

令和 4 年 6 月 14 日現在

機関番号：13501

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18062

研究課題名（和文）乳癌における抗PD-1/抗PD-L1抗体の治療適応

研究課題名（英文）Clinical indication of anti-PD-1/anti-PD-L1 antibody for breast cancer

研究代表者

中山 裕子（Nakayama, Yuko）

山梨大学・大学院総合研究部・助教

研究者番号：90769001

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：我々は抗PD-1/抗PD-L1抗体が有効な乳癌について検証した。対象は浸潤性乳管癌と浸潤性小葉癌とし、腫瘍微小環境について検証したが、浸潤性小葉癌の症例数が少なく、検証を行うには不十分であった。また、使用した抗体が、乳癌で適応となった抗PD-1/抗PD-L1抗体と異なっていることから研究方針の見直しが必要となった。そのため、十分な成果を発表することができなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

浸潤性乳管癌と浸潤性小葉癌を対象に腫瘍微小環境について比較し、PD-L1の発現について違いがあるか検証した。浸潤性小葉癌とPD-L1の発現に強い相関があり、抗PD-1/抗PD-L1抗体が有効である腫瘍微小環境が整っていれば、浸潤性小葉癌の新たな治療戦略として免疫チェックポイント阻害薬が候補となる可能性があった。

研究成果の概要（英文）：We examined the efficacy of anti-PD-1/anti-PD-L1 antibodies in breast cancer. The subjects were invasive ductal carcinoma of the breast and invasive lobular carcinoma, and the tumor microenvironment was verified, but the number of cases of invasive lobular carcinoma was small and insufficient for the verification. In addition, the antibodies used were different from the anti-PD-1/anti-PD-L1 antibodies indicated for breast cancer, necessitating a review of the research strategy. Therefore, we were unable to present sufficient results.

研究分野：乳癌外科

キーワード：乳癌 PD-L1 浸潤性小葉癌 EMT

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

研究開始である 2019 年において、乳癌は免疫チェックポイント阻害薬の対象疾患ではなく、臨床試験の段階であった。また、バイオマーカーが確立されていないことが主な課題であった。

山梨大学医学部外科学講座第 1 教室の過去の研究で、乳癌細胞株において IFN- $\gamma$  存在下に HLA class I と PD-L1 の発現が同時に増強される結果が得られた。本研究申請者は、前研究で、乳癌臨床検体においても同様のことを証明するため、免疫組織染色を用いて検証を開始した。対象は 2010 年～2014 年の当講座の乳癌手術検体 111 症例とし、術前化学療法症例は除外した。また、抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体の治療対象となりうる Stage II、III 症例に限局し、CD8 陽性 T 細胞存在下での癌細胞上の p-STAT1、HLA class I、PD-L1 発現について免疫組織染色を用いて評価し、関連性について検証した。解析の結果、乳癌細胞上の HLA class I、PD-L1 の発現に IFN- $\gamma$  の関与が濃厚である可能性が示唆され、さらに、IFN- $\gamma$  signaling pathway の一つである phospho signal transducer and activator of transcription 1 (p-STAT1) が乳癌における抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体治療適応のバイオマーカーとなりうる可能性が示唆された。解析結果については英文論文で報告したが、その解析の途中で、IFN- $\gamma$  の関与とは別の発現機構によると考えられる PD-L1 陽性乳癌細胞の存在を認め、浸潤性小葉癌にその傾向を認めた。浸潤性小葉癌は EMT のマーカーである E-cadherin が消失していることが特徴として挙げられ、再発形式として腹膜播種外発が多いことが特徴として挙げられることから、EMT の関与が強く疑われた。

過去に複数の癌腫を対象とした研究で、上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition: EMT) と PD-L1 発現に関連性があることが報告されていることから、乳癌においても EMT と PD-L1 発現が関与している可能性が示唆された。

また、EMT 化した癌細胞は血管・リンパ管内に侵入し、他臓器に移動することで転移・再発の原因となる (Thiery JP. Nat Rev Cancer 2002, 2: 442-454)。乳癌細胞の EMT 化と PD-L1 発現に関連性があることが明らかになれば、転移・再発予防目的である術後補助療法として、抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体が有効であると考えられたことから、乳癌における EMT と PD-L1 発現の関連性について解析を行い、EMT 化した乳癌細胞に対し抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体が治療適応となるか検証したいと考え、本研究を立案した。

### 2. 研究の目的

乳癌における EMT 化と PD-L1 発現の関連性について検証し、EMT 化した乳癌細胞が抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体の治療適応となるか明らかにする。

上記解析によって EMT 化した乳癌細胞に抗 PD-1/抗 PD-L1 抗体が有効であることが明らかになれば、小葉癌における化学療法とは別の新たな治療戦略の開発の礎となりうると思われる。

### 3. 研究の方法

臨床検体での検証

前研究で用いた乳癌手術検体 111 症例を対象とした。

前研究において PD-L1 は染色済であり、同検体で E-Cadherin、vimentin といった EMT マーカーの免疫組織染色を行った。

顕微鏡 200 倍視野下に、同一視野内の E-cadherin、vimentin、HLA class I、PD-L1 の発現を観察した。E-cadherin、vimentin、PD-L1 は癌細胞膜の染色強度を H-score を用いて半定量化した。HLA class I は癌細胞膜の発現の有無で評価した。EMT マーカーと PD-L1 の発現について解析した。

H-score は下記計算式で算出した。

$$H\ score = 1 \times (\text{percentage of cells showing weak staining}) + 2 \times (\text{percentage of cells showing moderate staining}) + 3 \times (\text{percentage of cells showing strong staining})$$

### 4. 研究成果

当初、研究対象を前研究で用いた乳癌手術検体 111 症例としたが、浸潤性小葉癌症例数が 10 例程度であった、また、前研究で染色した PD-L1 抗体は 28-8 であり、腫瘍細胞上に発現している発現強度について評価していた。

ところが、研究開始後、実臨床において転移再発乳癌に対し、2019 年 9 月 抗 PD-L1 抗体であるアテゾリズマブが適応となったが、使用抗体は SP142、また、適応条件として、腫瘍微小環境中の免疫細胞における PD-L1 発現を評価していた。さらに 2021 年 8 月に抗 PD-1 抗体であるペムブロリズマブが適応となり、使用抗体は 22C3、適応条件として、腫瘍細胞と腫瘍微小環境中の免疫細胞双方を対象とした CPS (Combined Positive Score) を評価対象とした。

そのため、実臨床に沿った研究を継続するためには、使用抗体および評価項目を見直す必要性が生じた。

また、研究対象として、前研究では特殊型を含む様々な組織型を含んでいたが、本研究では研究対象を浸潤性乳管癌と浸潤性小葉癌に絞り検証する方針としたが、浸潤性乳管癌と比較し浸潤性小葉癌の症例数が少なく、対象年数を 2017 年まで広げたが、浸潤性乳管癌症例と対比する

に必要な十分な症例数を確保することができなかった。

よって、研究対象および研究方法から見直す必要が生じたことから、予定されていた研究機関内に十分な成果を挙げることが困難となった。

今後は、他施設と協力し、研究対象となる症例の蓄積を検討する。また、使用する PD-L1 抗体を SP142 および 22C3 に変更し、評価項目を CPS として改めて検証を行う予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------