



Nagoya City University Academic Repository

| | |
|---------|---|
| 学位の種類 | 博士 (医学) |
| 報告番号 | 甲第1677号 |
| 学位記番号 | 第1194号 |
| 氏名 | 渡邊 拓弥 |
| 授与年月日 | 平成31年3月25日 |
| 学位論文の題名 | Four immunohistochemical assays to measure the PD-L1 expression in malignant pleural mesothelioma (悪性胸膜中皮腫における4種の染色抗体を用いたPD-L1発現の検討) Oncotarget. 9(29):20769-20780, Apr 17 2018 |
| 論文審査担当者 | 主査： 新実 彰男 副査： 高橋 智, 中西 良一 |

論文内容の要旨

【背景および目的】

悪性胸膜中皮腫は有効な治療法が確立されていない予後不良の悪性疾患である。昨年、同疾患に対し PD-1/PD-L1 経路を標的とした免疫チェックポイント阻害剤であるニボルマブが新規に適応となり、今後の治療効果に期待が高まっている。一方、免疫チェックポイント阻害剤の効果予測因子である腫瘍細胞の PD-L1 発現を調べる染色抗体は多数あり、使用する染色抗体間で陽性率に差が生じることが問題視されている。今回、我々は肺癌治療のコンパニオン診断薬である 4 種の染色抗体を用い、病理組織型の異なる悪性胸膜中皮腫の PD-L1 発現率や染色抗体間での陽性発現率の差について検討した。

【対象と方法】

I. 対象

1992 年 1 月から 2016 年 12 月までに当科で外科切除もしくは生検により組織が得られた悪性胸膜中皮腫 32 例。

II. 染色抗体

それぞれ atezolizumab, durvalumab, nivolumab, pembrolizumab のコンパニオン診断薬である SP142 clone, SP263 clone, 28-8 clone, 22C3 clone を用い、PD-L1 発現率を評価した。

III. PD-L1 発現の判定方法

以下に示すように、染色抗体ごとに過去の研究報告を参考に cut-off 値を設定した。これを満たす場合、PD-L1 発現陽性と判断した。

SP142 : 細胞膜が染色される腫瘍細胞の割合が 1%以上、もしくは細胞膜または細胞質が染色される免疫細胞の割合が 1%以上

SP263 : 細胞膜が染色される腫瘍細胞の割合が 25%以上

28-8 : 細胞膜が染色される腫瘍細胞の割合が 1%以上

22C3 : 細胞膜が染色される腫瘍細胞の割合が 1%以上

【結果】

I. 組織型の内訳は上皮型 19 例、二相型 7 例、肉腫型 6 例であった。

II. 染色抗体別の PD-L1 陽性率は SP142 が 53.1%, SP 263 が 28.1%, 28-8 が 53.1%, 22C3 が 56.3%であった。SP263 のみ他の染色抗体と比べ陽性率が低かった。

III. 組織型別の PD-L1 陽性率は以下の通りであった (SP142, SP263, 28-8, 22C3 の順に示す)。

上皮型 : 47.4%, 15.8%, 47.4%, 52.6%

二相型 : 57.1%, 28.6%, 57.1%, 57.1%

肉腫型 : 66.7%, 66.7%, 66.7%, 66.7%

IV. 染色抗体間での PD-L1 発現判定の一致率は、SP142 と 22C3、28-8 と 22C3 間で最も高く、84.4% (27/32)であった。一方、SP263 はいずれの染色抗体とも一致率は低く、71.9%~75.0%であった。

V. いずれの染色抗体を用いた場合でも、PD-L1 陽性群と陰性群の間で生存曲線に有意差を認めなかった。

【考察】

I. 悪性胸膜中皮腫の PD-L1 陽性率や染色性について

報告により PD-L1 陽性率は 20~70%と結果に差があるが、本研究では SP263 clone を除く 3 つの染色抗体で、PD-L1 陽性率は約 50%であった。腫瘍細胞の染色性に比較し、免疫細胞の染色性は非常に乏しく、悪性胸膜中皮腫の PD-L1 発現判定には腫瘍細胞での評価が重要であると考えられた。

II. 染色抗体ごとの PD-L1 陽性率および PD-L1 発現の判定一致率について

SP263 のみ PD-L1 陽性率が低く、また他の染色抗体間における一致率は低かった。本研究では、過去の報告を参考に陽性 cut-off 値を設定したが、SP263 のみ陽性判定の基準が厳しいため、他の 3 つの染色抗体に比べ陽性率が低くなったと考えている。仮に、腫瘍細胞の 1%以上で陽性と判定した場合の SP263 における PD-L1 陽性率は 46.9%と他の染色抗体とほぼ同様であった。これらの結果より、陽性 cut-off 値の決定については、実臨床での免疫チェックポイント阻害剤の効果判定を含めた大規模な研究が必要と考えている。

III. マーカーとしての PD-L1 と本研究の特徴について

PD-L1 は動的なマーカーで、標本の採取条件などにより発現率に差が生じることが知られている。具体的には、手術検体か生検検体かの差、化学療法や放射線治療の有無、さらには同一検体内での差も指摘されており、これらが報告ごとの差を生んでいる要因の一つと考えられている。本研究は 93.8%が手術検体、全例が未治療の検体と Quality control された標本であるため bias が少なく、信頼性の高い結果と考えている。さらなる症例蓄積により、悪性胸膜中皮腫に対する免疫チェックポイント阻害剤の適応患者選択において、適切な染色抗体と cut-off 値の追求が必要である。

【結語】

悪性胸膜中皮腫に対し、我々の設定した cut-off 値を用いた場合、SP263 を除く 3 つの染色抗体間における PD-L1 発現の判定一致率は約 80%であった。PD-L1 陽性率は染色抗体ごとに設定した cut-off 値の影響を強く受ける可能性があると考えられた。

論文審査の結果の要旨

【発表の概略】

悪性胸膜中皮腫は有効な治療法が確立されていない予後不良の悪性疾患である。同疾患に対し programmed death 1 (PD-1) / programmed death ligand 1 (PD-L1) 経路を標的とした免疫療法が新たに適応となり、今後の治療効果に期待が高まっている。一方、免疫チェックポイント阻害剤の効果予測因子である PD-L1 発現を調べる染色抗体は多数あり、使用する染色抗体間で PD-L1 陽性率に差が生じることが問題視されている。著者らは肺癌治療のコンパニオン診断薬である 4 種の染色抗体 (SP142, SP263, 28-8, 22C3) を用い、病理組織型の異なる悪性胸膜中皮腫の PD-L1 発現率や染色抗体間での陽性発現率の差について検討した。

対象は外科切除もしくは生検により組織が得られた悪性胸膜中皮腫 32 例とし、いずれも化学療法や放射線治療を受けていないものに限定した。腫瘍細胞と免疫細胞について過去の研究報告を参考に PD-L1 発現率を評価し、それぞれの染色抗体ごとに設定した cut-off 値を上回る場合、PD-L1 陽性と判定した。

結果、染色抗体別の PD-L1 陽性率は SP142 が 53.1%、SP263 が 28.1%、28-8 が 53.1%、22C3 が 56.3% であり、SP263 のみ他の染色抗体と比較し陽性率が低かった。腫瘍細胞と免疫細胞の PD-L1 発現を比較すると、腫瘍細胞に比べて免疫細胞はその発現が非常に乏しく、悪性胸膜中皮腫の PD-L1 発現には腫瘍細胞の評価が重要であると考えられた。組織型別では、肉腫型の PD-L1 陽性率が高かったが、全ての染色抗体において、上皮型と非上皮型を比較した際、PD-L1 陽性率に有意差を認めなかった。染色抗体間での PD-L1 発現判定の一致率は、SP142 と 22C3、28-8 と 22C3 間で最も高く、84.4% であった。一方、SP263 はいずれの染色抗体とも一致率は低く、71.9%~75.0% であった。全ての染色抗体において、PD-L1 陽性群と陰性群の間で予後に有意差を認めなかった。他の染色抗体と比較し SP263 のみ PD-L1 陽性率が低く、かつ判定一致率も低い理由として、設定した cut-off 値の影響を強く受けた可能性がある。

悪性胸膜中皮腫における PD-L1 陽性率は SP142, 28-8, 22C3 で 50% 以上であり、PD-1 / PD-L1 経路を標的とした免疫チェックポイント阻害剤は悪性胸膜中皮腫に対する新規治療として有効である可能性が示唆された。

【審議の内容】

主査の新実教授より、①筆頭著者としての役割について、②細胞内ドメインに結合する染色抗体と細胞外ドメインに結合する染色抗体の見え方の差異について、③今回の結論から得られた今後への提言や展望、等 9 項目の質問があった。第一副査の高橋教授より、①ニボルマブ投与による予後改善のデータについて、②PD-L1 発現とアスベスト暴露期間、暴露量との相関について、③免疫細胞の scoring の意義について、等 10 項目の質問があった。第二副査の中西教授より、①原発性肺癌や悪性胸膜中皮腫における縦隔リンパ節郭清の意義について、②呼吸器外科におけるロボット手術の現状とその問題点についての 2 項目の質問があった。いずれの質問に対しても概ね十分な回答が得られ、本研究領域について深く理解すると共に、専攻分野に関する知識を習得しているものと判断された。よって本論文の著者には博士 (医学) の学位を授与するに値すると判断した。