

平成 27 年度学術奨励賞受賞講演

卵巣癌における PD-1/PD-L1 経路の解明と新規治療開発

京都大学 濱 西 潤 三

当科では、卵巣癌の微小環境における免疫学的側面に注目するなかで、特に免疫抑制シグナル受容体 programmed cell death-1 (PD-1) とそのリガンド (PD-L1) 経路を中心に、1. がん免疫逃避機構を解明し、2. 卵巣癌の腹膜播種に関わる同機構の関係と治療開発の基礎的検討を行い、さらに3. 化学療法によるがん免疫や同機構への作用解析を行い、免疫化学療法 (chemo-immunotherapy) の治療効果を検討し、最後に4. 同機構を克服する新しい治療の臨床応用を実践してきた。

1. 卵巣癌におけるがん免疫逃避機構 PD-1/PD-L1 経路の意義

当科で初回手術を行った卵巣癌の手術検体を用いて腫瘍微小環境における免疫状態を、腫瘍細胞における免疫抑制因子 (TGF- β , COX-1, COX-2, PD-L1, PD-L2) の発現および、腫瘍内に浸潤している免疫細胞 (CD4+T 細胞, CD8+T 細胞, NK 細胞, 樹状細胞, 制御性 T 細胞, PD-1 陽性細胞) の 11 因子について免疫染色を行い、臨床病理因子および予後との相関を検討した結果、腫瘍内に CD8+T 細胞浸潤が多いほど予後良好となるが、一方で腫瘍細胞の PD-L1 高発現が独立予後不良因子であることを示した。すなわち、卵巣癌の腫瘍微小環境の免疫状態が患者予後を規定する重要な因子の一つであり、その免疫状態を規定する主因としてがん免疫逃避機構に関わる PD-L1 の腫瘍細胞での発現が関与していることを示した (Clin Immunol. 2011 ; 141 : 338, Cancer Immunol Immunother. 2009 ; 58 : 641, Mod Pathol. 2009 ; 22 : 373, PNAS. 2007 ; 27 ; 104 : 3360)。次に、卵巣癌における免疫状態と生命予後との関連について検証するために、まずマウス卵巣癌細胞株を同系マウスの腹腔内に投与し、腹膜播種モデルを作成した。次に腫瘍局所に免疫細胞を集積させるた

めに、腫瘍の新生血管を形成することができる胚性血管前駆細胞株 eEPC 細胞を入手し、T 細胞や樹状細胞を誘導するサイトカイン CCL19 を遺伝子組み換えにより発現する eEPC-CCL19 細胞を作成した後、eEPC-CCL19 細胞をマウス卵巣癌腹膜播種モデルに投与した結果、腫瘍内に CD8+T 細胞や樹状細胞が高度に浸潤し、かつ有意にそのマウスの生存期間が延長したことから、卵巣癌において、腫瘍内に CD8+T 細胞を動員するようながん免疫療法ができれば、患者予後改善に寄与する可能性を示した (Stem Cells. 2010 ; 28 : 164)。そこで次に卵巣癌の臨床経過や治療との関係について検討した。

2. 卵巣癌の腹膜播種に関与する PD-1/PD-L1 経路の基礎的検討

当科で採取した卵巣癌患者の腫瘍組織の DNA 発現マイクロアレイ解析を行った結果、癌性腹水陽性例では、卵巣癌の PD-L1 を含む interferon (IFN)- γ 関連遺伝子が高発現していることを示し、卵巣癌の PD-L1 発現は、腫瘍局所の免疫を抑制し免疫逃避機構をもたらす重要な因子であり、腹膜播種の進展に寄与していることを示した (Br J Cancer. 2015 ; 112 : 1501, Clin Cancer Res. 2013 ; 19 : 1363)。そこで PD-L1 発現誘導因子である IFN- γ に注目し、マウス・ヒト卵巣癌細胞株における in vitro 実験を行った結果、卵巣癌細胞は IFN- γ 添加培養により PD-L1 を高発現することを示した。さらにマウス卵巣癌腹膜播種モデルを用いた in vivo 実験にて、腹腔内の T 細胞が IFN- γ を産生していることから、卵巣癌は、腹膜播種の過程で腹腔内の T 細胞との接触によって PD-L1 を発現し、T 細胞からの攻撃から逃れていることを示した。次にマウス卵巣癌細胞株を用いた卵巣癌腹膜播種モデルに抗 PD-1 抗体あるいは

抗 PD-L1 抗体を投与した場合もそれぞれ有意に生存期間が延長したことから (Cancer Res. 2015 ; 75 : 5034), PD-1/PD-L1 経路の阻害は卵巢癌の予後改善の有望な治療になる可能性を示した。

3. 化学療法による PD-1/PD-L1 経路活性化と免疫化学療法の展望

次に進行・再発卵巢癌などで標準治療として行われる化学療法が、腫瘍局所の免疫状態に及ぼす影響について、National Center for Biotechnology Information (NCBI) で公開中の化学療法前後 20 ペアの卵巢癌組織の DNA 発現アレイデータを入力し遺伝子発現変化を網羅的に解析した。その結果、化学療法後に卵巢癌組織で上昇した上位 100 遺伝子群のうち T 細胞遺伝子群含め免疫関連が 14 個 (うち 3 個は NF- κ B 関連) 抽出された。そこで化学療法による局所免疫状態の変化をを検討するために、マウス卵巢癌細胞株およびヒト卵巢癌細胞株を用いて、パクリタキセル (PTX), ゲムシタビン (GEM) などの化学療法薬をそれぞれ添加培養した結果、上記遺伝子解析で発現上昇していた因子 (NF- κ B-p65 および PD-L1) の発現を再確認した。そこで、化学療法により、同時に誘導される、PD-L1 発現と NF- κ B 活性の関係についてマウスおよびヒト卵巢癌細胞株を用いて検討した結果、PTX や GEM を添加し培養すると PD-L1 および NF- κ B-p65 発現が誘導された。さらに si-NF- κ B-p65 添加にて、それらの誘導が阻害されたことから、化学療法により NF- κ B 活性を介して PD-L1 発現が誘導されることを示した。さらに化学療法と PD-1 経路阻害の両者による免疫化学療法への応用を検討するために、PD-L1 発現抑制したマウス卵巢癌株を用いて、PTX 添加による

PD-L1 発現による T 細胞性免疫抑制の有無を検討した結果、コントロール株を PTX と共培養すると PD-L1 を発現し T 細胞活性を抑制したが、PD-L1 発現抑制株と PTX との共培養では、T 細胞活性を抑制しないことを示した。次に、マウス卵巢癌腹膜播種モデルを用いて、無治療群、PTX 投与群、抗 PD-1 抗体投与群、PTX と抗 PD-1 抗体の併用療法の 4 群を作成し生存解析を行った結果、PTX と抗 PD-1 抗体の併用療法群で有意に最も生存期間が延長したことから、化学療法と抗 PD-1 抗体を併用した免疫化学療法は卵巢癌に対する化学療法を補完する新しい治療戦略として有望であることを示した (Cancer Res. 2015 ; 75 : 5034)。

4. 卵巢癌患者に対する抗 PD-1 抗体を用いた新規免疫療法の効果

上記 1. ~3. の成果から、卵巢癌に対して PD-1 経路を阻害する完全ヒト型抗 PD-1 抗体 (Nivolumab) を用いて、「がん免疫逃避機構」を打破する治療法が真に治療効果を示すのかを検討するために、2011 年から 2015 年にかけて、プラチナ抵抗性進行・再発卵巢癌 20 例を対象に、医師主導第 II 相試験 (単施設 非盲検) を行い、CR2 例 (プラチナ抵抗性の明細胞癌再発の 1 例を含む), PR1 例を含む奏効率 15%, 疾患制御率 45% で全生存期間 (中央値) 20.0 か月と良好であり、有望な治療法である可能性を報告した (J Clin Oncol. 2015 ; 33 : 4015)。

現在、Nivolumab 治療前後の免疫状態を詳細に解析し、早期の治療効果判定や適切な患者選択に有効となるバイオマーカー探索を行っている。