

【20】

氏 名	福 田 武 彦
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	乙第771号
学位授与の日付	平成29年10月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Higher preoperative serum levels of PD-L1 and B7-H4 are associated with invasive and metastatic potential and predictable for poor response to VEGF-targeted therapy and unfavorable prognosis of renal cell carcinoma (PD-L1およびB7-H4の術前血清中濃度高値は腎細胞癌の浸潤能・転移能と関連し、VEGF標的治療への反応が不良であり、予後不良を予測するものである。)
論文審査委員	(主査) 教授 加 藤 広 行 (副査) 教授 白 瀧 博 通 教授 井 川 健

論 文 内 容 の 要 旨

【背 景】

腎細胞癌（RCC：renal cell carcinoma）の発生率は増加しており、成人悪性腫瘍の2～3%を占めている。約40%のRCC患者は転移により死亡しており、遠隔転移を来していれば予後は不良である。腎細胞癌の約70%を占める淡明細胞癌（ccRCC：Clear cell renal cell carcinoma）は典型的な免疫原性腫瘍である。T細胞は悪性腫瘍に対する宿主免疫反応において重要な役割があり、免疫療法によって治療される腫瘍の一つである。サイトカインは、エフェクターT細胞と制御性T細胞の増殖と分化のために必要であり、さまざまなサイトカインがいずれの方向や双方向にさえも同時に効果を及ぼす事が知られている。また、ccRCCが特定の腫瘍血管構造を誘導する血管内皮増殖因子（VEGF：vascular endothelial growth factor）が関与する事が明らかにされ、VEGF阻害薬が導入されたが、ほとんどの腫瘍において、次第に治療抵抗性となってしまう。そこで、抗細胞傷害性Tリンパ球関連抗原4（CTLA4）抗体および抗プログラム細胞死1（PD-1）/PD-リガンド1（PD-L1）抗体を含めた新規免疫治療法に対する関心が高まってきている。

【目 的】

近年腫瘍進展についての理解が深まり、新規免疫治療として免疫チェックポイントを阻害する治療

法に焦点が当てられてきている。B7ファミリーおよびCD28ファミリーは、免疫反応を正または負に調整する因子を活性化および阻害することによって、免疫チェックポイントにおいて重要な役割を果たしている。これまでRCCを含むヒト癌におけるB7ファミリーの役割は、組織標本を用いて検討されてきた。しかし、術前から血液サンプルを得ることの方が、組織を採取することよりも非侵襲的であることから、血中の因子を測定することが治療法の選択に役立つとともに、治療期間中の腫瘍の進行や免疫反応の評価に役立つと考え、ccRCC患者におけるB7ファミリーとCD28ファミリー受容体の血清中濃度を測定することがccRCCの治療選択に有用であるか検討する事とした。

【対象と方法】

本研究はccRCCと病理組織学的に診断され、腎摘出を2007年6月から2014年6月の間に当施設で施行した患者181名（男性109名および女性72名）を対象とした。非転移患者118名と転移患者63名に対し、いずれも腎摘術を施行した。転移性患者63名に対してはアジュバント療法とし第一選択療法としてスニチニブの投与が行われた。疾患進行・無増悪無反応・副作用増悪等に対しては第二選択療法としてアキシチニブを開始した。術後の追跡調査期間は、3ヶ月から100ヶ月（中央値31ヶ月）で、腫瘍の悪性度および臨床病期分類は、それぞれFuhrmanの異型度分類とTNM分類に従って決定した。また対照として、健常対照者25名（男性14名および女性11名、年齢22-73歳）から血清サンプルを得た。各サンプルは分析まで-80℃で保管し、ELISA法にて測定を行った。測定値は、一つのサンプルに対し3回測定し、その平均値を用いて統計分析を行った。本研究はヘルシンキ宣言に従って実施され、獨協医科大学病院の病院内倫理委員会の承認を得て行われ、病院内人権委員会による承認を得、同意書に署名をしていただいた。

【結 果】

ccRCC患者におけるPD-L1・B7-H4およびVEGFの術前血清中濃度は健常対照者の濃度に比べて有意に高く、ccRCC患者におけるB7-H4またはPD-L1とVEGFとの相関関係はそれらの高発現レベルで確立され、特に転移性疾患では有意に相関関係があることが示された。PD-L1・PD-L1・B7-H4およびVEGFの術前血清中濃度は、ccRCCの浸潤能および転移能と有意に相関を示した。PD-L1およびB7-H4の術前血清中濃度が高い患者は、VEGF標的療法への反応が不良であり、多変量解析によれば全生存期間において短期であった。PD-L1の術前血清中濃度高値は、多変量解析により腎摘除後の早期再発と相関していた。また、低分化度・局所浸潤・顕微鏡的血管浸潤・PD-L1・B7-H4およびVEGFが単変量解析によって腎摘除後の早期再発に有意に相関したにもかかわらず、多変量解析において有意であったものはPD-L1および低分化度のみであった。

【考 察】

今回の調査から、B7ファミリー分子の血清中濃度がccRCCの生物学的特徴の把握、ならびにVEGF標的療法と生存に対する反応予測に有用であることが示された。われわれはVEGF発現増大を伴う腫瘍が免疫機能を抑制する機能を有し、腫瘍誘導性のPD-L1、B7-H4およびVEGFは免疫細胞を局所的に不活性化する可能性があるとの仮説を立てた。一方、FrigolaらはPD-L1・B7-H4およびVEGF陽性の腫瘍部位を通じての免疫細胞の再循環、または生物学的に活性化した可溶性PD-L1・B7-H4および

VEGFの循環系への放出のいずれかによる全身作用は除外できないと示唆したことから、両方のシナリオが広範な免疫抑制に寄与する可能性が考察できた。

本研究の結果は小規模のものであるため、今後更なる研究が必要であり、さらに症例数を増やした前向き比較対照臨床試験が求められる。生体マーカーが固定的でないと考えられることから、個々に合った方法で治療を調整し、治療期間中の腫瘍の進行と免疫反応を評価するために、原発腫瘍中のPD-L1、B7-H4およびVEGFの発現の調査に加えて、より大規模な前向き試験で腫瘍の進行と患者の状態の双方を把握するために、血清中濃度が重要であると考えられる。可溶性のT細胞制御分子の放出は、腫瘍が全身性抗腫瘍免疫を阻害することによる機序であるという仮説を受け入れる場合、可溶性T細胞制御分子の血清中濃度がccRCC患者のT細胞を標的とする免疫療法の効果を予測するための生体マーカーとして使用できるか否かについて確認することも重要である。血管の発達を促進する場合やccRCCにおける宿主免疫と腫瘍血管構造に対する並列効果によって免疫反応を抑制する場合の、血管新生因子に対抗する能力の基本的なメカニズムを評価するためには、さらなる調査が必要である。

【結 論】

ccRCCにおいて、術前血清中のPD-L1・B7-H4・VEGF濃度を測定する事により、治療効果と予後を推測できる可能性があり、治療効果と予後予測の有用な指標となりうる。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

【論文概要】

腎細胞癌の発生率は増加しており、約40%の腎細胞癌患者は転移により死亡しており、予後が不良な癌の一つである。腎細胞癌の約70%を占める淡明細胞型腎細胞癌(ccRCC: clear cell renal cell carcinoma)は典型的な免疫原性腫瘍であり、T細胞は悪性腫瘍に対する宿主免疫反応において重要な役割があり、免疫療法によって治療される腫瘍の一つである。また、ccRCCの進展には腫瘍血管構造を誘導する血管内皮増殖因子(VEGF: vascular endothelial growth factor)が関与する事が明らかにされ、VEGF阻害薬が導入されたが、ほとんどの腫瘍において、次第に治療抵抗性となってしまいう事が知られている。そこで、新規免疫治療として免疫チェックポイントを阻害する治療法が登場した。B7ファミリーおよびCD28ファミリーは、免疫チェックポイントにおいて重要な役割を果たしている。これまでRCCを含むヒト癌におけるB7ファミリーの役割は、病理学的組織あるいは免疫染色において検討されてきたが、術前血清中濃度を測定し検討した報告はほとんどない。そこで術前血清中濃度を測定することが治療法の選択に役立つと考え、ccRCC患者におけるB7ファミリーとCD28ファミリー受容体の血清中濃度を測定し、検討する事とした。

2007年6月から2014年6月までに術前に腎細胞癌と診断され、腎摘出を施術後ccRCCと診断された181名(男性109名および女性72名)を対象とした。非転移患者は118名、転移患者は63名である。転移患者63名に対してはアジュバント療法とし第一選択療法としてスニチニブの投与が行われた。疾患進行・副作用増悪等に対しては第二選択療法としてアキシチニブに変更した。術後の追跡

調査期間は、3ヵ月から100ヵ月（中央値31ヵ月）であった。各サンプルはELISA（enzyme-linked immune-sorbent assay）にて測定を行った。

ccRCC患者におけるPD-L1、B7-H4およびVEGFの術前血清中濃度は健常対象者の濃度に比べて有意に高く、B7-H4またはPD-L1とVEGFとは有意に正の相関関係があることが確認された。特に、遠隔転移を有するccRCC患者において有意に相関関係があることが示された。PD-1、PD-L1、B7-H4およびVEGFの術前血清中濃度は、ccRCCの浸潤能および転移能と有意に関係していた。PD-L1およびB7-H4の術前血清中濃度が高い患者は、VEGF標的療法への反応が不良であり、全生存期間に関しても多変量解析において独立した因子であった。腎摘除後の早期再発に関しては低分化度、局所浸潤、顕微鏡的脈管浸潤、PD-L1、B7-H4およびVEGFが単変量解析により相関を認め、多変量解析においてはPD-L1および低分化度のみが独立した予後因子であった。

この検討より、ccRCCにおいて術前血清中のPD-L1、B7-H4およびVEGF濃度を測定する事により、治療効果と予後を推測できる可能性があり、治療効果と予後予測の有用な指標となりうることが示唆された。今後はさらに症例数を増やし、血清中濃度と原発腫瘍中のPD-L1、B7-H4およびVEGFの発現を比較・検討することに加えて、血清中濃度を経時的に測定する検討も必要であると考えられた。

【研究方法の妥当性】

対象は、術前にCT・MRI等の画像診断を行い、腎細胞癌と診断され、腎摘後病理診断において淡明細胞型腎細胞癌（ccRCC）と診断された181例である。TNM分類に沿って術前検査を行い、非転移患者は118名、転移患者は63名である。転移患者63名に対してはアジュバント療法とし第一選択療法としてスニチニブ、第二選択療法としてアキシチニブを使用している。術前に採取された血清を用い、経験豊富な研究員指導のもとELISA法にて正確に測定されている。本研究はヘルシンキ宣言に従って実施され、全例インフォームドコンセントの取得及び生命倫理委員会の承認を得ている。

【研究結果の新奇性・独創性】

ccRCCにおける薬物療法として、インターフェロンやインターロイキン等のサイトカイン療法に加え、抗VEGF薬療法が導入されたが、十分な効果を上げているとは言えない状況にある。そこで、近年免疫チェックポイントをターゲットとした治療法が登場し、注目されている。現在原発巣（癌部）から採取された組織内でのCTLA-4、PD-1およびPD-L1のようなB7ファミリー分子やVEGFについて多く検討・報告されているが、術前血清を用いたそれらの検討はほとんどなされていない。申請論文ではccRCCにおいて術前血清中B7-H4、PD-L1およびVEGF濃度が高値であったことを報告した。さらに、PD-L1およびB7-H4の術前血清中濃度が高い患者は、VEGF標的療法への反応が不良であり、全生存期間に関しても多変量解析において生存期間が短い結果が得られたことも報告した。今回の検討より、術前血清中PD-L1とB7-H4およびVEGF濃度は治療法選択の指標となる可能性があり、予後予測モデルを提供できる可能性があると考えられている。これらの点において本研究は新奇性と独創性に優れた研究と評価できる。

【結論の妥当性】

申請論文は、181症例に対し術前のB7ファミリー、CD28ファミリー、VEGF血清濃度を測定し、

臨床病理学的因子における相関、生存期間、再発までの期間等への影響に対し統計解析を行っており、B7-H4およびPD-L1が治療効果と予後予測の有用な指標となりうるかを検討している。そこから導き出された結論は、論理的に矛盾するものではなく、また、腫瘍学など関連領域における知見を踏まえても妥当なものである。

【当該分野における位置付け】

申請論文では、術前血清中B7-H4、PD-L1およびVEGF濃度はバイオマーカーとしての可能性があり、予後予測モデルを提供できる可能性を明らかにしている。これらの研究成果は泌尿器科学領域において新たな知見であり、腫瘍学の基礎的研究にも寄与し、今後の進歩に大いに貢献する意義深く優れた研究と評価できる。

【申請者の研究能力】

申請者は、泌尿器科学や生化学の理論と実践を学んだ上で、作業仮説を立て、実験計画を立案した後、適切に本研究を遂行し貴重な知見を得ている。その結果を国際誌に発表しており、申請者の研究能力は高いと評価できる。

【学位授与の可否】

本論文は独創的で質の高い研究内容を有しており、当該分野における貢献度も高い。よって博士(医学)の学位授与に相応しいと判断した。

(主論文公表誌)

Cancer Medicine

5 : 1810-1820, 2016