

190. 肺癌微小環境における免疫チェックポイントの機序解明

竹之山 光広

国立病院機構 九州がんセンター 呼吸器腫瘍科

Key words : 肺癌, PD-L1, 免疫チェックポイント分子, oncogenic driver, 予後

緒言

近年免疫チェックポイント分子の阻害を標的とした新たな免疫抗体療法では、肺癌でも驚くべき臨床効果が報告されており、抗 PD-1 抗体は臨床の現場で使用可能な標準薬剤となってきた。肺癌に対する特異的免疫応答の報告は少なく、肺癌の免疫原性が低いためと理解されていた。われわれは、肺癌細胞株樹立と同一症例のリンパ球から構築した autologous の実験系を用いて、自己肺癌特異的な CTL (cytotoxic T lymphocyte) が誘導可能なことを見いだしてきた。通常の培養系では CTL の誘導は困難であるが、肺癌細胞株に T 細胞の共刺激分子である CD80 分子 (B7-1) を遺伝子移入することにより、多くの症例において自己腫瘍特異的 CTL の誘導が可能であり、これらの CTL と cDNA 発現クローニング法により、肺癌においても変異抗原、癌精巢抗原、過剰発現抗原が存在し、多くの肺癌症例において腫瘍抗原を認識する CTL 前駆細胞が存在することを証明してきた。言い換えると肺癌患者の多くに腫瘍特異的免疫が存在するものの腫瘍の微小環境における免疫抑制状態により機能を発揮できなくなっていると考えられる。肺癌患者の腫瘍微小環境では T 細胞活性化経路がダウンレギュレートされていると予想され、この免疫チェックポイント分子の発現意義の解明は、今後の免疫チェックポイントの阻害治療などの免疫療法の鍵となってくると考えられる。

本研究では、腫瘍局所における免疫チェックポイント分子の発現意義、*EGFR* 遺伝子変異、*ALK* 融合遺伝子をはじめとした driver mutation の発現と、免疫抑制分子の相関および予後への影響を I 期肺腺癌完全切除例という比較的均一な集団を対象に解析することにより、肺癌の微小環境における宿主側・腫瘍側の免疫制御に関わる分子と、肺癌の臨床病理学的特徴の相関を解明し、免疫逃避メカニズムの解明とそれに基づく治療法の開発につながると考えられる¹⁻⁵⁾。

方法

当科で手術を施行した非小細胞肺腺癌病理病期 I 期完全切除例の内、解析可能であった 228 例を対象とした。oncogenic driver として、*EGFR* (direct sequence)、*K-ras* (PCR-based RFLP)、*EML4-ALK* (multiplex RT-PCR) の解析を行った。同症例で抗 PD-1 抗体 LS-B480 (Lifespan bioscience) で免疫組織化学染色を行い、発現強度および癌細胞での陽性率を評価し、高発現群と低発現群に分け、臨床病理学的因子、無再発生存率、全生存率との相関を解析した。

生存解析には Kaplan-Meier 法を使用し、有意差検定には wilcoxon 検定を使用した。また、多変量解析には COX 比例ハザードモデルを使用した。

結果

228 例の内、*EGFR* 遺伝子変異陽性が 106 例 (46.5%)、*K-ras* 変異陽性 11 例 (4.8%)、*ALK* 融合遺伝子 41 例解析中 3 例 (7.3%) に認められた。PD-L1 の発現と臨床病理学的因子 (年齢、性別、oncogenic driver の発現、pT、喫煙歴、術式) との相関を検討したところ有意な差は認められなかったが、*EGFR* wild type 122 例においては、PD-L1 高発現を T1 症例に有意に多く認めた。全症例で、PD-L1 発現は全生存率 (OS) および無再発生存率 (DFS) と相関はなかったが、*EGFR* wild type 症例では PD-L1 低発現が有意に予後不良であった。また腫瘍サイズと PD-L1 の発現が逆相関を示した。Stage IB における解析では PD-L1 低発現が独立した予後因子であった (図 1、表 1)。

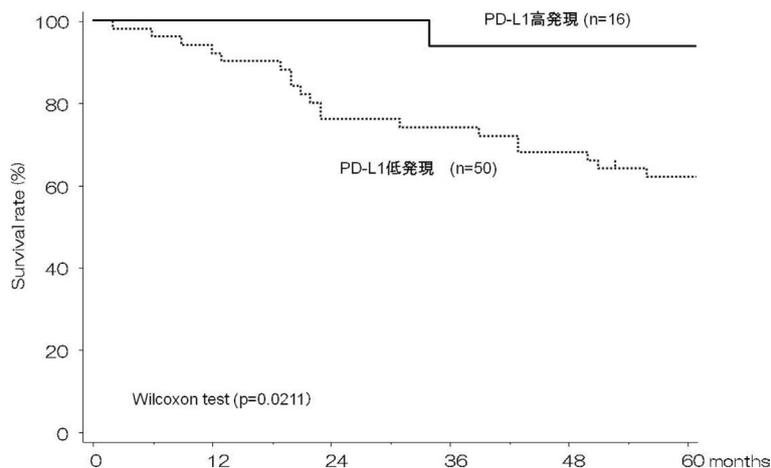


図1. Overall Survival

生存解析には Kaplan-Meier 法を使用し、有意差検定には wilcoxon 検定を使用した。

表1. IB期における予後因子（多変量解析）

因子	係数	95%CI	p値
性別：女性	0.498	0.191-1.304	0.1557
年齢：70歳未満	0.830	0.337-2.039	0.6838
術式：縮小手術	0.853	0.113-6.443	0.8773
PD-L1：高発現	0.130	0.017-0.998	0.0498

病理病期における肺癌細胞の PD-L1 発現による多変量解析。

考 察

肺癌細胞の PD-L1 発現と oncogenic driver との相関はなかったが、EGFR wild type 病理病期 I 期完全切除例という比較的均一な集団においては PD-L1 低発現が予後不良であった。さらに T2 では PD-L1 発現が低下していたことより、比較的早期の方が免疫監視機構からエスケープした PD-L1 陽性細胞が多いが、その免疫寛容の中での腫瘍の進展には PD-L1 発現維持は必須でない可能性も考えられた。特に病期 I 期の中でも進展した T2 症例（IB 期）では PD-L1 高発現例が独立した予後良好因子であり、より癌特異的免疫応答の強さを反映しているのかもしれない。今後はさらに症例蓄積するとともに、再発症例における免疫チェックポイント阻害薬の効果も含めて評価が必要と思われる。

共同研究者

本研究の共同研究者は九州大学がん先端医療応用学講座准教授の岡野慎士、九州大学大学院消化器・総合外科併任講師の岡本龍郎、同じく助教の川野大悟である。

文 献

- 1) Morodomi Y, Okamoto T, Takenoyama M, Takada K, Katsura M, Suzuki Y, Fujishita T, Kitahara H, Shimamatsu S, Kohno M, Tagawa T, Okano S, Taguchi K, Ichinose Y, Maehara Y. Clinical Significance of

- Detecting Somatic Gene Mutations in Surgically Resected Adenosquamous Cell Carcinoma of the Lung in Japanese Patients. *Ann Surg Oncol*. 2015 Aug;22(8):2593-8. doi: 10.1245/s10434-014-4218-0. Epub 2014 Nov 6. PMID: 25373537.
- 2) Ohba T, Toyokawa G, Osoegawa A, Hirai F, Yamaguchi M, Taguchi K, Seto T, Takenoyama M, Ichinose Y, Sugio K. Mutations of the EGFR, K-ras, EML4-ALK, and BRAF genes in resected pathological stage I lung adenocarcinoma. *Surg Today*. 2016 Sep;46(9):1091-8. doi: 10.1007/s00595-015-1295-z. Epub 2015 Dec 28. PMID: 26711128.
 - 3) Takenaka T, Takenoyama M, Yamaguchi M, Toyozawa R, Inamasu E, Kojo M, Toyokawa G, Yoshida T, Shiraiishi Y, Morodomi Y, Hirai F, Taguchi K, Shimokawa M, Seto T, Ichinose Y. Impact of the epidermal growth factor receptor mutation status on the post-recurrence survival of patients with surgically resected non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2015 Mar;47(3):550-5. doi: 10.1093/ejcts/ezu227. Epub 2014 Jun 3. PMID: 24894095.
 - 4) Takenaka T, Inamasu E, Yoshida T, Toyokawa G, Nosaki K, Hirai F, Yamaguchi M, Seto T, Takenoyama M, Ichinose Y. Post-recurrence survival of elderly patients 75 years of age or older with surgically resected non-small cell lung cancer. *Surg Today*. 2016 Apr;46(4):430-6. doi: 10.1007/s00595-015-1200-9. Epub 2015 Jun 13. PMID: 26070907.
 - 5) Takenaka T, Inamasu E, Yoshida T, Toyokawa G, Nosaki K, Hirai F, Yamaguchi M, Seto T, Takenoyama M, Ichinose Y. Influence of the distance between home and the hospital on patients with surgically resected non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2016 Mar;49(3):842-6. doi: 10.1093/ejcts/ezv253. Epub 2015 Jul 22. PMID: 26201956.