

令和 5 年 5 月 22 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K17570

研究課題名（和文）冠動脈疾患におけるPD-1/PD-L1の役割の解明

研究課題名（英文）The role of PD-1 and PD-L1 in patients with coronary artery disease

研究代表者

藤末 昂一郎 (Fujisue, Koichiro)

熊本大学・大学院生命科学研究部(医)・助教

研究者番号：10779151

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：冠動脈疾患には免疫機構が関与しているが、それを制御する免疫チェックポイントタンパクであるProgrammed death-1 (PD-1)、Programmed death-ligand 1 (PD-L1)の役割は分かっていない。本研究では冠動脈疾患におけるPD-1、PD-L1の関与を調べた。急性冠症候群患者では慢性冠症候群患者よりも血清PD-L1値が高値であった。また冠動脈疾患患者においてsPD-L1が高い集団はそうでない集団と比較して心血管イベントが高率に発生した。以上からPD-1、PD-L1は冠動脈疾患の新たなマーカーおよび予後予測因子となりうることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、PD-1やPD-L1は悪性疾患の病態、治療において注目されている分子であるが、動脈硬化においてもその病態に炎症が深く関わっており、特に急性冠症候群の発症に密接な関連がある。急性冠症候群の病態にPD-1、PD-L1が何らかの役割を担っている可能性があるが未だ解明されていなかった。

本研究結果からPD-1、PD-L1の冠動脈疾患における病態や予後との関連性が明らかとなり、新たなバイオマーカーになりうるるとともに、新たな治療ターゲットとなる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：The immune system is involved in coronary artery disease, but the role of immune checkpoint proteins, Programmed death-1 (PD-1) and Programmed death-ligand 1 (PD-L1), that regulate these mechanisms in coronary artery disease is unknown. In this study, we investigated the involvement of PD-1 and PD-L1 in coronary artery disease.

Patients with acute coronary syndrome had higher levels of serum PD-L1 than those with chronic coronary syndrome. In addition, patients with coronary artery disease who had higher levels of sPD-L1 had a higher incidence of cardiovascular events than those with lower levels of sPD-L1.

These results suggest that PD-1 and PD-L1 can be novel markers and prognostic factors in patients with coronary artery disease.

研究分野：冠動脈疾患

キーワード：急性冠症候群 免疫チェックポイントタンパク 動脈硬化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイントタンパクである Programmed death-1 (PD-1)、 Programmed death-ligand 1 (PD-L1)はT細胞の免疫応答を抑制、もしくは停止させる共同抑制因子として働く。PD-1 受容体はT細胞の表面に発現し、PD-1 受容体のリガンドである PD-L1 は通常マクロファージや抗原提示細胞の表面に発現する。PD-L1 がPD-1 受容体に結合すると、T細胞からのサイトカイン放出が低下し、T細胞の活動を抑制するシグナルが伝達される。癌細胞のなかにはT細胞の認識を逃れるためにこの免疫チェックポイントシグナル伝達を利用するものがある。近年、非小細胞肺癌や悪性黒色腫に対して使用可能となった抗 PD-1 抗体は、免疫チェックポイントシグナル経路をブロックすることで抗腫瘍効果を発揮する。しかし、抗 PD-1 抗体は生体内すべてのPD-1 を発現する免疫細胞のチェックポイント経路をブロックしてしまうため、自己免疫疾患を惹起すると考えられている。

申請者は抗 PD-1 抗体であるニボルマブが原因と考えられる急性心筋梗塞発症例を世界で初めて報告したが (文献 1)、詳細なメカニズムは明らかとなっていない。世界中で悪性疾患の罹患率が増加していることから、抗 PD-1 抗体の必要性が増加しており、冠動脈疾患における PD-1、PD-L1 の役割の解明が急務である。冠動脈疾患をはじめとする動脈硬化性疾患においては、その病態にマクロファージ、リンパ球などの免疫細胞が重要な役割を果たしている。動脈硬化性病変においては、免疫チェックポイントシグナル経路が動脈硬化プラークの安定化に寄与し、抗炎症作用を担っていると推測されるが、抗 PD-1 抗体を投与するとT細胞だけではなく、PD-1 を発現している B 細胞、マクロファージなどの活性化により炎症が惹起される可能性がある。特に、抗腫瘍効果が得られた患者では、Interferon- (IFN-)や Tumor necrotic factor- (TNF-) が産生され、動脈硬化プラークの不安定化をきたす可能性が指摘されている (文献 2)。

血管内皮機能障害は動脈硬化性疾患の成因、進展に深く関与している。PD-L1 は血管内皮細胞にも発現しており、免疫寛容に関与しているが、動脈硬化で障害された血管内皮ではPD-L1 発現が低下し、自己免疫による攻撃を回避できない可能性がある。近年、血中に放出された可溶性 PD-1、PD-L1 においても慢性炎症性疾患、自己免疫性疾患との関連が注目されており、血中の可溶性 PD-1、PD-L1 が動脈硬化性疾患の新たなバイオマーカーとなる可能性がある。しかし、冠動脈疾患の進行や急性冠症候群発症、予後に PD-1、PD-L1 が何らかの役割を担っている可能性があるが未だ解明されていない。

### 2. 研究の目的

本研究は PD-1、PD-L1 と冠動脈疾患と、その重症度との関連性を調べる。また、急性冠症候群との関連性や冠動脈疾患の心血管予後との関連性を臨床的に明らかにする。

### 3. 研究の方法

本研究は単施設、前向き観察研究であり以下の検証を行なった。

(研究 1) 2017 年 12 月から 2019 年 6 月までに熊本大学病院に冠動脈疾患で入院となった連続症例において血清中の可溶性 PD-L1 (sPD-L1) を測定し、安定冠動脈疾患患者と急性冠症候群患者とで、患者背景、sPD-L1 値および CRP や BNP などの臨床検査値の比較検討を行なった。

(研究 2) 2017 年 12 月から 2020 年 1 月までの間に熊本大学病院に入院になった冠動脈疾患の連続症例における sPD-L1 を測定し、心血管予後を追跡した。主要評価項目は全死亡、心血管死、非致死性心筋梗塞、不安定狭心症、冠動脈再血行再建、心不全入院、脳卒中の複合エンドポイントとした。

両試験とも活動性の悪性疾患、透析例、活動性の炎症性疾患、同意が得られなかった症例、主治医が不適格だと判断した症例は除外した。また、sPD-L1 は市販の ELISA キット (Human PD-L1/B7-H1 Duo Set; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) で測定し、CRP、BNP、その他一般的な血液生化学検査については熊本大学の中央検査室で測定を行なった。

### 4. 研究成果

(研究 1) 研究期間において慢性冠疾患患者 322 例と急性冠症候群 124 例が登録された。また、精査の結果冠動脈に有意狭窄を認めなかった 24 例も解析に加えた。血清 sPD-L1 値を比較したところ、冠動脈疾患患者は非冠動脈疾患患者と比較して sPD-L1 値は高値であり、さらに急性冠症候群患者では慢性冠疾患患者と比較して sPD-L1 値は有意に高値であった [急性冠症候群患者, 188.7 (111.0±260.8) pg/mL; vs. 非冠動脈疾患患者, 83.5 (70.8-130.4) pg/mL; 慢性冠疾患患者, 144.2 (94.8±215.5) pg/mL; P=0.009] (図 1)。単変量ロジスティック回帰分析で有意だった因子をもとに多変量ロジスティック回帰分析をおこなったところ、sPD-L1 は CRP など従来より急性冠症候群と関連するとされている臨床因子とは独立して急性冠症候群に関連してい

た (オッズ比: 1.561, 95%信頼区間: 1.215-2.006,  $P < 0.001$ ) (文献 3)。

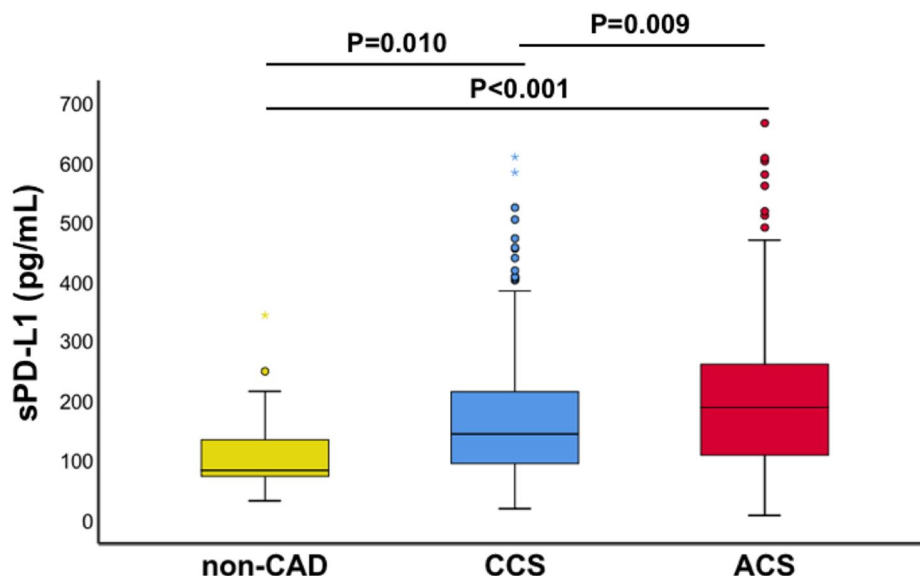


図 1 . 冠動脈疾患患者は非冠動脈疾患患者 (non-CAD) と比較して sPD-L1 値は高値であり、さらに急性冠症候群患者 (ACS) では慢性冠疾患患者 (CCS) と比較して sPD-L1 値は有意に高値であった

(研究 2) 研究期間において連続 792 例をスクリーニングし、除外基準を除いた 627 例が登録され、追跡不能であった 35 例を除いた 592 例の解析を行なった。全体集団を sPD-L1 中央値 136pg/mL で 2 群に分け予後解析を行なった。追跡期間中央値は 522 日であり、観察期間中に 124 例の心血管イベントが確認された (全死亡,  $n=24$ ; 心血管死,  $n=9$ ; 非致死性心筋梗塞,  $n=6$ ; 不安定狭心症,  $n=12$ ; 冠再血行再建,  $n=43$ ; 虚血性脳卒中,  $n=7$ ; 心不全入院,  $n=32$ )。Kaplan-Meier 曲線では sPD-L1 が高値の集団は低値の集団と比較して心血管イベント発生が高率であることが示された (図 2)。Cox 回帰分析において、単変量解析における有意因子により多変量解析を行なったところ、sPD-L1 は独立して有意に心血管イベントに関連していた (HR 1.002, 95% CI 1.000-1.003,  $P=0.039$ )。また、sPD-L1 がフラミングリスクスコアのリスクカテゴリーを向上させるか C 統計で検証したところ、sPD-L1 はフラミングリスクスコアに付加的な心血管予測能をもつことが明らかとなった (C 統計量: 0.603 から 0.640 に上昇,  $P=0.018$ ) (ESC2022, AHA2022 で発表、in revise)。

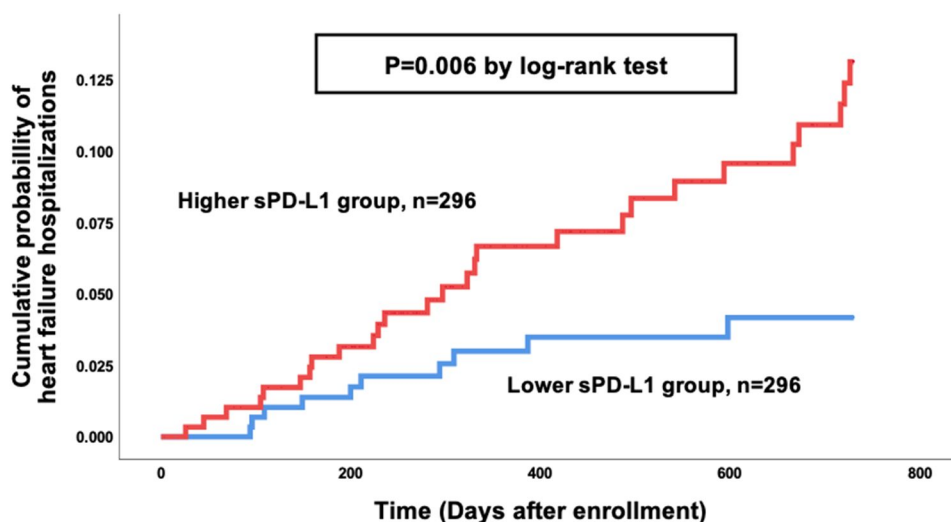


図 2 . sPD-L1 が高値の集団は低値の集団と比較して心血管イベント発生が高率であった

#### まとめ

本研究から、sPD-L1 は非冠動脈疾患と比較して冠動脈疾患で高値となり、急性冠症候群では

慢性冠疾患より高値となることが明らかとなり、冠動脈疾患の進行や急性冠症候群の発症あるいは病態に關与している可能性が示唆された。また、冠動脈疾患全体においては sPD-L1 高値例は心血管イベント発生が高率であり、冠動脈疾患の将来の予後予測因子として有用であることが示された。以上から、sPD-L1 は冠動脈疾患における新たなバイオマーカーや治療ターゲットとなる可能性が期待できる。

本研究では、急性冠症候群急性期と慢性期とで sPD-L1 値がどのように推移しているかは明らかとならなかった。また、PD-1 や炎症性サイトカインなどとの関連性が明らかとならなかったため、これらの検証を続けていく。

#### <参考文献>

1. Tomita Y, Sueta D, Kakiuchi Y, et al. Acute coronary syndrome as a possible immune-related adverse event in a lung cancer patient achieving a complete response to anti-PD-1 immune checkpoint antibody. *Ann Oncol.* 2017;28:2893-2895. doi: 10.1093/annonc/mdx326
2. Foks AC, Kuiper J. Immune checkpoint proteins: exploring their therapeutic potential to regulate atherosclerosis. *Br J Pharmacol.* 2017;174:3940-3955. doi: 10.1111/bph.13802
3. Fujisue K, Yamamoto E, Sueta D, Takae M, Nishihara T, Komorita T, Usuku H, Yamanaga K, Ito M, Hoshiyama T, et al. Increased soluble programmed cell death-ligand 1 is associated with acute coronary syndrome. *Int J Cardiol.* 2022;349:1-6. doi: 10.1016/j.ijcard.2021.11.060

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Fujisue K, Yamamoto E, Sueta D, Takae M, Nishihara T, Komorita T, Usuku H, Yamanaga K, Ito M, Hoshiyama T, Kanazawa H, Takashio S, Arima Y, Araki S, Soejima H, Kaikita K, Matsushita K, Tsujita K.	4. 巻 349
2. 論文標題 Increased soluble programmed cell death-ligand 1 is associated with acute coronary syndrome	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Cardiology	6. 最初と最後の頁 1-6
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ijcard.2021.11.060.	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 Shirakawa T, Fujisue K, Nakamura S, Yamamoto N, Oshima S, Matsumura T, Tsunoda R, Hirai N, Koide S, Tayama S, Kikuta K, Hirose T, Maruyama H, Fujimoto K, Kajiwara I, Sakamoto T, Nakao K, Sakaino N, Nagayoshi Y, Hokamaki J, Shimomura H, Sakamoto K, Yamamoto E, Izumiya Y, Kaikita K, Hokimoto S, Ogawa H, Tsujita K.	4. 巻 29
2. 論文標題 Dose-Dependent Inhibitory Effect of Rosuvastatin in Japanese Patients with Acute Myocardial Infarction on Serum Concentration of Matrix Metalloproteinases-INVITATION Trial	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Atherosclerosis and Thrombosis	6. 最初と最後の頁 229-241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5551/jat.59477	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 5件）

1. 発表者名 Fujisue K, Miyazaki S, Komorita T, Egashira K, Yamamoto E, Sueta D, Oike F, Usuku H, Takashio S, Araki S, Matsushita K, Tsujita K.
2. 発表標題 Increased Soluble Programed Cell Death Ligand-1 is Associated with Acute Coronary Syndrome.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Miyazaki S, Fujisue K, Yamanaga K, Yamamoto E, Egashira K, Komorita T, Sueta D, Usuku H, Araki S, Takashiho S, Matsushita K, Tsujita K.
2. 発表標題 Prognostic Significance of Soluble Programed Cell Death Ligand-1 on Cardiovascular Outcomes in Patients with Atherosclerotic Cardiovascular Disease.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Koichiro Fujisue
2. 発表標題 Soluble programmed cell death ligand-1 is associated with acute coronary syndrome.
3. 学会等名 ESC Asia with APSC & AFC, 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Koichiro Fujisue
2. 発表標題 Soluble Programed Cell Death Ligand-1 Is Associated with Acute Coronary Syndrome.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nozuhara A, Miyazaki S, Fujisue K, Yamanaga K, Yamamoto E, Egashira K, Komorita T, Sueta D, Usuku H, Araki S, Takashio S, Matsushita K, Tsujita K.
2. 発表標題 Soluble programmed cell death ligand-1 is associated with future heart failure hospitalization in patients with atherosclerotic cardiovascular disease.
3. 学会等名 American Heart Association Scientific Sessions 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Nozuhara A, Fujisue K, Yamanaga K, Yamamoto E, Egashira K, Komorita T, Sueta D, Usuku H, Araki S, Takashio S, Matsushita K, Tsujita K
2. 発表標題 Soluble Programed Cell Death Ligand-1 is Associated with Future Heart Failure Hospitalization in Patients with Atherosclerotic Cardiovascular Disease.
3. 学会等名 第87回日本循環器学会総会・学術集会2023
4. 発表年 2023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
---------	---------