

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17737

研究課題名（和文）LILRB4免疫チェックポイント機構の解明と肺癌における臨床的意義の検討

研究課題名（英文）Elucidation of the LILRB4 immune checkpoint mechanism and examination of clinical significance in lung cancer

研究代表者

田中 遼太（TANAKA, Ryota）

東北大学・加齢医学研究所・分野研究員

研究者番号：40647450

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）：免疫抑制性受容体 Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor B4 (LILRB4, B4) 免疫チェックポイント機構について、肺癌における関与を検討した。非小細胞肺癌検体を用いた検討では、腺がん病理病期 期の症例における無再発生存率はB4高発現群で有意に低かった。B4高発現腺がん症例においては、病理学的予後不良因子の一つである血管侵襲陽性症例が有意に多かった。肺癌転移モデルマウスでは、B4（マウスではその相同受容体であるgp49B）ノックアウトによって転移が抑制された。その機序としてB4ノックアウトにより肺癌細胞の増殖や遊走が抑制されることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害薬療法は、腫瘍の免疫逃避を防ぐことにより、様々な種類のがん患者の予後を改善した。しかし、これら治療の効果は限定的であり、50%以上には効果がないとされている。本研究結果から、B4免疫抑制機構は一部の肺癌の進展に関与していること、その機序としてがん微小環境においてMDSCsから分泌される液性因子を介した免疫抑制が関与している可能性があることが示唆された。B4を標的とした免疫抑制機構の阻害治療は、肺癌患者にとって新たな治療法となる可能性がある。

研究成果の概要（英文）：Immunosuppressive receptor Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor B4 (LILRB4, B4) immune checkpoint mechanism was considered for involvement in lung cancer. In the study using non-small cell lung cancer samples, the recurrence free survival rate in stage I cases of adenocarcinoma was significantly lower in the B4 high-expression group. In cases of B4 high-expression adenocarcinoma, there were significantly more positive cases of vascular invasion, which is one of the pathological prognostic factors. In lung cancer metastasis model mice, metastasis was suppressed by a B4 (gp49B, its homologous receptor in mice) knockout. As a mechanism, it was shown that the growth and migration of lung cancer cells are suppressed by B4 knockout.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：免疫チェックポイント

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肺癌薬物治療として、殺細胞性抗癌剤、分子標的薬に加えて免疫チェックポイント (CP) 阻害薬が新たな治療の柱の一つとして導入された。肺癌治療としては、抗 PD-1 抗体、抗 PDL-1 抗体、抗 CTLA-4 抗体が使用されている。しかし、実際に免疫 CP 阻害薬による治療が開始されると、その治療効果は限定的であることがわかってきた。その原因の一つとして、免疫 CP 阻害薬の作用メカニズム上、PD-L1 陰性のがんに対しては抗 PD-1 抗体や抗 PDL-1 抗体では効果的な抗癌作用を期待することができない点が挙げられる。抗 PD-1 抗体と抗 CTLA-4 抗体の併用療法も実施されているが、それら治療が無効な癌も多く、上記免疫 CP と異なる機序による抗腫瘍免疫機構の存在が考えられている。

「これまでの薬剤が対象としてきた免疫 CP とは異なる機序による免疫 CP 機構を研究することで、既存の免疫 CP 阻害薬では効果の得られない癌に対する治療成績の向上につなげられるのではないかと考え、本研究を開始した。

本研究では、免疫抑制性受容体 Leukocyte Immunoglobulin-like Receptor B4 (LILRB4, 以下 B4 と称する) およびそのリガンド (B4L1) で構成される『B4 免疫チェックポイント (以下 B4 免疫 CP と称する)』機構について、肺癌における腫瘍免疫制御への関与を明らかにすることを目的とした。

B4 免疫 CP 機構は、既存の免疫 CP 阻害剤がターゲットとする腫瘍免疫制御機構とは全く異なるものであり、T 細胞-癌細胞間だけでなく、腫瘍免疫制御に深く関わるとされる骨髄由来抑制性細胞 (Myeloid-derived suppressor cell, MDSC) - 癌細胞間の免疫 CP 機構において主要な働きを有すると考えられている

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、肺癌の進展における B4 免疫抑制機構の役割を基礎的研究および臨床病理学的研究により明らかとすることである。

### 3. 研究の方法

・ヒト肺癌切除検体において、腫瘍間質における LILRB4 陽性細胞ならびに MDSCs マーカー (CD33, CD14) 陽性細胞の浸潤レベルを検討し、それらと臨床病理学的諸因子ならびに予後との関連を調べた。

・マウス肺癌細胞と肺癌転移モデルマウスを用いて、肺癌進展における LILRB4 (マウスでは相同受容体である gp49B) 免疫抑制機構の役割を、特に MDSCs との関連の上から検討した。

### 4. 研究成果

・肺癌検体を用いた研究

肺癌手術検体 191 症例を対象として検討を行った。これらの症例のうち、142 例 (74.3%) が腺がん、49 例 (25.7%) が扁平上皮がんであった。

扁平上皮がんにおける B4 陽性細胞浸潤レベルは、腺がんと比較して有意に高いことが明らかになった。

次に、腺がん、扁平上皮がん各組織型について、B4 高発現群と低発現群とで臨床病理学的因子との関連性を検討した。

腺がんでは 18.3% (26/142) で B4 高発現が認められ、B4 高発現群では血管浸潤を呈する症例の頻度が有意に高かった。また、有意差は見られないものの B4 高発現群でがん細胞の分化度が低い傾向を認めた。

扁平上皮がんでは 40.8% (24/49) と高い割合で B4 高発現が認められたが、B4 発現レベルと関連している臨床病理学的因子は見出せなかった。

各組織型、病期毎の解析を行った結果、腺がん病理病期 I 期において、B4 高発現群では B4 低発現群と比較して無再発生存期間が有意に短かった (5 年無再発生存率: B4 高発現群 72.7%、B4 低発現群 91.9%、 $p=0.038$ )。その一方で生存期間には有意差は見られなかった。また、扁平上皮がんにおいては、無再発生存期間および生存期間いずれも有意差を認めなかった。

MDCs 存在下での B4 発現レベルが予後に与える影響を解析するために、CD33<sup>+</sup> B4<sup>high</sup> 群と CD33<sup>+</sup> B4<sup>low</sup> 群での無再発生存率および生存期間を比較したところ、腺がん CD33<sup>+</sup> B4<sup>high</sup> 群における無再発生存率のみ有意差を持って短かった 5 年無再発生存率: CD33<sup>+</sup> B4<sup>high</sup> 群 63.5%、CD33<sup>+</sup> B4<sup>low</sup> 群 84.2%、 $p=0.040$ )。

・マウス肺がん細胞および肺がん転移モデルマウスを用いた研究

肺がん細胞を経尾静脈移植する肺がん転移モデルマウスを野生型マウスおよび gp49B ノックアウトマウスで作成したところ、gp49B ノックアウトマウスにおいて転移巣の形成が抑制される結果となり、全身的な gp49B 欠損ががん転移の抑制に関与していることが示唆された。

gp49B ノックアウトマウスから得られた MDSCs とマウス肺がん細胞を共培養したところ、肺がん細胞の増殖や遊走が抑制されることが示され、gp49B 欠損によるがん転移抑制の機序として考えられた。

gp49B ノックアウト MDSCs においては、腫瘍進展促進的にはたらくサイトカインである IL-10、IL-1、TGF- $\beta$  の分泌あるいは mRNA 発現は低く、逆に抗腫瘍性サイトカインである TNF- $\alpha$  は高かった。さらに血管新生に関与する VEGF- $\beta$ 、MMP-9 の発現は低いことが明らかになった。

これらの結果から、B4/gp49B 免疫抑制機構は肺がんの進展に関与し、その機序としてはがん微小環境において MDSCs から分泌される液性因子を介した免疫抑制が関与している可能性が示唆された。

・転移モデルマウスにおける抗 gp49 抗体と抗 PD-1 抗体の治療効果の検討

臨床応用に向けて、抗体による gp49B 阻害の治療効果を検討した。

抗 gp49 抗体または抗 PD-1 抗体単独投与群ではコントロール群と比較して有意な転移巣形成抑制は認められなかったが、抗 gp49 抗体と抗 PD-1 抗体両方を投与した併用療法群では、コントロール群に比べて転移巣が減少することを示した。この結果から、マウス肺がん細胞の転移の促進に B4/gp49B 免疫抑制機構が重要な役割を担い、PD-1 免疫チェックポイントとは異なる経路でがん転移阻害効果を示したと考えられた。

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