

(様式4)

## 学位論文の内容の要旨

( 小澤 直也 ) 印

(学位論文のタイトル)

PD-L1 upregulation is associated with activation of the DNA double-strand break repair pathway in patients with colitic cancer

(colitic cancerにおけるDNA2重鎖切断修復応答に伴うPD-L1発現亢進)

(学位論文の要旨)

## 【背景】

潰瘍性大腸炎 (ulcerative colitis: UC) は近年増加傾向で、UCでは免疫細胞が引き起こす慢性炎症によってDNA損傷とその修復機構の破綻が生じ、inflammation-dysplasia-carcinoma sequenceにより炎症性大腸癌 (colitic cancer) が発生する。DNA損傷の中でもDNA2重鎖切断 (DNA double-strand break: DSB) がcolitic cancerの発癌と関連することが報告されている。

また近年免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitors: ICIs) が様々な癌種で使用され、治療成績の向上に寄与している。進行再発大腸癌においてもミスマッチ修復機構欠損 (mismatch repair deficiency: MMRD) またはマイクロサテライト不安定性の高い (microsatellite instability high: MSI-H) の場合、抗PD-1抗体が臨床で使用されている。ICIsの高感受性を予測するバイオマーカーとして様々な癌腫で癌部PD-L1高発現が注目されている。一方、PD-L1の発現誘導機序の1つとしてDSB修復応答を介したDSB/interferon regulatory factor - 1 (IRF-1) pathwayの重要性が報告されている。

希少癌であるcolitic cancerにおいて、PD-L1発現に関する検討は行われていないため、本研究ではcolitic cancerにおけるDSB/IRF-1 pathwayによるPD-L1発現および腫瘍微小環境における免疫細胞発現の関係について検討した。

## 【対象と方法】

1999年1月から2015年12月に当科および関連施設で大腸切除を施行されたcolitic cancer12症例 (癌15病変、dysplasia8病変)、colitic cancer切除目的以外で手術されたUC10症例、UCの既往のない通常型大腸癌 (sporadic colorectal cancer: SCRC) で手術された17症例の切除検体を用いて、免疫組織化学染色を行い以下の検討を施行した。

<検討①>dysplasia/colitic cancer、SCRCおよびそれぞれの非癌部 (UC、normal mucosa) におけるPD-L1の発現と臨床病理学的関係を解析した。

<検討②>dysplasia/colitic cancer、SCRCにおけるCD8陽性T細胞浸潤、 $\gamma$ H2AX (DNAダメージマーカーであり代表的なDSB検出マーカー)、IRF-1 (PD-L1の転写因子) の発現を評価し、その関係を解析した。またcolitic cancerの非癌部とcolitic cancer以外で手術されたUCで、それぞれの蛋白の発現を評価した。

<検討③>dysplasia/colitic cancerの代表的な組織で $\gamma$ H2AX、IRF-1、PD-L1の多重蛍光免疫染色を行い、共発現を評価した。

<検討④>ミスマッチ修復蛋白（MLH1、MSH2、MSH6、PMS2）の免疫組織学染色で評価し、dysplasia/colitic cancerとSCRCのMMRDを解析した。

**【結果】**

<検討①>UC、dysplasia、colitic cancerにおいて、normal mucosa、SCRCと比較して有意にPD-L1の発現亢進（ $P < 0.001$ ）を認めた。dysplasia/colitic cancerにおけるPD-L1発現は、臨床病理学的因子に有意差を認めなかった。

<検討②>dysplasia/colitic cancerにおけるPD-L1の発現は $\gamma$ H2AX（ $P = 0.024$ ）、IRF-1（ $P = 0.002$ ）の発現に正の相関を認め、さらにIRF-1の発現と $\gamma$ H2AX（ $P = 0.001$ ）の発現に正の相関を認めた。したがってdysplasia/colitic cancerにおける $\gamma$ H2AX、IRF-1、PD-L1の発現は、すべて有意に正の相関を認めた。またdysplasia/colitic cancerではSCRCと比較してCD8陽性T細胞浸潤（ $P = 0.001$ ）、 $\gamma$ H2AX、IRF-1（ $P = 0.031$ ）、PD-L1（ $P = 0.003$ ）の発現が有意に上昇していた。colitic cancerの非癌部とcolitic cancer以外で手術されたUCで、それぞれの蛋白の間で有意差を認めなかった。

<検討③>代表的なcolitic cancer病変の多重蛍光免疫組織化学染色で $\gamma$ H2AX、IRF-1、PD-L1の共発現を認めた。

<検討④>dysplasia/colitic cancerとSCRCの間でMMRDに有意差を認めなかった（ $P = 1.000$ ）。

**【考察】**

dysplasia/colitic cancerでは、 $\gamma$ H2AX、IRF-1、PD-L1の発現にすべて正の相関を示し多重蛍光免疫染色で共発現を認めたことから、UC/dysplasia/colitic cancerにおけるPD-L1発現誘導機序としてDSB/IRF-1 pathwayの関与が示唆された。またCD8陽性T細胞高浸潤かつPD-L1高発現の腫瘍は、免疫原性が高くhot tumorともよばれておりICIs高感受性であることが報告されている。本研究で検討したdysplasia/colitic cancerでは、SCRCと比較しCD8陽性T細胞浸潤、PD-L1発現が高度でありhot tumor状態と考えられ、ICIsにより免疫寛容状態を克服することにより高い治療効果を示す可能性が考えられた。

**【結語】**

colitic cancerでは腫瘍におけるPD-L1の発現亢進を認め、その発現誘導機序にDSB/IRF-1 pathwayの関与が示唆された。