

## 【27】

氏 名	ぬく い あき のり 貫 井 昭 徳
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	乙第778号
学位授与の日付	平成30年2月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項
学位論文題目	Increased serum level of soluble interleukin-2 receptor is associated with a worse response of metastatic clear cell renal cell carcinoma to interferon alpha and sequential VEGF-targeting therapy (血清可溶性IL-2受容体値上昇は転移性淡明腎細胞癌に対するIFN $\alpha$ とVEGF標的治療の効果不良と関連する)
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】

淡明腎細胞癌（clear cell renal cell carcinoma：ccRCC）は腫瘍内に種々のT細胞を含む典型的な免疫原性腫瘍である。T細胞より血中に放出された可溶性IL-2受容体（sIL-2R）はCD4陽性制御性T細胞（CD4+ Treg）を活性化させ、免疫寛容に関与する。一方、免疫寛容に関与するprogrammed cell death 1（PD-1）とPD-1-ligand 1（PD-L1）の相互作用はCD4+Tregの産生に関わっており、また腫瘍におけるPD-L1の発現はRCCの増殖に関与するphosphatidylinositol 3'kinase（PI3K）/Akt/mammalian target of rapamycin（mTOR）経路の活性化を導くとされる。以上よりsIL-2RはRCCにおけるバイオマーカーになる可能性があるが、その役割は解明されていない。

#### 【目的】

腎摘除術後インターフェロン $\alpha$ （IFN $\alpha$ ）治療と引き続いて行った血管内皮増殖因子（vascular endothelial growth factor：VEGF）標的治療を受けた転移性ccRCC（mccRCC）患者の血清中のsIL-2RとPD-L1および原発巣のphosphorylated Akt（pAkt）発現を測定し、治療効果や生存率との関連を明らかにすることを目的とした。

#### 【対象と方法】

本研究は獨協医科大学生命倫理審査委員会の承認を得て実施した。腎摘除術を受け、mccRCC

(metastatic ccRCC) と診断された47人(男性32人、女性15人)を対象とした。第一選択薬としてIFN  $\alpha$  (300~600万単位/週2あるいは3回投与)を投与した。不応となった患者に第二選択薬としてIFN  $\alpha$  +低用量ソラフェニブ(400mg/日、推奨開始用量の50%)を投与した。さらに不応となった患者に第三選択薬としてアキシチニブ(10mg/日)を投与した。1~3ヵ月毎に血清中sIL-2Rを測定した。また術前の血清中PD-L1を測定した。原発巣のpAkt (Ser-473)の発現量をウェスタンブロッティング法を用いて測定した。治療効果はRECISTの基準により、complete response (CR)、partial response (PR)、stable disease (SD)、progressive disease (PD)に分類した。

## 【結 果】

術前の血清中sIL-2Rは $601.5 \pm 503.8$  (平均 $\pm$ S.D.) U/ml (正常値135.0~483.0U/ml)であり、低分化癌、局所浸潤、リンパ節転移、脈管浸潤を有する患者で上昇していた。第一選択薬、第二選択薬、第三選択薬が有効であったのはそれぞれ47人中6人、41人中19人、20人中9人であった。

いずれかの治療が有効であった群における術前の血清中sIL-2Rはいずれの治療法にも無効であった群と比較すると有意に低値であった ( $p=0.0046$ )。血清中sIL-2Rの経時的推移と治療に対する反応性について検討すると、PDの場合は血清中sIL-2Rは増加し、SDの場合は不変、PRおよびCRの場合は不変あるいは低下を示す傾向にあった。術前の血清中sIL-2RはpAkt (Ser-473) およびPD-L1と正の相関を示した ( $r^2 = 0.59$ ,  $p=0.00003$ ,  $r^2 = 0.54$ ,  $p=0.00009$ )。原発腫瘍のpAkt (Ser-473) 発現増加と術前の血清中PD-L1増加はIFN  $\alpha$  治療およびその後のVEGF標的治療の効果不良と関連していた ( $p=0.0021$ ,  $p=0.00004$ )。

対象となった47人全体の全生存期間の中央値は31.9ヶ月であった。第一、第二、第三選択薬いずれかに効果があった患者といずれの治療にも効果が不良であった患者の全生存期間中央値は47.2ヶ月と11.9ヶ月であった ( $p=0.0033$ )。術前血清中sIL-2R高値群では低値群に比べ、生存期間が短い結果が得られた ( $p=0.00007$ )。血清中sIL-2R高値、血清中PD-L1高値、pAkt (Ser-473) 発現高値、未分化癌、リンパ節転移群においては単変量解析では全て生存期間が短くなる結果が得られたが、多変量解析では血清中sIL-2R高値と血清中PD-L1高値のみが関連をみとめた。

## 【考 察】

我々は以前、腎癌原発巣におけるpAkt (Ser-473) 発現は浸潤能、転移能や予後不良と関連し、またIFN  $\alpha$  +低用量ソラフェニブの治療効果不良と関連することを明らかにしてきた。本研究では術前血清中sIL-2Rは原発巣におけるpAkt (Ser-473) 発現と正の相関を示し、血清中sIL-2R高値群とpAkt (Ser-473) 高値群はIFN  $\alpha$  治療とその後のVEGF標的治療の効果不良と関連することが示された。これらのことより血清中sIL-2RはIFN  $\alpha$  とVEGF標的治療の効果予測に有用であるだけでなく、ccRCCの進展や生物学的特徴の評価に利用できる可能性があることが示唆された。今回sIL-2RとpAkt (Ser-473)の相互作用や腫瘍の進展におけるsIL-2Rの直接的役割については検討していないため、今後検討する必要がある。

## 【結 論】

RCC患者において、術前の血清中sIL-2R高値は術前の血清中PD-L1高値と原発巣のpAkt発現増加

と正の相関を示し、またIFN  $\alpha$  治療およびVEGF標的治療の効果不良と関連を示しただけでなく、全生存期間の独立した予後因子であった。血清中sIL-2Rを経時的に測定することがRCCの生物学的特徴と腫瘍の進展の把握、および治療の有効性を予測することに有用であることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

### 【論文概要】

淡明腎細胞癌 (ccRCC) は腫瘍内に種々のT細胞を含む典型的な免疫原性腫瘍である。T細胞より血中に放出された可溶性IL-2受容体 (sIL-2R) は制御性T細胞 (Treg) を活性化させ、免疫寛容に関与する。一方、programmed cell death 1 (PD-1) とPD-1-ligand 1 (PD-L1) の相互作用はTregの産生に関わっており、また腫瘍におけるPD-L1の発現はRCCの増殖に関与するAkt/mammalian target of rapamycin (mTOR) 経路の活性化を導くとされる。sIL-2RのRCCにおける役割は解明されていないため、今回sIL-2RがRCCにおけるバイオマーカーになりうるか検討した。

腎摘除術を受け、転移性ccRCC (mccRCC) と診断された47人に対し、IFN  $\alpha$ 、IFN  $\alpha$  +低用量ソラフェニブおよびアキシチニブを逐次的に投与した。1～3ヵ月毎に血清中sIL-2Rを測定し、かつ術前に血清中PD-L1を測定した。また原発巣のphosphorylated-Akt (Ser-473) (pAkt) の発現量をWestern blotting法を用いて測定した。治療効果については、RECIST基準に従って評価した。

術前の血清中sIL-2Rは低分化癌、局所浸潤、リンパ節転移、脈管浸潤を有する患者で上昇していた。また逐次的に投与したいずれかの治療が有効であった群における術前の血清中sIL-2Rは、いずれの治療法にも無効であった群と比較すると有意に低値であった ( $p=0.0046$ )。治療効果がPD (progressive disease) の場合は血清中sIL-2Rは増加し、SD (stable disease) の場合は不変、PR (partial response) およびCR (complete response) の場合は不変あるいは低下を示す傾向にあった。術前の血清中sIL-2RはpAkt (Ser-473) およびPD-L1と正の相関を示した ( $r^2 = 0.59$ 、 $p=0.00003$ 、 $r^2 = 0.54$ 、 $p=0.00009$ )。原発腫瘍のpAkt (Ser-473) 発現増加と術前の血清中PD-L1増加はIFN  $\alpha$  治療およびその後のVEGF標的治療の効果不良と関連していた ( $p=0.0021$ 、 $p=0.00004$ )。術前血清中sIL-2R高値群では低値群に比べ、生存期間が短い結果が得られた ( $p=0.00007$ )。単変量解析では血清中sIL-2R高値、血清中PD-L1高値、pAkt (Ser-473) 高発現、低分化度、リンパ節転移陽性および脈管浸潤陽性の場合に全て生存期間が短くなる結果が得られたが、多変量解析では血清中sIL-2R高値と血清中PD-L1高値のみが独立した予後因子となった。

本研究では、術前血清中sIL-2Rは原発巣におけるpAkt (Ser-473) 発現と正の相関を示し、血清中sIL-2R高値群とpAkt (Ser-473) 高値群はIFN  $\alpha$  治療とその後のVEGF標的治療の効果不良と関連することが示された。これらのことより血清中sIL-2Rを測定することはIFN  $\alpha$  とVEGF標的治療の効果予測に有用であるだけでなく、ccRCCの進展や生物学的特徴の評価に利用できる可能性があることが示唆された。

### 【研究方法の妥当性】

腎摘除術を行った症例のうち、mccRCCと病理学的に診断された47例の血液と組織を対象としている。Western blotting法では蛋白量を一定に調整した上で電気泳動を行っている。さらに測定した腫

瘍部での発現量を比較するために、非腫瘍部を1.0として相対的発現量を求めている。また研究結果については客観的な統計解析を行っており、本研究方法は妥当といえる。本研究においては全例インフォームドコンセントを得ており、倫理的にも問題ないと判断される。

#### 【研究結果の新奇性・独創性】

ccRCCは予後と治療効果を適切に予測するマーカーの報告はない。申請論文は、術前血清中sIL-2Rは低分化癌、局所浸潤、リンパ節転移、脈管浸潤を有する患者で有意に上昇していることを示した。また術前血清中sIL-2Rは原発巣におけるpAkt (Ser-473) 発現および術前血清中PD-L1と正の相関を示しただけでなく、血清中sIL-2R高値とpAkt (Ser-473) 高発現および術前血清中PD-L1高値はIFN  $\alpha$  治療とその後のVEGF標的治療の効果不良と関連することを示した。以上より血清中sIL-2RはccRCCの進展や生物学的特徴の評価に利用できる可能性があるだけでなく、IFN  $\alpha$  とVEGF標的治療の効果予測に有用であると結論づけている。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、多数の症例に対し適切な内部標準を置き、確立された実験手法と統計解析を用いて血清中sIL-2RがccRCCに対するIFN  $\alpha$  治療およびその後のVEGF標的治療の効果を予測する有用なマーカー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、生化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】

遠隔転移を伴ったccRCCは予後不良で5年生存率は10%に満たない。申請論文では、mccRCC症例の血清中sIL-2R、血清中PD-L1および摘出組織中のpAkt発現量を測定し、臨床病理学的因子との関連性を検討すると同時に、IFN  $\alpha$  治療およびその後のVEGF標的治療の有効性についての予測因子となるかについて検討し有用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、ひいては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)

BMC Cancer

17 : 372, 2017