

論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博甲第 80 号 氏名 平井 真理子
論文審査担当者 主査 吉崎 智一
副査 矢野 聖二
原田 憲一

学位請求論文

題 名 Regulation of PD-L1 expression in a high-grade invasive human oral squamous cell carcinoma microenvironment

掲載雑誌名 International Journal of Oncology (第 50 巻第 1 号 41 頁～48 頁 2017 年 1 月掲載)

【目的】PD-1/PD-L1 経路の阻害による腫瘍の縮小ならびに延命効果が実臨床において実証されつつある。一方、この抗 PD-1 阻害による治療効果が一部の患者に限定的であることが問題となっている。高浸潤性口腔扁平上皮癌は浸潤先端部において免疫抑制性の微小環境を構築しており、PD-1/PD-L1 経路の活性化がこの一因となっている可能性がある。よって、癌の微小環境における PD-1/PD-L1 経路の詳細な検討がこの問題の克服に重要であると考えられる。本研究では、高浸潤性口腔扁平上皮癌細胞株およびヒト組織を用いて、浸潤先端部微小環境での PD-L1 発現調節機構を解明することが目的である。

【方法】当科で樹立した口腔扁平上皮癌細胞株である OSC-20(Y-K 分類 3 型)、OSC-19(Y-K 分類 4C 型)、TSU(Y-K 分類 4D 型)を用いてリアルタイム PCR、ウェスタンブロッティングを行い各細胞株における PD-L1、PD-L2、EMT 関連遺伝子の発現に関して検討した。さらに、OSC-20 に TGF- β を用いて EMT を誘導し、EMT と PD-L1 発現の直接的な関連を検討した。また、ヒト口腔扁平上皮癌組織を免疫染色し、それぞれの浸潤様式での PD-L1 発現細胞の局在を確認した。あわせて蛍光免疫染色もを行い、PD-L1 発現細胞を同定した。蛍光免疫染色で同定された PD-L1 発現細胞と高浸潤口腔扁平上皮癌細胞株をそれぞれ共培養し、PD-L1 の発現の変化について免疫染色とリアルタイム PCR で検討した。

【結果】高浸潤口腔癌細胞株における PD-L1 の発現は低浸潤癌における PD-L1 発現より低く、さらに EMT の誘導により PD-L1 の発現が減少した。すべての細胞株において、PD-L2 の発現は PD-L1 の発現と比較して低かった。ヒト口腔扁平上皮癌組織での免疫染色では、低浸潤癌では PD-L1 は癌細胞で発現していたが、高浸潤癌では PD-L1 は癌細胞での発現は見られず、むしろ間質細胞での発現が亢進していた。蛍光免疫共染色で、PD-L1 の発現亢進している間質細胞はマクロファージと樹状細胞であることを明らかにした。マクロファージまたは樹状細胞と高浸潤口腔癌細胞株を共培養したところ PD-L1 発現上昇が観察され、免疫染色にて PD-L1 の発現は腫瘍細胞ではなくマクロファージと樹状細胞であることが判明した。この共培養での PD-L1 発現亢進は MyD88 阻害ペプチドと TLR4 阻害ペプチドの添加により抑制された。

【考察】高浸潤口腔癌細胞では PD-L1 の発現低下と EMT 亢進が密接に関わっていると同時に、T 細胞からの攻撃をかわすために、腫瘍関連マクロファージおよび樹状細胞上の PD-L1 を誘導する。その結果としてこのタイプの口腔癌では遠隔転移再発が生じやすいことが示唆される。このような微小環境で、より PD-1 抗体を用いた治療の効果が高いことが推測される。さらに、マクロファージおよび樹状細胞で PD-L1 発現を誘導していると考えられる EMT 誘導腫瘍因子が、PD-1/PD-L チェックポイント阻害剤有効患者の選択のためのバイオマーカーとなる可能性も考えられる。

以上、本論文は口腔癌の浸潤転移様式における免疫チェックポイント機構の関連について新たな一面を解明した力作であり、学位授与に値する。