

令和 5 年 5 月 29 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16724

研究課題名(和文)患者検体を用いて血中エクソソームPD-L1の放射線治療抵抗性への関わりを検討する

研究課題名(英文) Impact of plasma-derived exosomal PD-L1 on radioresistance

研究代表者

玉利 慶介 (Tamari, Keisuke)

大阪大学・大学院医学系研究科・助教

研究者番号：30718995

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)：PDL1は主に癌細胞表面に発現するタンパクで、細胞傷害性 T 細胞表面の PD-1 に結合すると、T 細胞を抑制し腫瘍免疫を不活化する。PDL1は細胞外にも存在し、例えば細胞外小胞であるexosome上に存在すること(exosomal PDL1)が知られており、癌患者の腫瘍免疫や予後予測のバイオマーカーになる可能性が近年示唆されている。今回、研究期間内に頭頸部癌患者の放射線治療前の血漿中のexosomal PDL1を測定し、その濃度が高いことが独立した予後因子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

リキッドバイオプシーによるがんの治療の予後予測は重要な研究課題の一つである。また放射線治療の分野でリキッドバイオプシーの研究はあまり進んでいない状況である。今回の研究で、血液中のexosomal PDL1を測定することで、頭頸部癌患者の放射線治療後の予後予測がリキッドバイオプシーでできる可能性が示唆された。将来的な臨床実装に向けては、頭頸部以外の癌でも予後に関わるのかどうかなど、さらなる検討が必要である。

研究成果の概要(英文)：PDL1 is a protein mainly expressed on the surface of cancer cells and binds to PD-1 on the surface of cytotoxic T cells, thereby suppressing T cells and inactivating tumor immunity. It has recently been suggested that PDL1 may be a biomarker for tumor immunity in cancer patients. In the present study, we measured exosomal PDL1 in plasma of head and neck cancer patients before radiotherapy within this study period and showed that its high concentration is an independent prognostic factor.

研究分野：放射線腫瘍学

キーワード：細胞外小胞 放射線治療 リキッドバイオプシー PD-L1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

放射線治療はがん治療の局所治療として確立した治療法である。現在は定位放射線治療・強度変調放射線治療、粒子線治療、MRI ガイド放射線治療など、照射技術の進展があり腫瘍の線量を十分に確保しつつ、正常組織の線量を下げることが可能となってきた。技術の進展の一方で、患者の癌の放射線感受性に関する研究は進展があまりなく、画一的な線量による治療が行われている。根治線量は頭頸部癌で 70Gy、食道癌や非小細胞肺癌で 60Gy など、疾患毎に一定のコンセンサスがあるが、同じ線量を投与してもがんの放射線感受性は患者によって多様である。もし、放射線感受性の高いがん患者を同定できれば、投与線量を減らして副作用を減らすことができる可能性、一方で放射線抵抗性の患者へは線量を上げて根治性を高めることができる可能性がある。このように、画一的な放射線治療から個別化放射線治療へシフトすることができる。そのためには患者検体を用いた放射線感受性に関する研究が必要であるが、現状としてそのような研究は少ない。

放射線治療効果を予測するためのバイオマーカーとして有名なものは中咽頭癌における p16 で、p16 陽性中咽頭癌では非常に予後が良い(放射線感受性が高い)ことが知られている (N Engl J Med. 2010 Jul 1;363(1):24-35)。これを受け、p16 陽性中咽頭癌では線量を下げ臨床試験がなされるようになった。しかしながら、中咽頭癌における p16 以外には放射線感受性に関する臨床レベルで有用なバイオマーカーがほとんどなく探索が必要である。リキッドバイオプシーは血液、唾液、尿といった体液から低侵襲にがんのバイオマーカーを調べる方法だが、リキッドバイオプシーでの放射線治療のためのバイオマーカーの研究も必要と考えられる。

エクソソームは細胞外小胞として知られ、がん細胞がエクソソームにタンパク質や microRNA、mRNA などの機能分子を積み込み、近傍の細胞、さらには遠隔地にいる細胞へと、エクソソームを介してメッセージを送っていることが明らかとなっている。また、PD-L1 は細胞表面に発現するタンパクで、リンパ球の PD-1 と相互作用することで癌細胞の免疫逃避に重要な役割を果たし、がんの免疫チェックポイント阻害剤の誕生につながった。今回、我々が注目したのは、癌細胞の表面の PD-L1 ではなく、癌細胞から産生されたエクソソームに含まれる PD-L1 が腫瘍内の CD8 陽性 T 細胞を減少させ、腫瘍免疫を抑え込むことで腫瘍増大に重要な働きをしていることを示した最近の報告である (Nature. 2018 Aug;560:382-386, Cell. 2019 Apr 4;177:414-427.)。このエクソソームの PD-L1 が放射線抵抗性に関わるかどうかについては報告がない。そこで、我々は「個別化放射線治療」が可能かどうかの検証をするために、放射線治療適応患者の血液検体を用いた血中エクソソームの PD-L1 の研究により、がんの放射線感受性の予測ができる可能性を考え、本研究を立案した。

2. 研究の目的

本研究の目的は、腫瘍移植マウスを用いたエクソソーム投与実験で放射線照射後の腫瘍内リンパ球の挙動を調べ、エクソソーム PD-L1 が放射線治療後の腫瘍免疫にどう関わるかを明らかにすることと、がん患者の血液検体からエクソソームを精製し、エクソソームの PD-L1 の定量を行い、その結果と臨床的放射線治療効果を関連づけて、患者の再発予測が可能かどうかを検証することを目的とした。

3. 研究の方法

・基礎実験

癌細胞株やマウスを用いた基礎実験としてさまざまな癌種の腫瘍移植マウスを用いた exosomal PDL1 投与実験で放射線照射後の腫瘍成長の差について調べ、exosomal PDL1 が放射線治療抵抗性にどう関わるかを明らかにする。

・患者血液の exosomal PDL1 測定

根治的放射線治療を行った頭頸部癌患者、食道癌患者、非小細胞肺癌患者、子宮頸癌患者、前立腺癌患者など、様々な癌腫の血液検体から exosome を超遠心法で精製し、ELISA 法による exosomal PDL1 の定量を行い、その結果と放射線治療後の成績を関連づける。

4. 研究成果

・基礎実験

我々は C57BL6 マウスへ悪性黒色腫細胞 B16BL6 の細胞を移植して生じた腫瘍への放射線照射を行った。細胞にインターフェロン を作用させ、PD-L1 を強発現させた exosome を細胞上清から精製し、それをマウスへ尾静脈投与した場合、対照群 (特に PBS 投与群) と比べて、マウスの悪性黒色腫の放射線照射後の腫瘍体積が有意に大きくなった結果を得た (図 1)。

・患者血液の exosomal PDL1 測定

癌患者では血液中の exosomal PDL1 量が健常者に比べ多いことが明らかとなった (図 2)。比較的症例数が多く、フォローアップ期間の長い頭頸部癌の根治的放射線治療後の患者の予後と、血中 exosomal PDL1 濃度の相関をみたところ、血中 exosomal PDL1 高値群において有意に局所制御率が低下することが明らかとなった (図 3)。

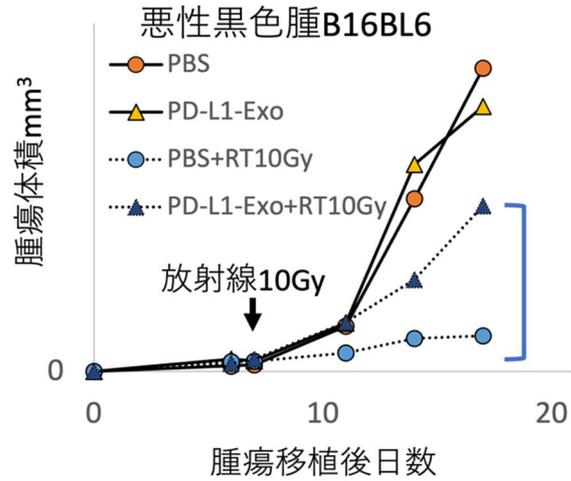


図 1. 担癌マウスへの exosome 投与実験

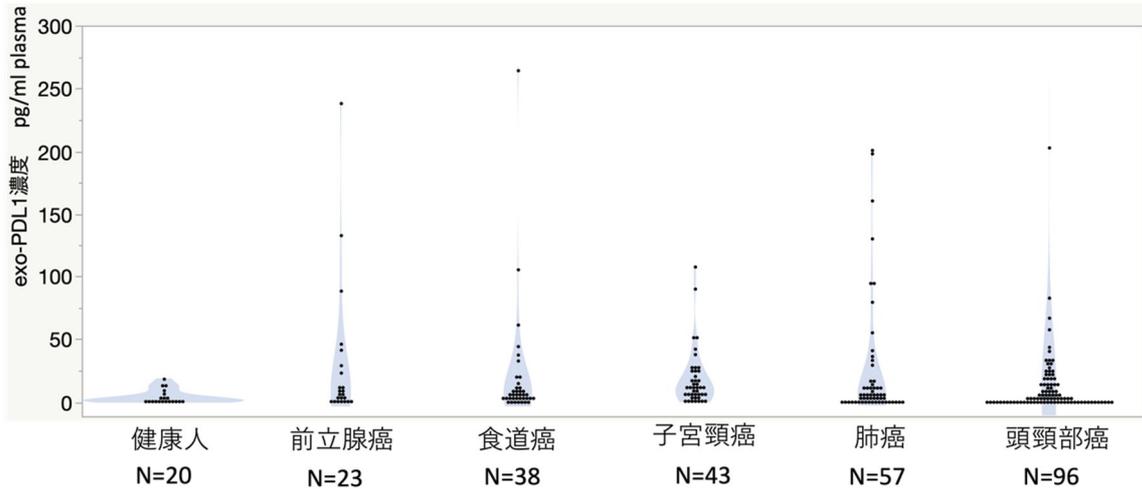


図 2. 癌患者の血液中の exosomal PDL1 濃度

これらの結果から示唆されることは、癌患者で増加している血液中の exosomal PDL1 がバイオマーカーとなりえる可能性、放射線治療後に再発するがん患者では exosomal PD-L1 量が多い可能性があるということであり、頭頸部癌だけでなく他の癌種にも同様のことが言えるかを検証したいが、予後解析にはある程度の症例集積が必要であり、症例の集積を待っている状況である。引き続きの検討をしたいと考えている。

Exosomal PD-L1 は 2018 年に報告された概念で我々の知る限り放射線治療との関連に関しては報告がなく、本研究が血中の Exosomal PD-L1 が患者の放射線抵抗性を示すバイオマーカーであることを、患者検体と基礎実験の面から明らかにできる可能性がある。また、exosome の ELISA での解析は、比較的安価で行えるため、患者にとっても利用しやすい検査として普及できる可能性がある。

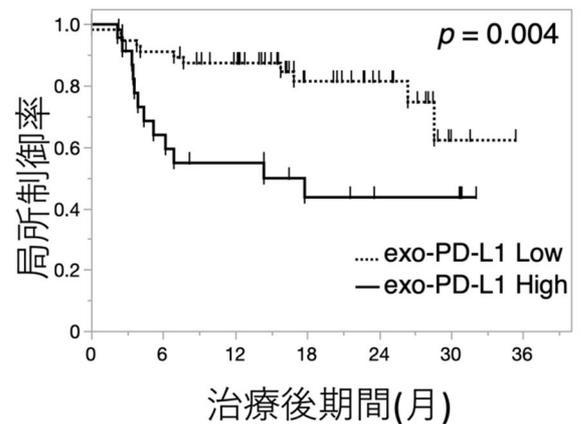


図 3. 頭頸部癌患者の放射線治療後の局所制御率と血液中の exosomal PDL1 の相関

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 玉利 慶介、一色 蓮、皆巳 和賢、立川 章太郎、林 和彦、平田 岳郎、瀬尾 雄二、磯橋 文明、小泉 雅彦、清水 伸一、小川 和彦
2. 発表標題 血中PDL1測定による頭頸部癌患者の根治的放射線治療後の予後予測の可能性
3. 学会等名 日本放射線腫瘍学会 第59回生物部会学術大会
4. 発表年 2022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
---------	---------