

尿路上皮癌の再発・進展および治療における 予測因子としてのpd-1発現の有用性の検討

慶應義塾大学 泌尿器科学教室

助教 早川 望

(共同研究者)

慶應義塾大学 泌尿器科学教室 専任講師 菊地 栄次

慶應義塾大学 泌尿器科学教室 教授 大家 基嗣

慶應義塾大学 病理診断科 専任講師 三上 修治

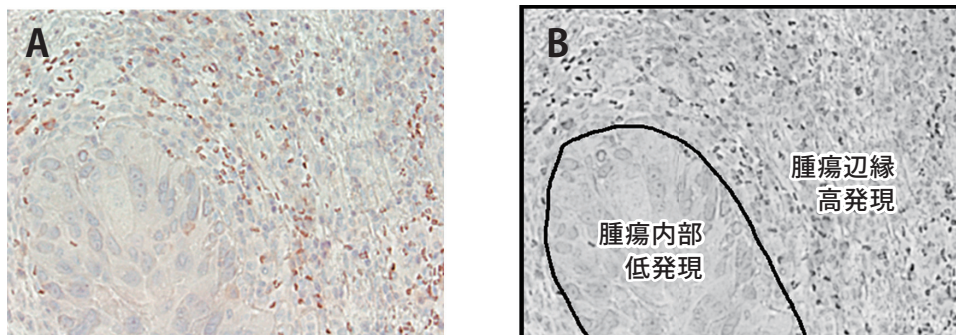
はじめに

尿路上皮癌において免疫チェックポイント阻害剤である抗PD-1、PD-L1抗体が新規治療薬として期待されている。PD-1はT細胞表面に発現しており、癌細胞はそのリガンドであるPD-L1を発現することで、免疫逃避を獲得している。PD-1発現が予後不良と関係していることは、いくつかの癌腫で既に報告されているが、上部尿路上皮癌では、PD-1発現の臨床的意義や治療効果との関連は未だに十分には検討されていない。以上より、今回、上部尿路上皮癌におけるPD-1発現の役割につき検討した。過去20年間に当院で上部尿路上皮癌に対して腎尿管全摘除術を施行した181例を対象とし、切除検体のPD-1発現を免疫染色法にて評価した。PD-1発現は、腫瘍辺縁および腫瘍内部とそれぞれ400倍視野下で陽性細胞をカウントし、高発現群と低発現群に分類した(図1)。

図1 PD-1による免疫染色

A: 400倍率でのPD-1発現

B: Aのシェーマ



結 果

泌尿器病理医に各症例におけるkey slideを選定してもらい、40倍にて最もPD-1発現が多い部位を決定した上で、400倍にてカウントした。その結果、平均陽性個数は腫瘍内部で2個、腫瘍辺縁では11個であった。カットオフ値の設定にはX-tile softwareを使用し、腫瘍内部では10個以上を高発現、腫瘍辺縁では8個以上を高発現と定義した。

PD-1発現は腫瘍辺縁において高発現群が103例(56.9%)、低発現群が78例(43.1%)であった。一方、腫瘍内部において高発現群が44例(24.3%)、低発現群が137例(75.7%)であった。

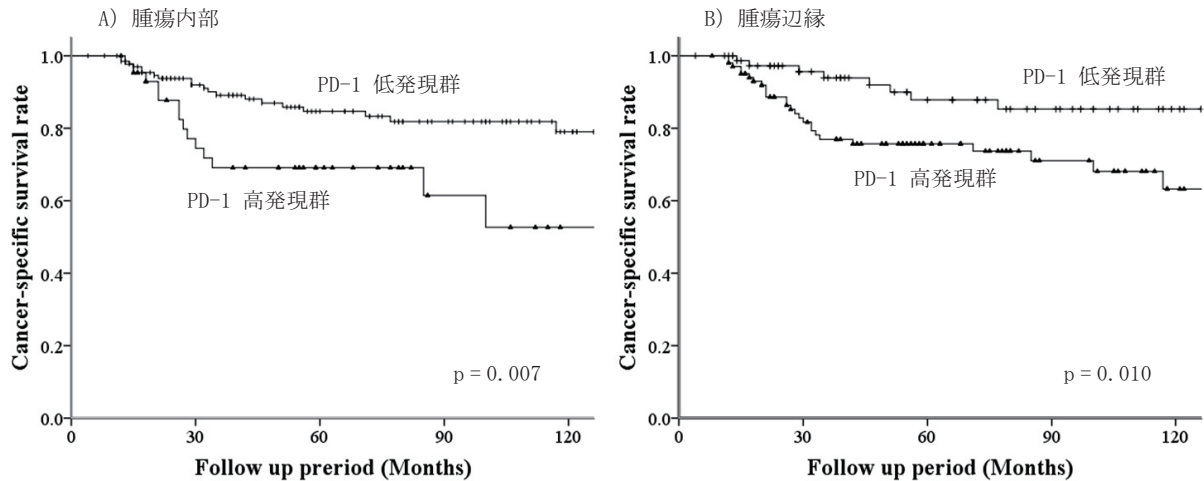
χ^2 検定での解析の結果、腫瘍辺縁のPD-1高発現は、high grade ($p=0.002$)、 $\geq pT2$ ($p<0.001$) および壁内脈管侵襲陽性 ($p=0.003$) と有意に関連を認めた。一方、腫瘍内部のPD-1高発現はhigh grade ($p=0.012$) および $\geq pT2$ ($p=0.005$) と有意に関連を認めた。(図2)

図2 PD-1発現と関連のある病理学的因子

	腫瘍内部			腫瘍辺縁		
	Weak (n=137)	Strong (n=44)	P 値	Weak (n=78)	Strong (n=103)	P 値
Grade(high)	91(66.4%)	38(86.4%)	0.012	46(59.0%)	83(80.6%)	0.002
pT stage(T2 \leq)	70(51.1%)	33(75.0%)	0.005	31(39.7%)	72(69.9%)	<0.001
LVI(positive)	59(43.1%)	20(45.5%)	-	24(30.8%)	55(53.4%)	0.003

フォロー期間中に全患者のうち34名(18.8%)が癌死し、全体の5年癌特異的生存率は80.8%であった。腫瘍内部では、PD-1高発現群、低発現群においてそれぞれ14名(31.8%)および20名(14.6%)が癌死した。一方、腫瘍辺縁では同様に、それぞれ26名(25.2%)および8名(10.3%)が癌死した。Kaplan-Meier法の解析にて、腫瘍内部のPD-1高発現群の5年癌特異的生存率は69.1%で、PD-1低発現群と比べ有意に低かった(84.7%, $p=0.007$)。腫瘍辺縁のPD-1高発現群の5年癌特異的生存率は75.7%で、PD-1低発現群と比べ有意に低かった(87.8%, $p=0.010$)。(図3)

図3 PD-1 発現による癌特異生存率の比較



Cox回帰分析による単変量解析では、pT stage (p=0.001)、Grade (p=0.019)、壁内脈管侵襲 (p<0.001)、併存CIS (p=0.043)、腫瘍辺縁のPD-1高発現 (p=0.013) および腫瘍内部のPD-1高発現 (p=0.009) が癌死と関連していた。さらに多変量解析では、腫瘍内部のPD-1高発現 (HR; 2.44, p=0.011) が壁内脈管侵襲陽性 (HR; 4.03, p<0.001) とともに独立して上部尿路上皮癌死と関連していた。(図4)

図4 上部尿路上皮癌患者における癌特異的生存率に関する因子の解析

	単変量	多変量		
	P value	Hazards Ratio	95% CI	P value
年齢	0.498			
性別	0.857			
Grade (high vs low)	0.019			
pT stage (<T2 vs T2≤)	<0.001			
壁内脈管侵襲の有無	<0.001	4.03	1.91-8.48	<0.001
腫瘍内部のPD-1発現の高低	0.009	2.44	1.22-4.88	0.011
腫瘍辺縁のPD-1発現の高低	0.013			
併存CISの有無	0.043			

考 察

今回の研究では、単一施設にて上部尿路上皮癌に対して腎尿管全摘除術を施行した181例を対象とし、腫瘍内部および腫瘍辺縁におけるPD-1発現陽性細胞が予後に与える影響に関して後方視的に評価した。

PD-1発現が予後良好と関連があるとの報告もある一方で^(1, 2)、乳癌^(3, 4)、上咽頭癌⁽⁵⁾、および腎細胞癌⁽⁶⁾などいくつかの癌腫においては腫瘍浸潤リンパ球の発現と予後不良との関連性が数多く報告されている。また、膀胱癌においても、PD-1発現の臨床転帰への影響を評価した報告はある。Boorjian ら⁽⁷⁾は、膀胱全摘術を受けた318例の検討にて、検体内にPD-1陽性の腫瘍浸潤リンパ球を認めた症例ほど病理学的病期が進んでいたことを報告している。Xylinas ら⁽⁸⁾は、膀胱全摘術を受けた302例の腫瘍組織および隣接正常組織におけるPD-1発現を評価し、腫瘍組織の65%がPD-1を発現する一方で正常組織はPD-1を発現しないことを示した。また同時に、これら二つの論文においては、PD-1発現が予後と関連していないことも示されている。しかしながら、今回の研究では、腎尿管全摘術を施行した上部尿路上皮癌患者において、PD-1の高発現と癌死亡率との関連を認めた。我々は、当初の段階で、PD-1の発現が腫瘍内部と腫瘍辺縁にて必ずしも同一ではないことに気付いたことから、PD-1の発現につき腫瘍内部と辺縁で別々に評価することとした。同様に免疫関連細胞の存在を腫瘍内部および周囲と別個に評価をしている報告は散見される。Krpinaら⁽⁹⁾は、低悪性度の孤立性筋層非浸潤性膀胱癌115症例の検討にて、腫瘍浸潤リンパ球は主に間質に存在し腫瘍自体にはほとんど存在しないことを報告している。膀胱癌患者69例において、CD8陽性の細胞を腫瘍巣および間質領域内で別々に評価したSharmaら⁽¹⁰⁾の報告では、腫瘍巣内に8個以上のCD8陽性細胞を有する患者が、8個未満の患者よりも有意に良好な生存期間を有することが示されている。これらの結果より、我々は、免疫関連細胞は腫瘍巣および腫瘍巣周囲の辺縁で別々に評価される必要があると考え、PD-1発現陽性細胞を腫瘍内部および辺縁でそれぞれ評価し、腫瘍内のPD-1の高発現が癌特異生存率の独立した予測因子であることを認めた。

進行した上部尿路上皮癌患者、特にPD-1高発現を有する患者は、本研究に示されるように臨床転帰が不良であることが示唆されることから、今後適応になるだろうPD-1 / PD-L1抗体の治療効果をより期待したいところである。そのために、今後、腫瘍内のPD-1発現がPD-1 / PD-L1抗体の治療効果に関する予測因子となりうるかを評価する研究が必要であると考えらる。

要 約

今回、上部尿路上皮癌における腫瘍内部および辺縁におけるPD-1発現の臨床学的意義につき後方視的に検討した。その結果、腫瘍内部におけるPD-1の高発現は、high gradeおよびpT2<と関連があり、一方腫瘍辺縁においては、high grade、pT2<および壁内脈管侵襲陽性と関連があることがわかった。さらに、腫瘍内部のPD-1高発現は、切除可能な上部尿路上皮癌において有用な予後予測因子であることが示唆された。

文 献

1. Darb-Esfahani S, Kunze CA, Kulbe H, Sehouli J, Wienert S, Lindner J, et al. Prognostic impact of programmed cell death-1 (PD-1) and PD-ligand 1 (PD-L1) expression in cancer cells and tumor-infiltrating lymphocytes in ovarian high grade serous carcinoma. *Oncotarget*. 7;1486-99: 2016
2. Badoual C, Hans S, Merillon N, Van Ryswick C, Ravel P, Benhamouda N, et al. PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer. *Cancer Reserch*. 73;128-38:2013.
3. Muenst S, Soysal SD, Gao F, Obermann EC, Oertli D, Gillanders WE. The presence of programmed death 1 (PD-1) -positive tumor-infiltrating lymphocytes is associated with poor prognosis in human breast cancer. *Breast Cancer Reserch and Treatment*. 139;667-76.:2013
4. Sun S, Fei X, Mao Y, Wang X, Garfield DH, Huang O, et al. PD-1 (+) immune cell infiltration inversely correlates with survival of operable breast cancer patients. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 63;395-406: 2014.
5. Zhang J, Fang W, Qin T, Yang Y, Hong S, Liang W, et al. Co-expression of PD-1 and PD-L1 predicts poor outcome in nasopharyngeal carcinoma. *Medical Oncology*. 32;86: 2015.
6. Kang MJ, Kim KM, Bae JS, Park HS, Lee H, Chung MJ, et al. Tumor-infiltrating PD1-Positive Lymphocytes and FoxP3-Positive Regulatory T Cells Predict Distant Metastatic Relapse and Survival of Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Translational Oncology*. 6;282-9:2013.
7. Boorjian SA, Sheinin Y, Crispen PL, Farmer SA, Lohse CM, Kuntz SM, et al. T-cell coregulatory molecule expression in urothelial cell carcinoma: clinicopathologic correlations and association with survival. *Clinical Cancer Research*. 14;4800-8:2008.
8. Xylinas E, Robinson BD, Kluth LA, Volkmer BG, Hautmann R, Kufer R, et al. Association of T-cell co-regulatory protein expression with clinical outcomes following radical cystectomy for urothelial carcinoma of the bladder. *European Journal of Surgical Oncology*. 40;121-7:2014.
9. Krpina K, Babarovic E, Jonjic N. Correlation of tumor-infiltrating lymphocytes with bladder cancer recurrence in patients with solitary low-grade urothelial carcinoma. *Virchows Archiv*. 467;443-8:2015.
10. Sharma P, Shen Y, Wen S, Yamada S, Jungbluth AA, Gnjatic S, et al. CD8 tumor-infiltrating lymphocytes are predictive of survival in muscle-invasive urothelial carcinoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104;3967-72:2007.