

令和 3 年 6 月 22 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K09130

研究課題名(和文) 免疫プロファイリングによる免疫チェックポイント療法への感受性規定因子の同定

研究課題名(英文) Identification of predictive factor for immunotherapy with immune checkpoint inhibitor by Immuno-profiling

研究代表者

富田 善彦 (Yoshihiko, Tomita)

新潟大学・医歯学総合病院・教授

研究者番号：90237123

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：腎細胞癌における免疫チェックポイント阻害剤(ICI)の有効性を評価するバイオマーカーとなりうる複数の腫瘍関連分子、免疫関連分子を免疫組織化学的アプローチから探索した。その結果、CD8陽性T細胞および、CD68陽性マクロファージの腫瘍組織内への浸潤を伴う腎細胞癌ではICIの治療効果が高く、有意に全生存期間、癌特異生存期間、無増悪生存期間が延長していた。腫瘍組織への免疫細胞の浸潤がICIの治療効果に強く関連することが示され、今後、腎細胞癌患者の治療選択における有効な指標となると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害剤のバイオマーカー探索は患者の治療選択にとって有益だけでなく、医療コストの抑制という面でも非常に意義のある課題である。腫瘍組織から抽出した遺伝子の網羅的な解析といったアプローチもなされているが、実用性・汎用性の低さが問題であった。我々の研究結果から、腫瘍組織の免疫組織染色という広く一般的に普及している手法を用いて、ICIの予後予測因子を同定することに成功した。

研究成果の概要(英文)：We explored multiple tumor-associated and immune-related molecules that could be biomarkers for evaluating the efficacy of immune checkpoint inhibitors (ICIs) in a patient with renal cell carcinoma (RCC), using an immunohistochemical approach. The results showed that RCC with infiltration of CD8-positive T cells and CD68-positive macrophages into the tumor tissue was highly effective in the treatment of ICIs, with significantly prolonged overall survival, cancer-specific survival, and progression-free survival. The infiltration of immune cells into tumor tissues was shown to be strongly related to the therapeutic effect of ICIs and may be an effective biomarker for the selection of treatment for RCC patients.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 腎細胞癌 免疫療法

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

抗 CTLA-4 抗体 (Ipilimumab) や抗 PD-1 抗体 (Nivolumab、Pembrolizumab)、抗 PD-L1 抗体 (Atezolizumab、Abelumab) をはじめとした免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) は、非小細胞肺癌や悪性黒色腫、そして腎細胞癌、尿路上皮癌に対して有効性が認められている。しかし、その奏効率は癌腫によっても異なるが泌尿器癌においては 20~50%程度であり無効の症例も少なくない。これまでの検討からは、腎細胞癌と尿路上皮癌に関しては PD-L1 分子の発現の程度と臨床効果に相関はみられず、効果予測因子の同定が喫緊の課題であった。

### 2. 研究の目的

本研究は、免疫チェックポイント阻害剤で治療した患者の免疫反応の腫瘍側と患者側の双方の因子と臨床効果を検討することで、一般臨床ですぐに応用可能なバイオマーカーの探索し、免疫チェックポイント阻害剤が有効な患者を見つけ出す方法を確立することが目的である。

### 3. 研究の方法

本研究は前向き研究として行う。新潟大学医歯学総合病院で収集した臨床検体(手術切除標本、腫瘍生検標本)に対し、免疫組織染色の手法を用いて、腫瘍側因子である腫瘍上での免疫修飾分子の発現状況および、患者側因子である腫瘍内浸潤リンパ球、腫瘍関連マクロファージなどの発現状況进行评估し、免疫チェックポイント阻害剤使用後の無増悪生存期間 (PFS)、癌特異生存期間 (CSS)、全生存期間 (OS) との関連性を評価した。2015 年から 2020 年の間に新潟大学医歯学総合病院泌尿器科で転移性または進行性腎細胞癌に対して免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) による治療を受けた患者 72 症例のうち、臨床病理データと組織検体が利用可能であった 60 症例について検討を行った。免疫組織化学染色に関しては、アポトーシス関連分子である BCL2、XIAP、また免疫チェックポイントに関係する PD1、PD-L1、および腫瘍組織中の浸潤リンパおよび主要関連マクロファージの評価をするため CD3、CD4、Foxp3、CD8、CD68、CD163 の免疫組織化学染色を行い検討した。それぞれの組織標本について、染色強度と染色領域に応じてグレード 1~4 までの 4 段階評価を行った (文献 1)。

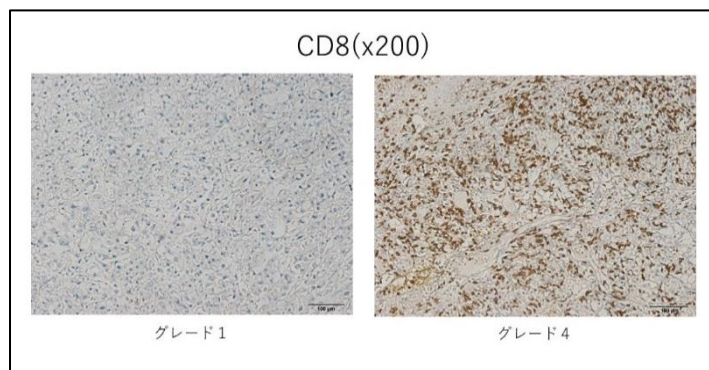
### 4. 研究成果

#### (1) 対象症例の臨床病理学的背景

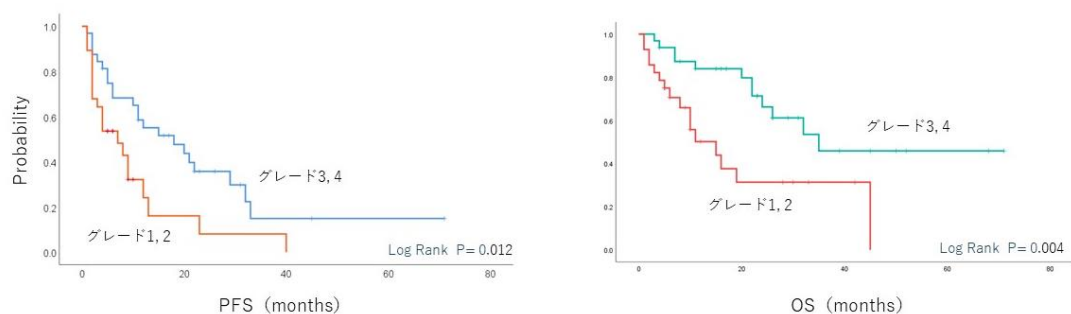
症例の患者背景は以下の通りであり、年齢中央値は 68 歳 (23-81)、男性 46 例、根治的腎摘除術または腎部分切除術を施行された症例が 34 例、腫瘍生検を施行された症例が 26 例であった。観察期間の中央値は 15.5 ヶ月であった。T ステージに関しては T3 以上の症例が 38 例であり、2 例を除く 58 例が clear cell renal cell carcinoma であった。病理学的悪性度については Grade 1 が 9 例、Grade 2 が 23 例、Grade 3 が 22 例、不明が 6 例であった。免疫チェックポイント阻害剤の治療の内訳は、Nivolumab+Ipilimumab が 24 例、Nivolumab 単独療法が 31 例、ICI+チロシンキナーゼ阻害剤が 5 例であった。ICI の投与シーケンスは 1 次治療が 29 例、2 次治療以降が 31 例であった。

#### (2) CD8 陽性 T 細胞の浸潤は ICI 治療後の PFS、OS を延長する予後予測因子であった

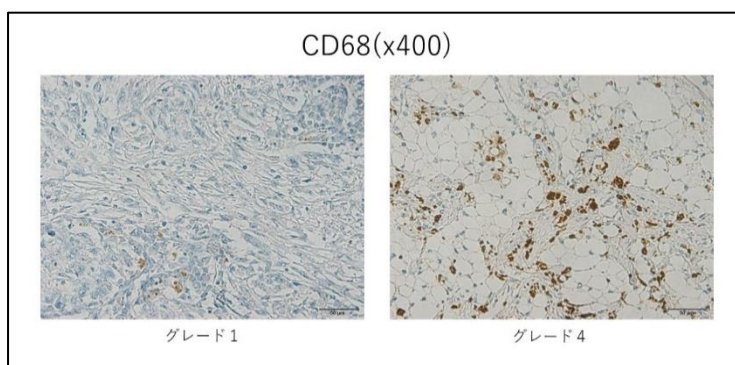
CD8 の染色グレード 1 とグレード 4 の組織標本の代表例を示す (図 1)。CD8 陽性 T 細胞の発現が高い症例 (グレード 3, 4 : n=32) では、PFS、OS とともに発現の低い症例 (グレード 1, 2 : n=28) と比較して有意に延長していた (図 2)。このことから、CD8 陽性 T 細胞の腫瘍組織内への浸潤は免疫チェックポイント阻害剤の奏功に関係していると考えられた。過去の報告でも腫瘍組織中へのリンパ球浸潤は抗 PD1 抗体の効果と関連するとの報告 (文献 2) がなされており、我々が得た結果とも一致するものであった。



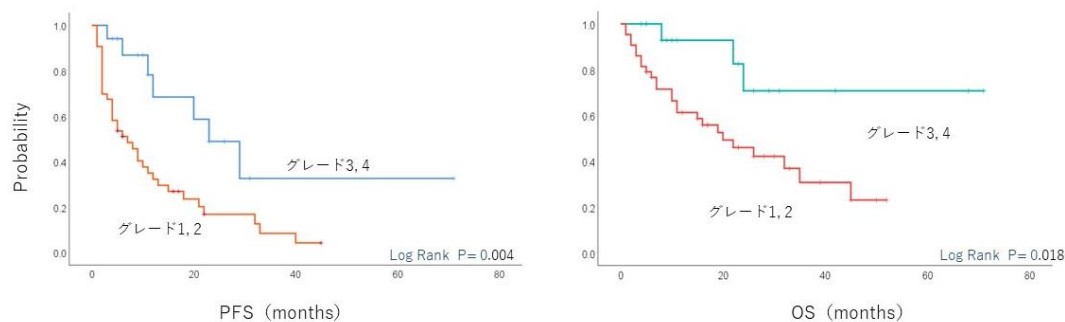
## CD8陽性T細胞の浸潤とPFS、OSの関係



(3) CD68 陽性マクロファージの浸潤は ICI 治療後の PFS、OS を延長する予後予測因子であった CD8 の染色グレード 1 とグレード 4 の組織標本の代表例を示す (図 3)。CD8 陽性 T 細胞の発現が高い症例 (グレード 3, 4 : n=17) では、PFS、OS とともに発現の低い症例 (グレード 1, 2 : n=43) と比較して有意に延長していた (図 2)。このことから、腎細胞癌組織中へのマクロファージの浸潤は免疫チェックポイント阻害剤の奏功に関係していると考えられた。一般的に腫瘍関連マクロファージは M1、M2 のサブタイプに分類することができ、我々も M2 サブタイプのマーカーである CD163 についても免疫染色を行い評価したが、CD163 の発現と奏効率、PFS、OS などに関連は認められなかった。過去の報告では腎癌におけるマクロファージの浸潤と免疫チェックポイント阻害剤治療後の予後に関する報告は少なく新たなバイオマーカーとしての可能性が見いだされた。



## CD68陽性マクロファージの浸潤とPFS、OSの関係



(4) 同一症例における免疫チェックポイント阻害剤の治療前後での免疫関連分子の変本研究では 2 例で ICI 後に縮小した原発巣を切除する Salvage Nephrectomy を施行した。そこで治療開始前の生検標本と ICI 奏功後の原発巣について各免疫関連分子の発現を評価した。その結果、ICI により縮小した病変では腫瘍組織が線維化組織に置き換わっており、免疫関連分子の発現や免疫関連細胞の浸潤は認められなかったが、一方で残存していた腫瘍組織では生検標本と比較して腫瘍内の CD8 や CD68 発現が低下しており、免疫細胞の浸潤が減少していることが認められた。この結果からも免疫チェックポイント阻害剤の効果を得るには腫瘍組織内へあらかじめ CD8 陽性 T 細胞やマクロファージといった抗腫瘍免疫にかかわる細胞が浸潤していることが重要であると考えられた。

### 〈引用文献〉

1. Bilim V et al. Double inhibition of XIAP and Bcl-2 axis is beneficial for retrieving sensitivity of renal cell cancer to apoptosis. Br J Cancer 98: 941-949, 2008.
2. Zhu J et al. Biomarkers of immunotherapy in urothelial and renal cell carcinoma: PD-L1, tumor mutational burden, and beyond. j. immunotherapy cancer 6: 4, 2018.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 風間明, 山名一寿, 結城恵里, 丸山亮, 小原健司, 富田善彦.
2. 発表標題 Nivolumab + Ipilimumab併用療法が著効した腎細胞癌症例における治療前後での免疫組織化学的検討.
3. 学会等名 日本泌尿器腫瘍学会第6回学術集会.
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	風間 明  (Kazama Akira)	新潟大学・医歯学総合病院・医員  (13101)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------