

京都大学	博士（医学）	氏名	安彦 郁
論文題目	<p>PD-L1 on tumor cells is induced in ascites and promotes peritoneal dissemination of ovarian cancer through CTL dysfunction (卵巣癌細胞上の PD-L1 は、腹水中で発現誘導され、細胞傷害性 T 細胞の機能を低下させることで腹膜播種を促進させる)</p>		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>卵巣癌は、本邦では年間約 8000 人が罹患し、4500 人以上が死亡している、婦人科腫瘍の中で最も予後が悪い疾病である。その原因として、腹膜播種を起こしやすく、半数以上の症例が、診断時に広範な腹膜病変を伴う進行例であることが挙げられる。したがって、腹膜播種を制御することは卵巣癌の治療において非常に重要である。進行卵巣癌に対しては、手術による可及的腫瘍減量と抗癌剤治療を組み合わせた集学的治療が行われるが、長期予後は不良であるため、新規治療法の開発が望まれている。</p> <p>近年、がん細胞が宿主免疫から逃避する能力（がん免疫逃避機構）を備えていること、またこの機構を解除することによりがんの進展を抑えられることが注目されている。PD-L1 (Programmed cell death 1 ligand 1) は、免疫抑制性補助シグナル分子の一つで、リンパ球表面の受容体 PD-1 (Programmed cell death 1) と結合するとリンパ球の活性化を抑制する。多くの癌細胞が PD-L1 を発現し、宿主免疫から逃避していることが知られており、当教室では卵巣癌における PD-L1 発現が予後不良因子であることを報告している。</p> <p>そこで、本研究では、卵巣癌の腹膜播種における PD-L1 の役割を解明することを目的とした。</p> <p>当科にて 1997 年から 2011 年に初回治療を行った卵巣癌 64 症例の腫瘍組織の遺伝子発現マイクロアレイによる検討では、腹水細胞診陽性の症例では、陰性例に比して PD-L1 を含む免疫に関連した遺伝子群の発現が有意に高かった。また、免疫組織染色においても、PD-L1 高発現例は、低発現例に比して有意に腹水細胞診陽性例が多く (p=0.048)、全生存率において予後不良であった (p=0.023)。</p> <p>次に 6 つのヒト卵巣癌細胞株における PD-L1 発現をフローサイトメトリーで解析した結果、PD-L1 陽性が 2 株、陰性が 4 株であったが、PD-L1 陰性株中 3 株において、インターフェロン-γ (IFN-γ) 添加により、PD-L1 発現が誘導された。</p> <p>マウス卵巣癌細胞株 ID8 においても、PD-L1 発現は陰性であったが、IFN-γ 添加により PD-L1 発現が誘導され、また、活性化 CD8+T 細胞との共培養によっても同様に PD-L1 発現が誘導された。さらに、ID8 を同系マウスの腹腔内に投与し腹膜播種モデルを作製した結果、腹水中の腫瘍細胞に PD-L1 が発現した。マウス腹水中の T 細胞は細胞内 IFN-γ に富み、この腹水中 T 細胞と共培養することでも ID8 の PD-L1 は発現誘導された。</p> <p>次に、PD-L1 遺伝子を強制発現または発現抑制したマウス卵巣癌細胞株、ID8-PDL1 と ID8-MirPDL1 を作製し、抗原特異的に活性化させた CD8+T 細胞とそれぞれ共培養し、細胞傷害試験およびタイムラプスでの観察を行った。その結果、ID8-PDL1 には CD8+T 細胞は集積せず、細胞溶解も抑制されたが、ID8-MirPDL1 には CD8+T 細胞が集積し、容易に溶解された。また、これらの細胞株をマウスの腹腔内に投与すると、PD-L1 発現を抑制した ID8-MirPDL1 を投与した群では、ID8-control 群や ID8-PDL1 群に比して腹膜播種が抑制されるとともに、マウスの生存期間が有意に延長した。</p> <p>本研究の結果から、卵巣癌は、腹腔内で免疫細胞との接触により PD-L1 を発現し、細胞傷害性 T 細胞の機能を抑えることにより、腹膜播種を促進することが示された。PD-L1 を標的とした治療によって、腹膜播種を抑制し、卵巣癌患者の長期予後を改善できる可能性が示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

本研究は、腹膜播種における癌の免疫逃避機構に関わる分子の同定・臨床応用が卵巣癌の予後向上につながると考え、免疫抑制分子 PD-L1 の卵巣癌腹膜播種における役割に関して基礎的に検討したものである。

京都大学医学部附属病院で初回手術を行った卵巣癌患者 64 例の腫瘍組織のマイクロアレイによる検討において、腹水細胞診陽性例には PD-L1 を含む、免疫関連の遺伝子が高発現していた。また、免疫組織染色による検討においても、腹水細胞診陽性と PD-L1 発現が相関していた。マウス卵巣癌細胞株における PD-L1 発現は、*in vitro* では IFN- γ の添加または活性化リンパ球との共培養により、*in vivo* では腹膜播種の過程でリンパ球と出会うことにより誘導された。CTL による腫瘍細胞溶解は PD-L1 を強制発現すると抑制され、発現抑制すると促進された。PD-L1 の強制発現は、CTL の集積と脱顆粒を抑制した。マウス腹膜播種モデルの検討では、PD-L1 抑制により腹膜播種の増大は抑制され、生存期間が延長した。

すなわち、卵巣癌は、腹腔内で PD-L1 を発現し、CTL の機能を抑えることにより、腹膜播種を促進することが示され、PD-L1 を標的とした治療により、腹膜播種を制御できる可能性が示唆された。

以上の研究は、卵巣癌の腹膜播種における癌の免疫逃避機構の解明に貢献し、婦人科腫瘍学の進歩に寄与するところが多い。したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 25 年 6 月 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降