

## 最終試験の結果の要旨

報告番号	総研第 540 号	学位申請者	天辰 仁彦
審査委員	主査	池田 正徳	位 博士 (医学)
	副査	郡山 千早	査 井戸 章雄
	副査	石塚 賢治	査 上野 真一

主査および副査の5名は、令和元年9月5日、学位申請者 天辰仁彦 君に面接し、学位申請論文の内容について説明を求めると共に、関連事項について試問を行った。具体的には、以下のような質疑応答がなされ、いずれについても満足すべき回答を得ることができた。

質問1) 検討症例の Stage IV はすべて切除不能症例か。

(回答) 43 例すべて切除不能症例であった。

質問2) 手術後の PD-L1 mRNA 発現は減少するか。

(回答) 手術後の血液サンプルは採取していないため、術後 PD-L1 mRNA 発現の評価はおこなっていない。

質問3) 健常者でも血液中に PD-L1 発現は認められるか。

(回答) 健常者の末梢血中 PD-L1 mRNA は、胃癌患者よりも低い傾向にあったが認められた。PD-L1 は腫瘍細胞以外では、一部の抗原提示細胞に発現を認めると報告されており、健常者の末梢血中の抗原提示細胞の発現を見ている可能性が考えられる。

質問4) 進行胃癌で PD-L1 mRNA 発現が低値である群に特徴はあるか。

(回答) 臨床病理学的因子との関係では、PD-L1 mRNA 発現は腫瘍深達度や遠隔転移、ステージと相関が認められている。遠隔転移に注目し、血行性転移や播種性転移などの転移形式の違いによる検討をおこなったが、転移形式による差異はみられなかった。

質問5) 胃癌の組織と末梢血 PD-L1 mRNA 発現に関連はあるか。

(回答) 論文報告した 124 例中、手術を施行した 81 例の胃癌原発組織の PD-L1 発現を免疫染色で評価したが、末梢血中 PD-L1 mRNA との相関は認められなかった。

質問6) 末梢血中 PD-L1 mRNA と喫煙との関連はあるか。

(回答) 喫煙の有無に関する情報が不足しており、検討できていない。

質問7) 末梢血中 PD-L1 mRNA と腫瘍径との関連はあるか。

(回答) 腫瘍深達度と同様に PD-L1 高発現群(腫瘍径平均 56.8mm)では、低発現群(腫瘍径平均 41.8mm)と比較して有意( $p=0.0069$ )に腫瘍径が大きかった。

質問8) 遠隔転移に対する PD-L1 mRNA の ROC 解析をおこなった際の cut off 値はどのように決めたか。

(回答) PD-L1 mRNA 発現で遠隔転移を診断する際の cut off 値は 0.008148, 特異度は 0.667, 感度は 0.814 であった。

質問9) PD-L1 陰性の細胞株はあるか。

(回答) 結腸腺癌細胞株 COLO205 が PD-L1 陰性コントロールとして使用されている。

質問10) PD-L1 mRNA 発現量は循環腫瘍細胞 (CTC) をみていると仮定しているが、健常人での発現は単核球での発現とみているか。

## 最終試験の結果の要旨

(回答) 健常人においても免疫寛容の点で PD-L1 は重要な分子であるため単核球や樹状細胞等の抗原提示細胞での発現を見ている可能性がある。

質問 1 1) Helicobacter pylori(HP)感染率, 除菌前後で PD-L1 mRNA 発現は変化するか。

(回答) HP 感染に関する情報が不足しており, 今回は検討できていないが, HP 感染は PD-L1/PD-1 蛋白発現と相関したという報告がある。これまで除菌前後の PD-L1 発現に関する報告はない。

質問 1 2) CTC と腫瘍組織が関連しない原因は何か。

(回答) 非小細胞肺癌において血清 PDL-1 発現と腫瘍組織の PD-L1 発現は相関しないとの報告がある。この原因として血清 PD-L1 発現は, 腫瘍以外の間葉系間質細胞からの発現も見ている可能性が示唆されている。本研究でも血中 PD-L1 mRNA 発現は, CTC 以外の抗原提示細胞の発現も合わせて評価している可能性が考えられる。また今後の更なる検討が必要ではあるが, 胃癌は heterogeneity に富む代表的な腫瘍であるため原発巣と血液中における腫瘍細胞自体に PD-L1 発現の乖離がある可能性もある。

質問 1 3) 遠隔転移と PD-L1 mRNA 発現が相関すると報告しているが, その原因は何か。

(回答) 癌の進行に伴い CTC 数が増加することは知られている。以前の我々の検討で遠隔転移を有する切除不能胃癌症例は, 切除可能胃癌と比較すると, 有意に血中の CTC 数が多いとの結果も得られている。腫瘍の進展による血中への腫瘍細胞への移行(転移)が CTC 数を増加させ, PD-L1 mRNA 発現と相関していると考えられる。

質問 1 4) 低酸素環境と PD-L1 の関係についてわかっていることがあるか。

(回答) 低酸素環境で発現する HIF-1 $\alpha$  や VEGF などは, 免疫抑制性の作用を有すると報告されている。非小細胞肺癌において HIF-1 $\alpha$  を介して PD-L1 発現を調節するとの報告がある。

質問 1 5) 癌先進部における PD-L1 発現が強いとする報告は, 胃癌に特徴的な所見か。

(回答) 大腸癌においても先進部での PD-L1 発現が有意に高いとの報告があり, 胃癌のみに特徴的な所見ではないと考える。

質問 1 6) 末梢血液中の PD-L1 mRNA からマクロファージ, 単球の発現は除かれているか。

(回答) 今回評価した PD-L1 mRNA 発現は, 末梢血液中の RNA すべてを評価しており, 除かれていない。

質問 1 7) T-reg について評価しているか。

(回答) 本研究では評価していないが, 腫瘍の免疫環境において重要な T 細胞のひとつであり, 今後検討していきたい。

質問 1 8) PD-L1 mRNA 発現高値は癌細胞の悪性度が高いためか, CTC の数が多いためか。

(回答) 癌進行に伴い CTC 数が増加することは以前より知られている。従って個々の CTC における PD-L1 発現が悪性化と伴に上昇することも考えられるため, 両者が関与しているものと思われる。

質問 1 9) PD-L1 の splicing variant はあるか。

(回答) 膜貫通型ではない, 分泌型の secPD-L1 が知られている。

質問 2 0) 癌悪性度で PD-L1 mRNA 発現が亢進するメカニズムは何か。

(回答) 癌進行により T リンパ球の疲弊化がおり, リンパ球の PD-1 発現が上昇することが知られている。悪性度の高い進行癌で, PD-1 発現が亢進することでリガンドである PD-L1 発現も亢進した可能性も考えられる。また癌の進行に伴う CTC 数の増加も PD-L1 mRNA 発現亢進に関与している可能性がある。

質問 2 1) PD-L1 mRNA 発現の部位で作用する薬剤は考えられないか。

(回答) mRNA の生体内分解阻害による創薬が検討されている。一方で, 特異的ながん抗原であるネオアンチゲン mRNA ワクチンの併用により PD-L1 阻害薬の治療効果を高めるとする報告がある。

質問 2 2) EBV と PD-L1 の関係について判明している事はあるか。

(回答) EBV 陽性リンパ腫に PD-L1 発現亢進を来す PD-L1 3'UTR 領域の構造変異を認め, 免疫回避のために PD-1/PD-L1 経路の活性化がなされたのではないかと報告がある。

以上の結果から, 5名の審査委員は申請者が大学院博士課程修了者としての学力・識見を有しているものと認め, 博士(医学)の学位を与えるに足る資格を有するものと認定した。