



Title	肺扁平上皮癌におけるCD73を標的とした近赤外光免疫療法と免疫チェックポイント阻害剤との併用による相乗効果に関する研究 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	千葉, 龍平
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第16546号
Issue Date	2025-06-30
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/95842
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	CHIBA_Ryohei_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 千葉 龍平

学 位 論 文 題 名

肺扁平上皮癌における CD73 を標的とした近赤外光免疫療法と
免疫チェックポイント阻害剤との併用による相乗効果に関する研究

(Studies on the synergistic effects of near-infrared photoimmunotherapy targeting CD73 in combination with
immune checkpoint inhibitors in pulmonary squamous cell carcinoma)

【背景と目的】

肺癌は本邦で最も死亡率が高い難治性癌である。近年、Immune Checkpoint Inhibitor（以下 ICI）の登場により治療法が進化した。5 年生存率はいまだ約 35%と低く、新たな治療の確立が急務である。非小細胞肺癌は、肺腺癌が約 50%と最も多く、肺扁平上皮癌が約 30%とこれに続く。肺扁平上皮癌は、肺腺癌とは異なる治療反応や免疫微小環境を示すことが知られており、異なるメカニズムに基づく治療法の開発が必要である。近年、腫瘍微小環境における adenosine 産生経路が新たな治療標的として期待されている。この経路において adenosine triphosphate（ATP）は、まず ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1（CD39）による脱リン酸化によって adenosine monophosphate（AMP）に変換され、ecto-5'-nucleotidase（CD73）により adenosine monophosphate（AMP）が生成され、これが adenosine 受容体に結合することで免疫抑制状態が誘導される。この経路の上流には転写因子である Hypoxia inducible factor 1- α （HIF-1 α ）があり、CD39 や CD73 は HIF-1 α により上方制御される。さらに、本経路は programmed death-1（PD-1）や cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4（CTLA-4）などの負の免疫制御分子の誘導にも関与するとされる。CD73 発現は多くの癌腫において予後不良因子と報告されているが、我々は肺扁平上皮癌における治療標的として CD73 に着目した。

一方、近赤外線を用いた光免疫療法（Near Infrared Photoimmunotherapy: NIR-PIT）が新規治療法として注目されている。これは、癌特異的に発現している細胞膜抗原に対する抗体と光感受性物質 IR700 を結合させた抗体-IR700 複合体に対して NIR 照射により物理的・化学変化が起こることで細胞膜損傷を来し、免疫原性細胞死を誘導するものである。本研究では、膜タンパクである CD73 を標的とした NIR-PIT に関する検討を行い、その有効性について検討した。さらに、抗 PD-1 抗体を用いて ICI との併用による治療の相乗効果について検討した。

【対象と方法】

1999 年から 2010 年の間に、北海道大学病院で外科的切除され肺扁平上皮癌と診断された 121 例症例の Tissue Microarray を用いて CD73、HIF-1 α 、PD-L1 抗体により免疫染色を行い、各分子の発現と予後との関連性を検討した。肺癌細胞株の野生株および HIF1 α knockout（KO）株に IFN γ を添加し、各分子の発現を測定した。また、HIF1 α inducer である DFO を添加し、各分子の発現量を解析した。次に、抗 CD73 抗体-IR700 複合体を用いて NIR-PIT による細胞死の誘導を検討した。続いて、マウス同種異所性肺癌モデルを作製し、CD73 を標的とした NIR-PIT と抗 PD-1 抗体を用いた併用療法を行い、腫瘍体積の推移とマウスの生存率を比較した。また、腫瘍を病理学的に評価し、腫瘍内の CD8+細胞数と Ki67 スコアを計測し、さらに腫瘍全体の面積に占める 1) tumor、2) stroma、3) necrosis、4) other の各領域面積の割合を検討した。

【結果】

臨床検体において CD73、HIF-1 α 、PD-L1 の発現は、それぞれが有意に予後不良であった。多変量解析を行ったところ、T 因子、N 因子の他にこれら 3 分子の 2 重発現、3 重発現が独立した予後不良因子

であり、CD73 と PD-L1 の 2 重発現のハザード比が最も高かった。また The Cancer Genome Atlas (TCGA) データにおいても、CD73 高発現群は低発現群と比較して有意に予後不良であった。肺癌細胞株に IFN γ を誘導すると CD73 および PD-L1、HIF1 α の発現量が上昇したが、HIF1- α KO 株ではそれらの発現上昇が抑制された。また、DFO を添加すると CD73、PD-L1、HIF1 α の発現量が増加した。NIR-PIT では、CD73 の発現量が高い細胞株は、より強い細胞死が誘導された。In vivo において、CD73 を用いた NIR-PIT に抗 PD-1 抗体による併用投与を行うことで、単独投与より強い腫瘍増大抑制効果を示し、併用投与群において腫瘍内 CD8+数は最も増加し、間質の領域の割合は他のいずれの群よりも増加した。

【考察】

肺扁平上皮癌において CD73 と PD-L1 の発現はそれぞれ予後不良因子となり、これらの 2 重発現が強い予後不良因子であったことから、これらの分子の重要性が示唆される。また、HIF-1 α の発現を誘導すると、CD73 や PD-L1 の発現量が上昇し、adenosine 経路自体が PD-L1 の upregulation と関係していることが示唆された。また、CD73 を標的とした NIR-PIT に関しては、CD73 の発現量に応じた細胞死の増加を認めた。さらに、CD73 への NIR-PIT 療法は、抗 PD-1 療法との併用により抗腫瘍効果が増強することがわかった。治療後の腫瘍内の病理学的評価においては、併用療法により、腫瘍割合の減少と間質割合の増加を強く認め、腫瘍の viability は低下していた。さらに、併用療法を行うことで、CD8 陽性細胞の有意な増加を認めた。これらの結果からは、腫瘍抑制効果には NIR-PIT による直接的な癌細胞の破壊と、それに続く免疫細胞の誘導が重要であり、併用療法の有用性が期待される結果であった。

【結論】

肺扁平上皮癌においては、CD73 は PD-L1、HIF1 α と関連し、その高発現は予後不良因子である。CD73 は肺癌における NIR-PIT において一つの治療標的となり、ICI を併用することでより治療効果を増強させることが出来る可能性が示された。