



HOKKAIDO UNIVERSITY

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 [全文の要約]
Author(s)	千葉, 龍平
Description	この博士論文全文の閲覧方法については、以下のサイトをご参照ください。 https://www.lib.hokudai.ac.jp/dissertations/copy-guides/
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/2115/95994
Type	doctoral thesis
File Information	CHIBA_Ryohei_summary.pdf



学位論文（要約）

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)

2025 年 6 月

北海道大学

千葉 龍平

【背景と目的】

肺癌は本邦において最も死亡率の高い難治性癌である。近年、免疫チェックポイント阻害薬（Immune Checkpoint Inhibitor: ICI）の導入により治療が進展しているが、5年生存率は依然として約35%にとどまり、新たな治療戦略の確立が急務である。非小細胞肺癌のうち、肺腺癌（lung adenocarcinoma: LUAD）が約50%と最多であり、肺扁平上皮癌（lung squamous cell carcinoma: LUSQ）が約30%を占める。LUSQは分子標的治療の適応が限られ、ICIへの反応性も低いため、LUADとは異なる免疫微小環境（tumor microenvironment: TME）や治療反応性を踏まえた新規治療法の開発が求められている。

近年、癌免疫療法の進歩とともに、腫瘍免疫逃避に関与する分子の解明が進み、TMEにおけるアデノシン産生経路上の分子が新たな治療標的として注目されている。アデノシン三リン酸（ATP）は、まずCD39（ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1）によりAMPへと変換され、次いでCD73（ecto-5'-nucleotidase）によりアデノシンが生成され、アデノシン受容体への結合を介して免疫抑制状態を誘導する。この経路の上流には転写因子HIF-1 α （Hypoxia Inducible Factor-1 α ）が存在し、CD39およびCD73の発現を制御している。また、この経路はPD-1やCTLA-4といった免疫抑制分子の誘導にも関与するとされる。CD73の発現は多くの癌種において予後不良因子と報告されており、我々はLUSQにおける新たな治療標的としてCD73に注目した。

一方、近赤外線光免疫療法（Near-Infrared Photoimmunotherapy: NIR-PIT）は、新たな癌治療法として期待されている。NIR-PITは、癌特異的膜抗原に対する抗体と光感受性色素IR700の複合体にNIRを照射することで、細胞膜に物理化学的損傷を与え、免疫原性細胞死を誘導する。本研究では、膜タンパクであるCD73を標的としたNIR-PITの有効性を検討し、さらに抗PD-1抗体との併用による相乗効果についても評価した。

【対象と方法】

まず、CD73およびその関連分子の発現と予後との関係性を評価するため、1999年から2010年に北海道大学病院呼吸器外科で手術を受けたLUSQ患者121例のTissue Microarray（TMA）を用い、免疫組織化学染色により腫瘍内のCD73、HIF-1 α 、PD-L1発現を評価した。得られた発現データと予後との関連を解析し、あわせてThe Cancer Genome Atlas（TCGA）のデータベースを用いて、LUSQにおけるCD73およびPD-L1の発現と生存との関連も検討した。

加えて、in vitroでは、CD73陽性のLUSQ細胞株を用い、野生型およびHIF-1 α ノックダウン（KD）株に対してインターフェロン γ （Interferon-gamma: IFN- γ ）を添加し、CD73、PD-L1、HIF-1 α の発現量を評価した。また、HIF-1 α の安定化因子であるデフェロキサミン（Deferoxamine: DFO）を用いて化学的に低酸素状態を模倣し、それぞれの分子の発現変化を解析した。

次に、CD73を標的としたNIR-PITの有効性を検討するため、in vitroでは、抗CD73抗体-IR700複合体を用いて4種のヒト癌細胞株に対して蛍光顕微鏡下でNIR-PITを実施し、細胞死の誘導を評価した。

さらに *in vivo* では、CD73 陽性マウス肺癌細胞株と C57BL/6 マウスを用いて、マウス同種異所性肺癌モデルを作製した。このモデルに対して、CD73 標的 NIR-PIT 単独、抗 PD-1 抗体単独、両者の併用療法を実施し、腫瘍体積の推移とマウスの生存率を比較した。

治療後の腫瘍に対しては病理組織学的評価を行い、AI を搭載したソフトウェアを用いて腫瘍内の CD8 陽性細胞数および Ki67 スコアを定量化した。さらに、腫瘍全体に占める 1) tumor、2) stroma、3) necrosis、4) other の各組織領域の割合を比較・検討した。

【結果】

臨床検体における免疫染色の結果、CD73、HIF-1 α 、PD-L1 のいずれの高発現例も、無再発生存期間 (Recurrence-Free Survival: RFS) の短縮と有意に関連していた。多変量解析の結果、T 因子および N 因子に加え、これら 3 分子のうち 2 重発現または 3 重発現を示す症例が、独立した予後不良因子であることが示された。特に、CD73 と PD-L1 の 2 重発現において最も高いハザード比が認められた。

また、TCGA データにおいても、CD73 高発現例および CD73 と PD-L1 の 2 重発現例は、無増悪生存期間 (Progression-Free Survival: PFS) および全生存期間 (Overall Survival: OS) の短縮と有意に関連していた。

次に、CD73 高発現の LUSQ 細胞株に IFN- γ を添加したところ、CD73、PD-L1、HIF-1 α の発現量がいずれも上昇した。一方、HIF-1 α ノックダウン株ではこれらの発現上昇が抑制された。さらに、CD73 低発現の肺癌細胞株に DF0 を添加すると、CD73、PD-L1、HIF-1 α の発現がいずれも増加した。

NIR-PIT に関する検討では、4 種類のマウス癌細胞株を用いた *in vitro* 実験において、CD73 発現量の高い細胞株では、より強い細胞死が誘導される傾向が認められた。

in vivo では、CD73 陽性マウス肺癌細胞株に対して NIR-PIT 単独療法を行うと、一定の腫瘍増殖抑制が確認された。さらに、抗 PD-1 抗体との併用療法では、いずれかの単独療法と比較してより顕著な腫瘍増大抑制効果が認められた。

病理学的評価では、併用療法群において腫瘍内の CD8 陽性細胞数が最も多く、間質領域の割合も他の群に比べて増加していた。AI 画像解析による定量評価では、併用療法群において CD8 陽性細胞数の有意な増加、ならびに Ki67 スコアの有意な低下が確認された。また、腫瘍全体に占める stroma の割合も併用群で有意に高かった。

【考察】

本研究では、LUSQ において CD73 および PD-L1 の高発現がそれぞれ予後不良因子であり、特に両者の 2 重発現が強く予後不良と関連することが示された。これらの結果は、CD73 および PD-L1 が腫瘍の悪性形質や免疫抑制環境に関与している可能性を示唆するものである。さらに、HIF-1 α の発現を誘導すると CD73 および PD-L1 の発現が共に増加し、アデノシン経路が PD-L1 の発現調節にも関与している可能性が示された。これらの分子の同時発現が予後に与える影響は、腫瘍免疫逃避機構における複数の経路の協調的な関与を反映していると考えられる。

また、CD73 を標的とした NIR-PIT においては、CD73 の発現量に応じて細胞死が増加する傾向が認められ、CD73 を治療標的とする合理性が示された。in vivo 実験において、NIR-PIT 単独でも一定の腫瘍抑制効果を示したが、抗 PD-1 抗体との併用により腫瘍増殖抑制効果がさらに増強された。治療後の腫瘍に対する病理学的評価では、併用療法群で腫瘍領域の縮小と間質領域の拡大が認められ、腫瘍の viability が低下していることが示唆された。また、CD8 陽性 T 細胞の有意な増加も併用療法群で確認され、免疫活性の亢進が関与している可能性がある。

これらの結果は、NIR-PIT による直接的な腫瘍細胞破壊に加え、その後に誘導される免疫応答が治療効果に寄与していることを示しており、NIR-PIT と ICI の併用療法が相乗的な作用を持つ可能性を支持するものである。

現在、CD73 に対する抗体療法と ICI の併用に関する臨床研究は各国で進行中であるが、NIR-PIT は抗体による細胞表面抗原の認識に加え、近赤外線照射によって直接的な膜損傷と免疫原性細胞死を誘導するという特徴がある。本研究では、CD73 を標的とした NIR-PIT が、抗 CD73 抗体治療と比較して、ICI との併用においてより高い腫瘍抑制効果を示す可能性があることが示唆された。NIR-PIT は腫瘍抗原を TME に効率よく放出し、抗腫瘍免疫の活性化に寄与する点で、独自の治療的意義を有していると考えられる。

今後の臨床応用に向けては、高親和性の抗 CD73 抗体の開発に加え、肺腫瘍に対する近赤外線の高効率な照射技術の確立が必要である。肺は胸郭に囲まれた臓器であり、腫瘍の局在に応じて経気管支的あるいは胸腔鏡的アプローチによる照射デバイスの導入が求められる。

CD73 を標的とした NIR-PIT は、LUSQ における新たな治療戦略の一つとして、今後さらに前臨床および臨床研究を通じてその有効性を検証していく必要がある。

【結論】

肺扁平上皮癌において、CD73 は PD-L1 および HIF-1 α と関連し、その高発現は予後不良因子であった。CD73 を標的とした NIR-PIT は、抗 PD-1 抗体との併用により腫瘍抑制効果が増強される可能性が示された。CD73 は肺癌における有望な治療標的となり得る。