

論 文 内 容 要 旨

題目 Downregulation of PD-L1 via FKBP5 by celecoxib augments antitumor effects of PD-1 blockade in a malignant glioma model

(セレコキシブによるFKBP5を介したPD-L1の発現低下は、悪性神経膠腫モデルにおける抗PD-1抗体医薬による腫瘍効果を増強する)

著者 Izumi Yamaguchi, Kohei Nakajima, Kenji Shono, Yoshifumi Mizobuchi, Toshitaka Fujihara, Eiji Shikata, Tadashi Yamaguchi, Keiko Kitazato, Oltea Sampetean, Hideyuki Saya, Yasushi Takagi

令和1年12月26日発行 Neuro-Oncology Advances, Volume 1, Issue 1, May-December, vdz058 に掲載予定 (早期公開, 2019年12月26日, <https://doi.org/10.1093/noajnl/vdz058>)

内容要旨

脳腫瘍の中で最も悪性度の高い膠芽腫 (glioblastoma, GBM)は手術, 放射線治療, 化学療法を行ったとしても生存期間中央値は14.6カ月と転帰不良であり, 新規治療法の開発が必要とされている。

免疫チェックポイント受容体であるPD-1, 及びそのリガンドであるPD-L1を標的とする抗腫瘍治療は現在様々な癌腫で行われているが, 膠芽腫におけるPD-L1の発現程度は様々であり, 抗PD-1抗体による治療効果は不明である。

重要な事に, PD-L1の高発現はGBM細胞の増殖性や浸潤性に関連しており, COX-2発現と腫瘍細胞のPD-L1発現との関連性が報告されている。そのため我々は, COX-2阻害剤 celecoxibが抗PD-1抗体の抗腫瘍効果を増強させるという仮説を立て, それを検証することとした。

方法: Murine glioma stem cells (GSCs)を定位的手術により右大脳半球に移植したマウスグリオーマモデルを, 無作為に4群に分けて (1; Vehicle control群, 2; celecoxib単独群, 3; 抗PD-1抗体単独群, 4; celecoxibと抗PD-1抗体併用群)治療を行い, 抗腫瘍効果を評価した。GSCsやヒトGBM細胞にcelecoxibを投与し, 抗腫瘍効果増強のメカニズムについて解析した。

結果:

1. マウスグリオーマモデルの腫瘍組織において, ヒトGBM組織と同様にPD-L1,

## 様式(8)

COX-2 の高い発現を免疫組織染色, Western blot 解析により確認した.

2. グリオーマモデルでは, celecoxib と抗 PD-1 抗体を併用することで単独群に比べて生存期間延長と腫瘍サイズ縮小効果の増強作用を認めた. さらに celecoxib 投与により腫瘍組織における PD-L1 の発現低下を観察した.
  3. GSCs において, celecoxib 投与による用量依存的な細胞増殖抑制作用と PD-L1 発現低下作用を認めた. しかし, PD-L1 mRNA レベルは逆に上昇しており, celecoxib による PD-L1 発現低下は転写レベルと関係しないと考えられた.
  4. GSCs において celecoxib は PD-L1 の転写後の蛋白生成に関連する FKBP5 発現の減少を認め, FK506 及び rapamycin でも同様に FKBP5 と PD-L1 発現を減少させ, 細胞増殖抑制を示し, FKBP5 を介した PD-L1 発現減少が抗腫瘍効果に寄与する可能性が示唆された.
  5. ヒト GBM 初代培養細胞においても, celecoxib により PD-L1 mRNA に影響なく, FKBP5 と PD-L1 蛋白発現が減少し, 細胞増殖抑制効果が認められた.
  6. 細胞系での結果と同様にマウスグリオーマモデルにおいても, celecoxib の投与により COX-2, FKBP5, PD-L1 の発現低下が認められ, celecoxib と抗 PD-1 抗体併用は単独治療に比べて PD-1 陽性細胞の集積増加が確認された.
- 以上から, FKBP5 制御を介した PD-L1 の蛋白発現低下が抗腫瘍効果増強に寄与している可能性があり, 抗 PD-1 抗体医薬との併用療法における FKBP5 の制御は新たな治療標的となる可能性がある.

## 論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 <b>1453</b> 号	氏名	山口 泉
審査委員	主査 島田 光生 副査 西岡 安彦 副査 常山 幸一		

題目 Downregulation of PD-L1 via FKBP5 by celecoxib augments antitumor effects of PD-1 blockade in a malignant glioma model (セレコキシブによる FKBP5 を介した PD-L1 の発現低下は、悪性神経腫モデルにおける抗 PD-1 抗体医薬による抗腫瘍効果を増強する)

著者 Izumi Yamaguchi, Kohei Nakajima, Kenji Shono, Yoshifumi Mizobuchi, Toshitaka Fujihara, Eiji Shikata, Tadashi Yamaguchi, Keiko Kitazato, Oltea Sampetean, Hideyuki Saya, and Yasushi Takagi  
 令和1年12月26日発行 Neuro-Oncology Advances, Volume 2, Issue 1, January-December, vdz058 に発表済み  
 (主任教授 高木 康志)

要旨 Glioblastoma (GBM)は手術、放射線治療、化学療法を行っても生存期間の中央値は14.6カ月と予後不良で、脳腫瘍の中でも最も高悪性度の疾患である。GBMにおける細胞増殖性や浸潤性にはPD-L1の高発現が関与していることが報告され、cyclooxygenase-2 (COX-2)発現増加や腫瘍細胞増殖との関連が示唆されている。

申請者らは、COX-2阻害剤 celecoxib が抗 PD-1 抗体の抗腫瘍効果を増強する可能性があると考え、mouse glioma stem cell (mGSC)を大脳移植したモデルを用い celecoxib および抗 PD-1 抗体併用による抗腫瘍効果を、また mGSC および human GBM 細胞 (hGBM)

を用いて celecoxib の抗腫瘍効果増強作用の機序を解析した。

得られた結果は以下の如くである。

- 1) Celecoxib と抗 PD-1 抗体の併用は、各単独治療より抗腫瘍効果が高く、生存期間を延長すると共に腫瘍の COX-2 および PD-L1 の発現を低下させた。
- 2) Celecoxib は、mGSC の viability を低下させると共に PD-L1 タンパク発現を低下させたが、*PD-L1* mRNA レベルは上昇しており、転写以外の制御と考えられた。
- 3) Celecoxib は、mGSC の FK506 binding protein 5 (FKBP5) のタンパク発現ならびに mRNA 発現を低下させた。FK506 及び rapamycin によっても FKBP5 と PD-L1 の発現が低下した。
- 4) hGBM 細胞株と患者から樹立した初代培養細胞において PD-L1 と FKBP5 が高発現していた。Celecoxib により初代培養細胞の FKBP5 と PD-L1 のタンパク発現が低下した。また hGBM 細胞株と mGSC では celecoxib により、FKBP5 を介した PD-L1 発現の低下が確認されるとともに、HIF-1 $\alpha$ 、STAT3、リン酸化 Akt と NF $\kappa$ B の発現が低下した。
- 5) Celecoxib は、マウスモデルにおける COX-2、FKBP5 と PD-L1 蛋白の発現を低下させ、この低下は M1-type マクロファージの増加と M2-type マクロファージの低下、および PD-1 陽性細胞の増加と関係していた。

以上から、celecoxib と抗 PD-1 抗体の併用は、FKBP5 の発現制御を介した PD-L1 低下作用により抗腫瘍効果を増強することが明らかになった。

本研究は、GBM における新たな治療法開発に有用な知見を与えておりその臨床的な意義は大きく、学位授与に値すると判定した。