

氏名	安岡 秀高
(ふりがな)	(やすおか ひでたか)
学位の種類	博士(医学)
学位授与番号	甲 第1179号
学位審査年月日	令和3年1月27日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題名	Increased both PD-L1 and PD-L2 expressions on monocytes of patients with hepatocellular carcinoma was associated with a poor prognosis (肝細胞癌患者の単球における PD-L1 と PD-L2 発現の増加は予後不良と関連する)
論文審査委員	(主) 教授 内山 和久 教授 田中 慶太郎 教授 中村 志郎

学位論文内容の要旨

《序 論》

近年、本邦において、肝細胞癌(hepatocellular carcinoma: HCC)に対して Programmed cell death 1 (PD-1) 経路を介する免疫チェックポイント阻害薬を用いた治療が可能となった。PD-1 経路は、腫瘍細胞に発現する PD-1 リガンド (PD-L1、PD-L2) が細胞傷害性 T 細胞 (CD8⁺細胞) の PD-1 に結合することで活性化され、宿主の抗腫瘍免疫を抑制する。免疫チェックポイント阻害薬は、この PD-1 と PD-1 リガンドの結合を阻害することで、宿主の抗腫瘍免疫を回復させる。しかし、免疫チェックポイント阻害薬は、腫瘍細胞に PD-1 リガンドが発現していない癌患者の抗腫瘍免疫を回復させることがある。その理由の 1 つに、非腫瘍細胞の PD-1 リガンドが宿主の抗腫瘍免疫を制御していることがあげられる。近年、様々な癌患者において、単球 (CD14⁺細胞) に PD-1 リガンドが発現し、その発現

と患者予後に関連があるという報告がされた。今回我々は、HCC 患者における末梢血由来 CD14⁺細胞の PD-1 リガンド発現と予後、及びその CD14⁺細胞の性質の関連について検討した。

《対象と方法》

2017 年 10 月から 2019 年 6 月に大阪医科大学附属病院へ入院した HCC 患者 87 名を対象とした。患者末梢血から CD14⁺細胞と CD8⁺細胞を分離した。CD14⁺細胞を抗 PD-L1 抗体、抗 PD-L2 抗体で染色し、その発現を Flow cytometry で測定した。その発現の程度と患者の全生存期間 (OS) の関連を調べた。CD14⁺細胞培養上清中のサイトカインを ELISA で測定した。CD14⁺細胞の CD8⁺細胞が持つ肝癌細胞への腫瘍傷害性に対する影響について LDH 法を用いて調べた。

《結 果》

HCC 患者由来 CD14⁺細胞は PD-L1 を 4.5-95.5%、PD-L2 を 0.2-95.0%の範囲で発現していた。PD-L1 発現の平均値 (50.8%) と PD-L2 発現の平均値 (45.8%) をカットオフ値として、患者を PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞保有者群とそれ以外の発現型式の CD14⁺細胞を持つ患者群 (Other CD14⁺細胞保有者群) に分けた。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞保有者群は進行癌患者が有意に多く、予後が有意に不良であった。早期癌と進行癌で患者を分け、その進行癌患者では、PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞保有者群の予後が有意に不良 ($p = 0.0393$) であった。又、早期癌患者でも PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞保有者群の予後は不良である傾向が認められた。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞は IL-10 と CCL1 を産生し、肝癌細胞に対する腫瘍傷害性を認めなかった。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞保有者群の CD8⁺細胞は、健常人と同等の腫瘍傷害性を持っていたが、同患者由来 CD14⁺細胞と共培養するとその腫瘍傷害性は著明に抑制された。しかし、同じ実験系において同患者からの CD8⁺細胞を抗 PD-1 抗体により処理すると、同患者由来 CD14⁺細胞と共培養してもその腫瘍傷害性は抑制されなかった。一方、Other CD14⁺細胞保有者群の CD8⁺細胞は、健常人と同等の腫瘍傷害性を

持っており、抗 PD-1 抗体による処理の有無にかかわらず、同患者由来 CD14⁺細胞と共培養してもその腫瘍傷害性は抑制されなかった。

《考 察》

本研究において、PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞保有者群は、Other CD14⁺細胞保有者群と比較して有意に予後不良であった。この結果は、PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞を保有することが HCC 患者の予後不良因子である可能性を示唆している。

M2b マクロファージ (M ϕ) は他の免疫担当細胞の腫瘍傷害性を抑制することが知られている。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞は、IL-10 と CCL1 を産生し、腫瘍傷害性を持たない M2bM ϕ と同じ性質を示していた。

PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞は同患者由来 CD8⁺細胞の腫瘍傷害性を抑制し、抗 PD-1 抗体はその CD8⁺細胞の腫瘍傷害性を回復した。この結果は、CD14⁺細胞の PD-1 リガンドと CD8⁺細胞の PD-1 が結合することで CD8⁺細胞の腫瘍傷害性が抑制され、抗 PD-1 抗体がこの結合を阻害することで CD8⁺細胞の腫瘍傷害性が回復した可能性を示唆している。これは抗 PD-1 抗体が PD-1 リガンド陰性腫瘍を持つ癌患者の抗腫瘍免疫を回復させる機序に関連している可能性がある。

《結 論》

HCC 患者には PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞を持つ患者が存在し、その予後は不良であった。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞は PD-1 経路を介して同患者由来 CD8⁺細胞の腫瘍傷害性を抑制した。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞を保有することは、HCC 患者における予後不良因子となる可能性がある。

(様式 甲 6)

論文審査結果の要旨

近年、Programmed cell death 1 (PD-1) 経路を介した免疫チェックポイント阻害薬を用いた肝細胞癌 (HCC) に対する治療が可能となった。PD-1 経路は、CD8⁺細胞の PD-1 に腫瘍細胞の PD-1 リガンド (PD-L1、PD-L2) が結合することで活性化され、宿主の抗腫瘍免疫を抑制する。抗 PD-1 抗体は、この PD-1 と PD-1 リガンドの結合を阻害することで宿主の抗腫瘍免疫を回復させる。しかし、抗 PD-1 抗体は PD-1 リガンド陰性腫瘍を持つ癌患者の抗腫瘍免疫を回復させることがある。その理由の 1 つに、非腫瘍細胞の PD-1 リガンドが宿主の抗腫瘍免疫を制御していることがあげられる。PD-1 リガンドは、様々な種類の癌において、単球 (CD14⁺細胞) に発現することが報告されている。そこで、申請者は HCC 患者由来単球の PD-1 リガンド発現、及びその単球の性質の関連について検討した。

HCC 患者末梢血由来 CD14⁺細胞の PD-1 リガンド発現を調べ、患者を PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞を持つ群とそれ以外の CD14⁺細胞を持つ群に分けたところ、PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞を持つ群には進行癌患者が多く、予後が有意に不良であった。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞は IL-10 と CCL1 を産生し、腫瘍傷害性を持たない、M2b マクロファージ (M ϕ) と同じ性質を示し、共培養により同個体由来 CD8⁺細胞の腫瘍傷害性を抑制した。PD-L1⁺PD-L2⁺CD14⁺細胞と CD8⁺細胞を共培養する際、抗 PD-1 抗体による処理を行うと、CD8⁺細胞の腫瘍傷害性が回復した。本研究の結果は、CD14⁺細胞の PD-1 リガンド発現が、HCC 患者予後を予測するためのバイオマーカーとして利用できる可能性を示唆した。

以上により、本論文は本学大学院学則第 11 条第 1 項に定めるところの博士 (医学) の学位を授与するに値するものと認める。

(主論文公表誌)

Scientific reports 10(1): 10377, 2020 Jun

doi: 10.1038/s41598-020-67497-2. 〈オンライン掲載〉