

## 学位論文の要旨

Expression of multiple immune checkpoint molecules on T cells  
in malignant ascites from epithelial ovarian carcinoma

(上皮性卵巣癌腹水中の T 細胞における免疫チェックポイント分子の発現)

April, 2022

(2022 年 5 月)

Yuichi Imai

今井 雄一

Department of Obstetrics and Gynecology  
Yokohama City University Graduate School of Medicine  
横浜市立大学 大学院医学研究科 生殖生育病態医学

(Research Supervisor : Kosei Hasegawa, Professor)

埼玉医科大学 国際医療センター 婦人科腫瘍科

(研究指導教員：長谷川 幸清 教授)

(Doctoral Supervisor : Etsuko Miyagi, Professor)

横浜市立大学 大学院医学研究科 生殖生育病態医学

(指導教員：宮城 悦子 主任教授)

## 学位論文の要旨

# Expression of multiple immune checkpoint molecules on T cells in malignant ascites from epithelial ovarian carcinoma

上皮性卵巣癌腹水中の T 細胞における免疫チェックポイント分子の発現

<https://doi.org/10.3892/ol.2018.8101>

### 1. 序論

免疫チェックポイント分子は、さまざまな癌種において宿主の T 細胞に発現することが知られている。宿主の T 細胞に免疫チェックポイント分子が発現すると、最終的に腫瘍細胞が宿主免疫からの逃避機構を獲得し、腫瘍に対する治療抵抗性の原因となることも知られている (Tsai HF et al., 2017)。今日の免疫チェックポイント分子阻害薬は、このような腫瘍細胞による免疫逃避機構を選択的に解除することで抗腫瘍効果を発揮する薬剤として、さまざまな癌種に対する抗腫瘍効果が示されつつあり、悪性腫瘍治療に対する免疫療法の分野においては新たな治療選択肢として期待されている (James NE et al., 2020)。

卵巣癌は、本邦において年間 10,000 人以上が罹患し、そのおよそ半数が死亡する予後不良の婦人科悪性腫瘍である。手術療法および全身化学療法による集学的治療が実際に施行されているが、罹患数、死亡数ともにいまだ増加傾向にある。治療成績の向上を目的とした免疫チェックポイント分子阻害薬の併用も試みられているが、現時点での治療効果はあくまで限定的である (Hamanishi J et al., 2015)。

免疫チェックポイント分子阻害薬の抗腫瘍効果を推測するためのバイオマーカーとして、卵巣癌を除くいくつかの癌種では、宿主の T 細胞に発現した免疫チェックポイント分子と治療効果、あるいは予後との相関が報告されている。一方、卵巣癌では免疫チェックポイント分子の発現と予後との関連性については一定の見解が示されていない (Abiko K et al., 2013; Webb JR et al., 2016)。また、卵巣癌では癌性腹膜炎を併発しやすいが、その際に貯留した腹水を用いて腫瘍微小免疫環境を評価した報告はこれまでにない。

本研究では、免疫細胞、腫瘍細胞とともに含有し、卵巣癌の病勢を反映するとされる癌性腹水を解析することにより、上皮性卵巣癌の腫瘍微小免疫環境を評価すること、臨床的バイオマーカーや予後との相関を評価することを目的とした。

### 2. 実験材料と方法

上皮性卵巣癌 54 例の癌性腹水を用いて、腫瘍微小免疫環境を評価した。まず、腹水中の CD4 陽性 T 細胞または CD 8 陽性 T 細胞における免疫チェックポイント分子の発現状況を解析した。免疫チェックポイント分子として、PD-1 (programmed cell death protein-1), LAG-3 (lymphocyte-activation gene-3), TIM-3 (T-cell immunoglobulin and mucin-domain containing-3), BTLA (B and T lymphocyte attenuator) の 4 種類を選択し、マル

チカラーフローサイトメトリーによりその発現状況を評価した。次いで、腹水中の腫瘍細胞に発現している、PD-1のリガンドであるPD-L1 (programmed cell death ligand-1) およびPD-L2 (programmed cell death ligand-2), TIM-3のリガンドであるガレクチン-9の発現状況についても、それぞれ評価した。さらに、腹水中のサイトカインおよびケモカインについても解析を追加した。そして、これらの結果と、進行期、組織型、予後等の臨床的バイオマーカーとを対比した。なお、本研究は埼玉医科大学国際医療センター臨床倫理委員会で承認を受けたトランスレイショナルリサーチである (承認番号 13-092)。

### 3. 結果

上皮性卵巣癌腹水中のCD4陽性T細胞では、PD-1が65.8%、LAG-3が10.6%、TIM-3が4.3%、BTLAが37.6%に発現していた。また、CD8陽性T細胞では、PD-1が57.7%、LAG-3が5.0%、TIM-3が4.9%、BTLAが15.7%に発現していた。PD-1、LAG-3、BTLAは、CD8陽性T細胞と比較してCD4陽性T細胞で有意に高発現していた。また、39例(72.2%)のCD4陽性T細胞、37例(68.5%)のCD8陽性T細胞で、それぞれ複数の免疫チェックポイント分子が高発現していた。CD4陽性T細胞におけるPD-1発現と腫瘍細胞におけるPD-L1発現、CD8陽性T細胞におけるTIM-3発現とガレクチン-9濃度とは、それぞれ相関関係が示された。複数の免疫チェックポイント分子がCD8陽性T細胞で高発現している症例では、サイトカインであるTNF- $\alpha$ およびIL-6が有意に低下していた。

一方で、免疫チェックポイント分子の発現と臨床的バイオマーカーとの相関関係に明らかなものはなく、複数の免疫チェックポイント分子の発現は、進行期や組織型に関わらず認められた。

### 4. 考察

上皮性卵巣癌腹水中のT細胞にはさまざまな免疫チェックポイント分子が発現しており、さらにおよそ70%の症例では複数の免疫チェックポイント分子が高発現していた。このように複数の免疫チェックポイント分子が発現している症例では、有意に炎症性サイトカインが抑制されていた。一方で、免疫チェックポイント分子の発現と、進行期や組織型等の臨床的バイオマーカーとの相関ははっきりしなかった。

これは、複数の免疫チェックポイント分子阻害薬を用いた多剤併用免疫療法により、卵巣癌の病勢を制御できる可能性を示唆する結果であった。また、免疫チェックポイント分子阻害薬が、進行期や組織型に関わらず、上皮性卵巣癌全般に対して抗腫瘍効果を発揮する可能性を示唆する結果でもあった。この結果は、引き続きバイオマーカーの検索が必要であることを示しており、臨床応用に向けての新たな課題が明らかとなった。

## 引用文献

---

Abiko K, Mandai M, Hamanishi J, Yoshioka Y, Matsumura N, Baba T, Yamaguchi K, Murakami R, Yamamoto A, Kharma B, Kosaka K, Konishi I: PD-L1 on tumor cells is induced in ascites and promotes peritoneal dissemination of ovarian cancer through CTL dysfunction. *Clin Cancer Res* 19: 1363-1374, 2013.

Hamanishi J, Mandai M, Ikeda T, Minami M, Kawaguchi A, Murayama T, Kanai M, Mori Y, Matsumoto S, Chikuma S, Matsumura N, Abiko K, Baba T, Yamaguchi K, Ueda A, Hosoe Y, Morita S, Yokode M, Shimizu A, Honjo T, Konishi I: Safety and antitumor activity of anti-PD-1 antibody, nivolumab, in patients with platinum-resistant ovarian cancer. *J Clin Oncol* 33: 4015-4022, 2015.

James NE, Woodman M, DiSilvestro PA, Ribeiro JR: The perfect combination: Enhancing patient response to PD-1-based therapies in epithelial ovarian cancer. *Cancers* 12: 2150, 2020.

Tsai HF, Hsu PN: Cancer immunotherapy by targeting immune checkpoints: mechanism of T cell dysfunction in cancer immunity and new therapeutic target. *J Biomed Sci* 24:35, 2017.

Webb JR, Milne K, Kroeger DR, Nelson BH: PD-L1 expression is associated with tumor-infiltrating T cells and favorable prognosis in high-grade serous ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 141: 293-302, 2016.

Wu J, Liu C, Qian S, Hou H: The expression of Tim-3 in peripheral blood of ovarian cancer. *DNA Cell Biol* 32: 648-653, 2013.

## 論文目録

---

### I. 主論文

Expression of multiple immune checkpoint molecules on T cells in malignant ascites from epithelial ovarian carcinoma

Imai Y, Hasegawa K, Matsushita H, Fujieda N, Sato S, Miyagi E, Kakimi K, Fujiwara K.  
Oncol Lett. 2018 May; 15(5): 6457-68.

### II. 参考論文

1. 希少がん疾患各論 婦人科の腫瘍 奇形腫発生のがん  
今井雄一、宮城悦子  
日本臨床 (2021 年、79 巻 (増刊)、394-397 頁)
2. 婦人科悪性腫瘍に合併した Trousseau 症候群の予後に関する検討  
萩原真由美、松永竜也、紙谷菜津子、祐森明日菜、鈴木幸雄、今井雄一、水島大一、ルイズ横田奈朋、山本紘司、宮城悦子.  
日本婦人科腫瘍学会雑誌 (2021 年、39 巻 (2 号)、528-534 頁)
3. A phase 2 study of intraperitoneal carboplatin plus intravenous dose-dense paclitaxel in front-line treatment of suboptimal residual ovarian cancer.  
Hasegawa K, Shimada M, Takeuchi S, Fujiwara H, Imai Y, Iwasa N, Wada S, Eguchi H, Oishi T, Sugiyama T, Suzuki M, Nishiyama M, Fujiwara K.  
Br J Cancer. 2020 Mar;122(6):766-770.

4. 妊娠中に診断に至った子宮頸癌の1例.  
立花貴彦、今井雄一、鈴木幸雄、須郷慶信、ルイズ横田奈朋、松永竜也、宮城悦子.  
神奈川産科婦人科学会誌 (2020年、57巻(1号)、36-40頁)
  
5. 卵巣癌に対するベバシズマブ併用化学療法中手指に黒色壊死を起こした1例.  
久保倉優香、松永竜也、萩原真由美、飯島崇善、紙谷菜津子、祐森明日菜、永田亮、今井雄一、水島大一、ルイズ横田奈朋、倉澤健太郎、中村朋美、宮城悦子.  
神奈川産科婦人科学会誌 (2020年、57巻(1号)、20-24頁)
  
6. Phase I Study of Multiple Epitope Peptide Vaccination in Patients With Recurrent or Persistent Cervical Cancer.  
Hasegawa K, Ikeda Y, Kunugi Y, Kurosaki A, Imai Y, Kohyama S, Nagao S, Kozawa E, Yoshida K, Tsunoda T, Nakamura Y, Fujiwara K.  
J Immunother. 2018 May;41(4):201-207.
  
7. Laparoscopic repair of the vaginal cuff dehiscence: Dehiscence occurring after the first sexual intercourse after the laparoscopic modified radical hysterectomy.  
Suzuki Y, Imai Y, Ruiz-Yokota N, Miyagi E.  
Clin Case Rep. 2018 Nov 5;6(12):2495-2497.
  
8. 当院における全腹腔鏡下準広汎子宮全摘術の安全性の評価と標準化に向けた今後の課題.  
齊藤真、松永竜也、紙谷菜津子、太田幸秀、鈴木幸雄、浅野涼子、今井雄一、ルイズ横田奈朋、中村朋美、宮城悦子.  
日本産科婦人科内視鏡学会雑誌 (2018年、34巻(2号)、178-183頁)

9. The frequency of neoantigens per somatic mutation rather than overall mutational load or number of predicted neoantigens per se is a prognostic factor in ovarian clear cell carcinoma.

Matsushita H, Hasegawa K, Oda K, Yamamoto S, Nishijima A, Imai Y, Asada K, Ikeda Y, Karasaki T, Fujiwara K, Aburatani H, Kakimi K.

*Oncoimmunology*. 2017 Jun 16;6(8):e1338996.

10. Clinical significance of T cell clonality and expression levels of immune-related genes in endometrial cancer.

Ikeda Y, Kiyotani K, Yew PY, Sato S, Imai Y, Yamaguchi R, Miyano S, Fujiwara K, Hasegawa K, Nakamura Y.

*Oncol Rep*. 2017 May;37(5):2603-2610.

11. Phase 1 dose-escalation study of single-agent veliparib in Japanese patients with advanced solid tumors.

Nishikawa T, Matsumoto K, Tamura K, Yoshida H, Imai Y, Miyasaka A, Onoe T, Yamaguchi S, Shimizu C, Yonemori K, Shimoi T, Yunokawa M, Xiong H, Nuthalapati S, Hashiba H, Kiriya T, Leahy T, Komarnitsky P, Fujiwara K.

*Cancer Sci*. 2017 Sep;108(9):1834-1842.

12. Combination chemotherapy with docetaxel and carboplatin for elderly patients with endometrial cancer.

Yoshida H, Imai Y, Fujiwara K.

*Mol Clin Oncol*. 2016 May;4(5):783-788.

13. T-LAK Cell-Originated Protein Kinase (TOPK) as a Prognostic Factor and a Potential Therapeutic Target in Ovarian Cancer.

Ikeda Y, Park JH, Miyamoto T, Takamatsu N, Kato T, Iwasa A, Okabe S, Imai Y, Fujiwara K, Nakamura Y, Hasegawa K.

Clin Cancer Res. 2016 Dec 15;22(24):6110-6117.

14. 悪性転化を伴う卵巣成熟嚢胞性奇形腫の4例.

佐藤翔、長谷川幸清、市川大介、新谷大輔、矢野友梨、宮坂亜希、藪野彰、今井雄一、西川忠暁、田丸俊輔、黒崎亮、吉田裕之、安田政実、藤原恵一.

関東連合産科婦人科学会誌 (2016年、53巻(1号)、127-132頁)

15. 閉経後に発症した Sertoli-Leydig 細胞腫の1例.

鷹野夏子、黒崎亮、市川大介、新谷大輔、佐藤翔、矢野友梨、小笠原仁子、宮坂亜希、藪野彰、今井雄一、吉田裕之、榊美佳、長谷川幸清、安田政実、藤原恵一.

埼玉産科婦人科学会雑誌 (2016年、46巻(1号)、35-39頁)

16. Efficacy of estrogen replacement therapy (ERT) on uterine growth and acquisition of bone mass in patients with Turner syndrome.

Nakamura T, Tsuburai T, Tokinaga A, Nakajima I, Kitayama R, Imai Y, Nagata T, Yoshida H, Hirahara F, Sakakibara H.

Endocr J. 2015 Aug;62(11):965-70.

17. The Risk of Ovarian Malignancy Algorithm (ROMA) as a Predictive Marker of Peritoneal Dissemination in Epithelial Ovarian Cancer Patients.

Ikeda Y, Hasegawa K, Kurosaki A, Miyara A, Hanaoka T, Shintani D, Imai Y, Nishikawa T, Oda K, Fujiwara K.

Oncol Res Treat. 2015 May;38(6):276-81.



18. 乳癌合併妊娠 5 例の母児の転帰.

古賀絵理、青木茂、今井雄一、持丸綾、笠井絢子、望月昭彦、倉澤健太郎、奥田美加、高橋恒男、平原史樹.

神奈川産科婦人科学会誌 (2015 年、51 卷 (2 号)、165-168 頁)

19. 内膜細胞診で砂粒小体を伴う腫瘍細胞を認めた卵巣漿液性境界悪性腫瘍の 1 例.

加藤智美、矢島沙紀、佐瀬智子、鎌倉靖夫、清水道生、今井雄一、安田政実.

日本臨床細胞学会雑誌 (2015 年、54 卷 (3 号)、216-220 頁)

20. パクリタキセル・カルボプラチン併用療法が奏功した卵巣および卵管癌肉腫の 5 例.

矢野友梨、西川忠暁、市川大介、新谷大輔、藪野彰、今井雄一、池田悠至、黒崎亮、吉田裕之、長谷川幸清、藤原恵一、安田政実.

埼玉産科婦人科学会雑誌 (2014 年、44 卷 (2 号)、122-126 頁)

21. 子宮頸部多発嚢胞性病変の取り扱いについて 2 症例の経験から.

谷口華子、古屋充子、時長亜弥、今井雄一、長谷川哲哉、佐藤美紀子、沼崎令子、宮城悦子、平原史樹.

関東連合産科婦人科学会誌 (2013 年、50 卷 (4 号)、679-685 頁)

22. MPA 療法による高度の脱落膜変化により子宮内膜癌への進行との鑑別に苦渋した子宮腺筋症併存子宮内膜異型増殖症の 1 例.

新井夕果、今井雄一、山本葉子、丸山康世、永田智子、井畑穰、中村朋美、佐藤美紀子、沼崎令子、宮城悦子、榎原秀也、平原史樹.

日本産科婦人科学会神奈川地方部会誌 (2013 年、49 卷 (2 号)、22-27 頁)

23. 骨盤内に腫瘤を形成し婦人科疾患との鑑別に苦慮した悪性リンパ腫の 1 症例.

蘇原慧美、山本葉子、今井雄一、佐藤美紀子、丸山康世、小林有紀、沼崎令子、杉浦賢、  
宮城悦子、平原史樹、古屋充子.

日本産科婦人科学会神奈川地方部会会誌 (2012 年、49 卷 (1 号)、2-3 頁)