD-L1発現誘導を介した免疫逃避と tofacitinibによる免疫逃避克服の仕組み(Okita R, et al. Thorac Cancer 2021)。

ならびに、解析したこれら 4 因子によるクラスター分類から複数の複合的免疫パラメーターについても独立した予後予測因子となることを見出した (Okita R, et al. Cancer Immunol Immunother 2022)。なお、腫瘍浸潤 CD56 陽性 NK 細胞、NKG2D リガンドである MICA/B、ULBP-1, -2, -3, -4, -5, -6 についても免疫組織化学反応法による評価は終わっているが、現在データ解析中であり、現時点で論文化には至っていない。

(3) 悪性胸膜中皮腫手術例について、血液検査から得られる血清 C 反応性タンパク (CRP) 値に着目し、臨床病理学的因子、予後との関連について統計学的に解析し、血清 CRP/アルブミン比率 (CAR) ならびに CRP と末梢血好中球比率を用いた新規複合的炎症指標のいずれも独立した予後予測因子となることを見出した (Okita R, et al. Surg Oncol 2022)。

(4) 研究成果 (2) と (3) について研究内容を発展させるべく、悪性胸膜中皮腫手術例について、血液検査から得られる様々な炎症、免疫、栄養指標と腫瘍微小環境、臨床病理学的因子、予後との関連について統計学的に解析し、末梢血好中球/リンパ球比 (NLR) が独立した予後因子であり、さらには腫瘍浸潤免疫細胞の PD-L1 発現 (PD-L1 IC) と正の相関を示すこと (図 3)、NLR が予後因子であること (図 4) も見出し報告した (Okita R, et al. Sci Rep 2023)。



$$Y=0.422X+1.921$$

$$Rs=0.110$$

$$p=0.009^*$$

図3 末梢血好中球リンパ球比 (NLR)は腫瘍組織内PD-L1陽性免疫細胞数(スコア)と相関する (Okita R, et al. Sci Rep 2023).

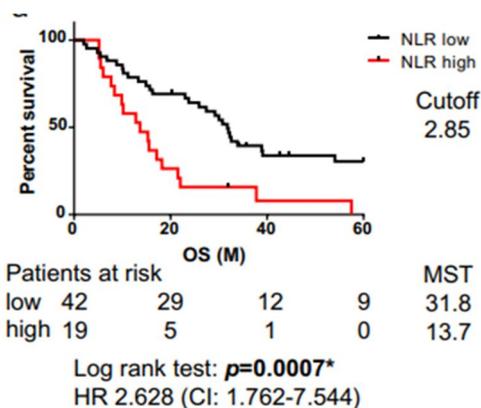


図4 末梢血好中球リンパ球比 (NLR)高値は予後不良である (Okita R, et al. Sci Rep 2023).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Okita Riki, Okada Masanori, Inokawa Hidetoshi, Murakami Tomoyuki, Ikeda Eiji	4. 巻 43
2. 論文標題 Prognostic values of preoperative C-reactive protein, albumin, and neutrophil ratios in patients with malignant pleural mesothelioma who underwent extrapleural pneumonectomy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Surgical Oncology	6. 最初と最後の頁 101813 ~ 101813
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.suronc.2022.101813	査読の有無 有
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 Okita Riki, Mimura-Kimura Yuka, Kawamoto Nobutaka, Yamamoto Naoki, Umeda Masashi, Okada Masanori, Inokawa Hidetoshi, Mimura Yusuke, Murakami Tomoyuki, Nakata Masao, Okabe Kazunori	4. 巻 72
2. 論文標題 Effects of tumor-infiltrating CD8+ T cells, PD1/PD-L1 axis, and expression patterns of HLA class I on the prognosis of patients with malignant pleural mesothelioma who underwent extrapleural pneumonectomy	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Immunology, Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 865 ~ 879
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00262-022-03292-4	査読の有無 有
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 Okita Riki, Kawamoto Nobutaka, Okada Masanori, Inokawa Hidetoshi, Yamamoto Naoki, Murakami Tomoyuki, Ikeda Eiji	4. 巻 13
2. 論文標題 Preoperative neutrophil-to-lymphocyte ratio correlates with PD-L1 expression in immune cells of patients with malignant pleural mesothelioma and predicts prognosis	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-31448-4	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 -
1. 著者名 Okita Riki, Shimizu Katsuhiko, Nojima Yuji, Saisho Shinsuke, Nakata Masao	4. 巻 12
2. 論文標題 Tofacitinib overcomes an IFN induced decrease in NK cell mediated cytotoxicity via the regulation of immune related molecules in LC 2/ad	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Thoracic Cancer	6. 最初と最後の頁 775 ~ 782
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1759-7714.13847	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6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 沖田理貴、川本常喬、岡田真典、井野川英利
2. 発表標題 悪性胸膜中皮腫切除例における腫瘍浸潤NK細胞、MICA/B発現と予後との関連性についての検討
3. 学会等名 第39回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沖田 理貴、梅田 将志、岡田 真典、井野川 英利
2. 発表標題 胸膜外肺全摘術を施行された悪性胸膜中皮腫症例において 術前末梢血好中球/リンパ球比は術後予後予測因子である
3. 学会等名 第97回中国四国外科学会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Riki Okita, Masanori Okada, Hidetoshi Inokawa
2. 発表標題 Combinations of preoperative C-reactive protein with albumin or neutrophil ratio predict prognosis in patients with malignant pleural mesothelioma who underwent extrapleural pneumonectomy
3. 学会等名 第75回日本胸部外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沖田 理貴
2. 発表標題 悪性胸膜中皮腫切除例における 末梢血好中球/リンパ球比、予後栄養指数、 ならびに腫瘍微小環境内PD-L1発現の解析
3. 学会等名 第35回日本バイオセラピー学会学術集会総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 沖田理貴、川本常喬、岡田真典、林雅太郎、井野川英利、岡部和倫
2. 発表標題 胸膜外肺全摘術を施行された悪性胸膜中皮腫におけるPD-L1とHLA class I分子の発現解析
3. 学会等名 第38回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 沖田理貴、川本常喬、岡田真典、井野川英利
2. 発表標題 胸膜外肺全摘術を施行された悪性胸膜中皮腫のHLA class I分子発現と腫瘍浸潤CD8 T細胞の解析
3. 学会等名 第62回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>研究紹介 https://yamaguchiube.hosp.go.jp/files/000154265.pdf</p>
--

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	中田 昌男 (NAKATA MASAO) (30368641)	川崎医科大学・医学部・教授 (35303)	

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