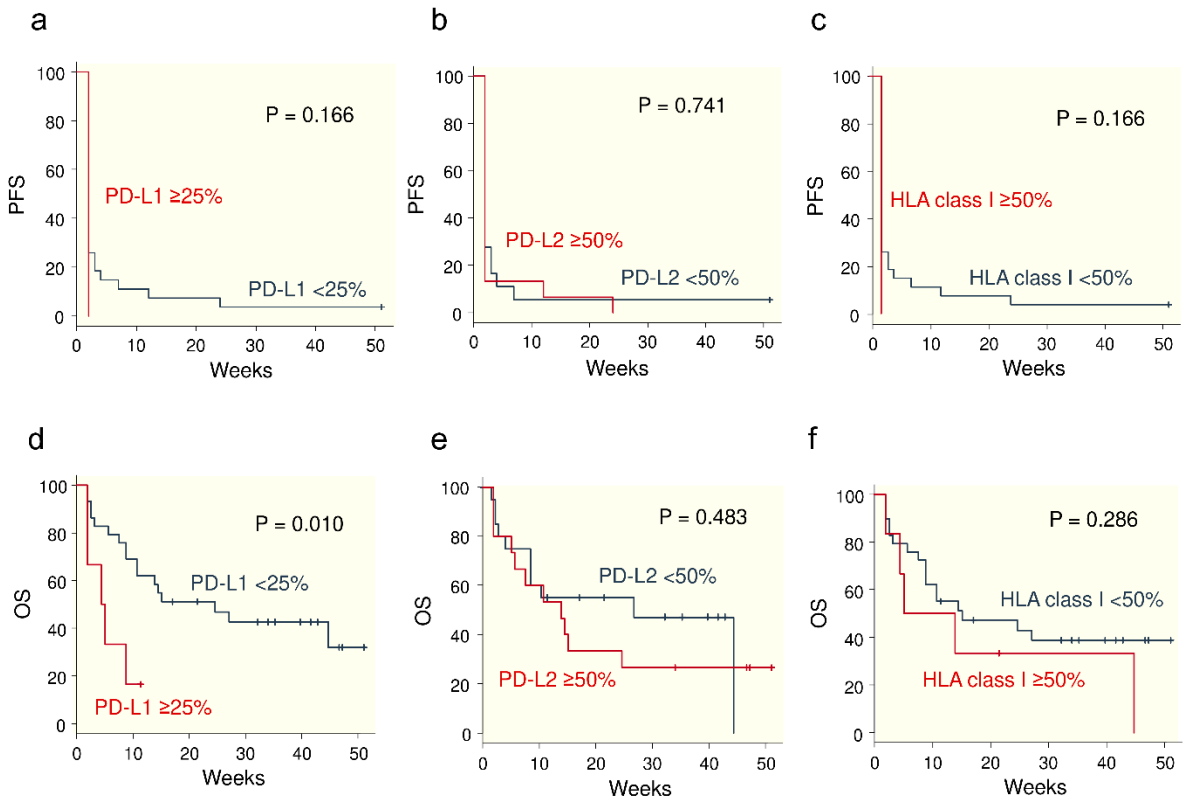
64　免疫機構を標的とした骨軟部肉腫の新規治療法の開発	土屋　弘行

【目的】がんの治療において、免疫療法が標準的治療となりつつあるが、免疫療法の効果がみられる症例は一部に限られる。本研究では、樹状細胞を用いた免疫療法を受けた肉腫患者における PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現と、免疫療法の効果の相関を検討した。

【方法】当院で樹状細胞療法を受けた肉腫患者 35 例（男性 18 例、女性 17 例、平均年齢 37.7 歳）を対象とした。対象患者は、骨腫瘍 16 例（骨肉腫 13 例、軟骨肉腫 3 例）、軟部腫瘍 19 例（明細胞肉腫 4 例、MFH/UPS 4 例、平滑筋肉腫 3 例、滑膜肉腫 2 例、ユーイング肉腫 1 例、ASPS 1 例、血管肉腫 1 例、骨外性軟骨肉腫 1 例、MPNST 1 例、上衣腫 1 例）であり、12 例で再発病変、31 例で転移性病変を認めた。これらの症例について、免疫療法前に採取した腫瘍組織における PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現を調査し、これらの分子発現と免疫療法後の免疫反応（IFN-γ、 IL-12）、治療効果、生存期間の相関を評価した。

【結果】PD-L2（＋）群は PD-L2（－）群に比べて IFN-γ、IL-12 の変化が少ない傾向がみられた。PD-L1 の発現と病勢コントロール率（CR＋PR＋SD）では、PD-L1（＋）群 0%、PD-L1（－）群 22%であった。PD-L2 の発現と病勢コントロール率（CR＋PR＋SD）では、PD-L2（＋）群 13%、PD-L2（－）群 22%であった。また、PD-L1（＋）群は PD-L1（－）群に比べて全生存率が有意に低いことが示された。一方、HLA class I の発現と免疫療法後の免疫反応、治療効果の相関は認めなかった。本研究の結果から、PD-L1、PD-L2 の発現は樹状細胞療法の効果予測におけるバイオマーカーの候補となることが示された。また、免疫チェックポイント阻害薬の併用が樹状細胞療法の効果を増強させる可能性が示唆された。

PD-L1 の発現と樹状細胞療法後の腫瘍学的転帰



64. 免疫機構を標的とした骨軟部肉腫の新規治療法の開発

土屋　弘行

金沢大学 医薬保健研究域 医学系 整形外科学講座

Key words：免疫療法，樹状細胞，肉腫，免疫チェックポイント，バイオマーカー

緒　言

手術、化学療法、放射線療法に次ぐ第四のがん治療として、免疫療法が注目されている。我々はこれまでに肉腫患者に対して樹状細胞を用いた免疫療法を臨床試験として行い、試験結果として樹状細胞療法は高い安全性を示すが、その効果は一部の患者に限られることを報告してきた［1］。

免疫療法を効率よく行うためには、有効性の高い治療法の開発、高い効果の期待できる症例を選択する方法が求められる。本研究では、免疫療法の効果に影響する因子を明らかにするために、樹状細胞療法を受けた症例について、腫瘍標本における PD-L1、PD-L2、および HLA class Ⅰの発現と、樹状細胞療法後の免疫反応、治療効果、腫瘍学的転帰の相関を評価・検討した。

方　法

1.　対象

本研究では、樹状細胞療法を受けた難治性骨軟部肉腫患者 37 例のうち、腫瘍検体における PD-L1、PD-L2、および HLA class Ⅰの発現評価が可能であった 35 例を対象とした。末梢血単核細胞を、IL-4、granulocyte colony-stimulating factor で刺激し、さらに tumor lysate、tumor necrosis factor-α、OK-432 で処理することにより分化・成熟を誘導した。これらの刺激で得られた細胞を腋窩または鼠経の皮下に注射するという治療を毎週、計 6 回行った。免疫応答の評価として、樹状細胞療法前後に IFN-γおよび IL-12 を測定した。臨床効果は Response Evaluation Criteria in Solid Tumors（RECIST）により評価した。評価可能であった 33 例中 1 例で部分奏効（PR）、5 例で安定（SD）、27 例で進行（PD）が見られた。

2. 免疫組織学的評価

腫瘍切除時に採取し、ホルマリン固定、パラフィン包埋の腫瘍組織を評価した。PD-L1、PD-L2、HLA class Ⅰの発現は、Ventana Autostainer automat（Ventana Medical Systems、Oro Valley、USA）によって評価した。抗 PD-L1（SP263、Ventana Medical Systems）、抗 PD-L2 / B7-DC（clone 176611、R&D Systems、Minneapolis、USA）、抗 HLA class Ⅰ（EMR8-5、Hokudo、Sapporo、Japan）を用いて染色した。それぞれの分子発現のカットオフ値として、PD-L1 ≥ 25%、PD-L2 ≥ 50%、HLA class Ⅰ≥ 50%の場合に陽性と判定した（図 1）。

3. 統計学的評価

腫瘍標本における PD-L1、PD-L2、HLA class Ⅰの発現と、樹状細胞療法後の病勢コントロールの相関を調査した。完全奏効（CR）、部分奏効（PR）、または安定（SD）を病勢コントロールと判定した。また、樹状細胞療法後の IFN-γ、IL-12 の上昇と PD-L1、PD-L2、HLA class Ⅰ発現との相関を、Student's t-test で評価した。PD-L1、PD-L2、HLA class Ⅰ発現と無増悪生存期間（PFS）および全生存期間（OS）との相関を、log-rank test を用いた Kaplan-Meier 法で評価した。PFS は、樹状細胞療法開始から腫瘍の進行または最終経過観察までの期間とした。OS は、樹状細胞療法開始から腫瘍よる死亡または最終経過観察までの期間とした。統計的有意性は、P 値＜0.05 を統計学的有意と判定した。統計には EZR 統計ソフトウェア（Jichi Medical University、Saitama、Japan）を使用した。

結　果

1.　PD-L1、PD-L2、HLA class Ⅰの発現

PD-L1（＋）例は 35 例中 6 例（17%）、PD-L2（＋）例は 15 例（43%）、HLA class Ⅰ（＋）例は 6 例（17%）であった（表 1）。

2.　樹状細胞療法後の免疫反応

樹状細胞療法を施行した 30 例で免疫反応を評価した（図 2）。IFN-γは PD-L1（−）例で 12.6±24.1 IU/mL、PD-L1（＋）例で 19.7±28.3 IU/mL 上昇していた。IL-12 は PD-L1（−）例で 6.8±26.3 pg/mL、PD-L1（＋）例で 29.4±50.9 pg/mL 上昇していた。PD-L1（＋）例のうち、免疫反応を評価できたのは 3 例のみであり、PD-L1 発現と免疫反応の相関は見られなかった。IFN-γは PD-L2（−）例で 19.1±24.9 IU/mL、PD-L2（＋）例で 4.7±20.9 IU/mL の上昇を認めた。IL-12 の上昇は PD-L2（−）例で 14.8±19.4 pg/mL、PD-L2（＋）例で 0.4±38.9 pg/mL 上昇していた。このように、PD-L2（＋）例は PD-L2（−）例に比べて樹状細胞療法後の IFN-γ、IL-12 上昇が少ない傾向を示した。一方、HLA class Ⅰ の発現と免疫反応の相関はみられず、HLA class Ⅰ（−）例で 13.0±25.0 IU/mL、HLA class Ⅰ（＋）例で 15.0±21.1 IU/mL の IFN-γ上昇を認め、また、HLA class Ⅰ（−）例で 6.9±27.3 pg/mL、HLA class Ⅰ（＋）例で 19.9±38.5 pg/mL の IL-12 上昇を認めた。

3.　樹状細胞療法の治療効果

病勢コントロールは PD-L1（−）例では 27 例中 6 例（22%）であり、PD-L1（＋）例では 6 例中 0 例（5%）であった（表 1）。また、PD-L2（−）例では 18 例中 4 例で病勢コントロールが得られ、PD-L2（＋）例では 15 例中 2 例（13%）であった。HLA class Ⅰ（−）例での病勢コントロールは 7 例中 1 例（17%）、HLA class Ⅰ（＋）例での病勢コントロールは 27 例中 5 例（19%）であった。

4.　腫瘍学的転帰

PD-L1（＋）の患者 6 例中 6 例で、樹状細胞療法後に腫瘍の進行を認めた。また、有意差はなかったものの、PD-L1 の発現は PFS を悪化させる傾向を認めた（図 3）。また、PD-L1（＋）例は、PD-L1（−）例に比べて有意に低い OS を示した。一方、PD-L2、HLA クラスⅠの発現と腫瘍学的転帰との相関は見られなかった。

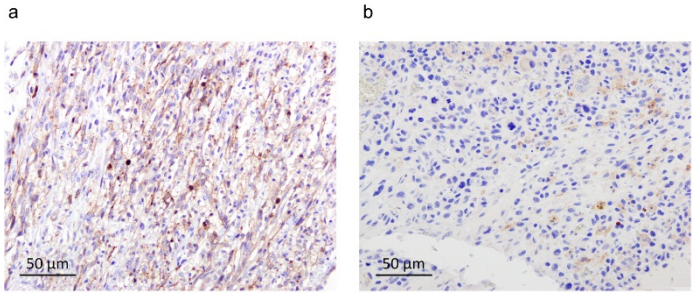


図 1.　対象患者の腫瘍組織における PD-L1 発現

a）PD-L1 陽性例

b）PD-L1 陰性例

表 1. PD-L1、PD-L2、HLA class I と樹状細胞後の病勢コントロール

	陽性例	病勢コントロール (%)
PD-L1		
≥25%	6 例	0 例 (0%)
<25%	27 例	6 例 (22%)
PD-L2		
≥50%	15 例	2 例 (13%)
<50%	18 例	4 例 (22%)
HLA class I		
≥50%	6 例	1 例 (17%)
<50%	27 例	5 例 (19%)

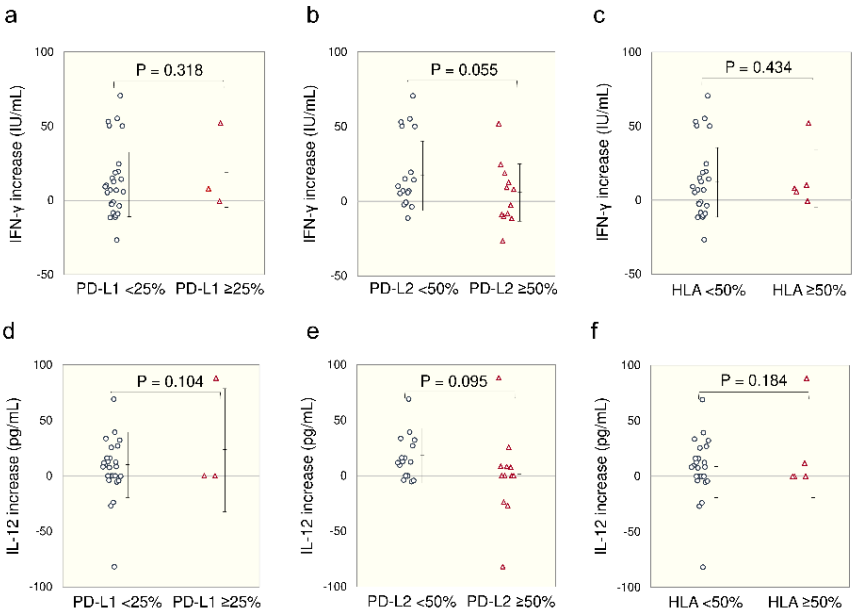


図 2. 樹状細胞療法後の免疫反応と PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現

a) PD-L1 の発現と樹状細胞療法後の IFN-γ上昇。

b) PD-L2 の発現と樹状細胞療法後の IFN-γ上昇。

c) HLA class I の発現と樹状細胞療法後の IFN-γ 上昇。

d) PD-L1 の発現と樹状細胞療法後の IL-12 上昇。

e) PD-L2 の発現と樹状細胞療法後の IL-12 上昇。

f) HLA class I の発現と樹状細胞療法後の IL-12 上昇。

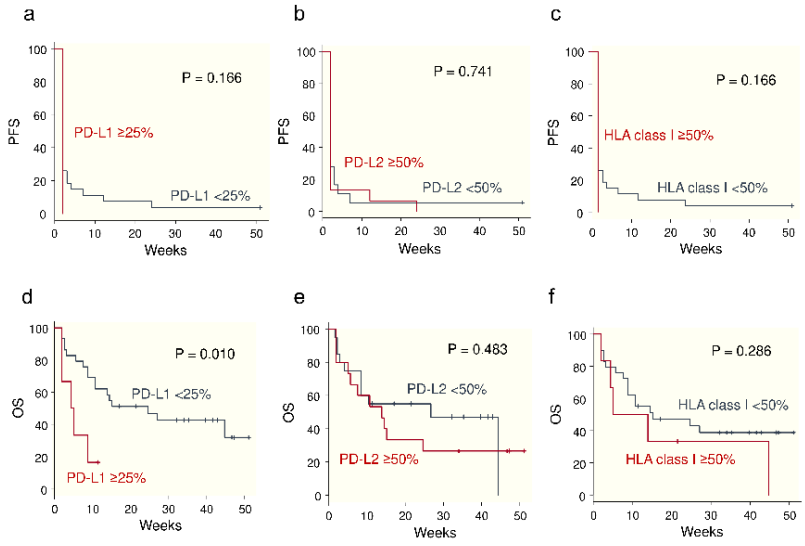


図 3. PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現と腫瘍学的転帰

a) PD-L1 発現と無増悪生存率。
b) PD-L2 発現と無増悪生存率。
c) HLA class I 発現と無増悪生存率。
d) PD-L1 発現と全生存率。
e) PD-L2 発現と全生存率。
f) HLA class I 発現と全生存率。

考　察

本研究は肉腫患者における PD-L1、PD-L2、HLA class I の発現と、樹状細胞療法後の免疫反応、治療効果、転帰の相関を調査した初の研究である。本研究において、PD-L2（＋）例で樹状細胞療法後の免疫反応が少ない傾向があり、PD-L1（＋）例で全生存期間、無増悪生存期間が低いことが示された。これらの結果から、樹状細胞療法の単独治療は PD-L1、PD-L2 陽性例では効果が期待しにくいこと、免疫チェックポイント阻害薬との併用が樹状細胞療法の治療成績を改善する可能性が示唆された。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、金沢大学大学院医学研究科整形外科学研究室の三輪真嗣である。

文　献

1) Miwa S, Nishida H, Tanzawa Y, Takeuchi A, Hayashi K, Yamamoto N, Mizukoshi E, Nakamoto Y, Kaneko S, Tsuchiya H. Phase 1/2 study of immunotherapy with dendritic cells pulsed with autologous tumor lysate in patients with refractory bone and soft tissue sarcoma. Cancer. 2017 May 1;123(9):1576-1584. doi: 10.1002/cncr.30606. Epub 2017 Feb 27. PMID: 28241093