

主論文の要旨

**Pattern of programmed cell death-ligand 1 expression  
and CD8-positive T-cell infiltration before and after  
chemoradiotherapy in rectal cancer**

〔 直腸がんにおける術前化学放射線療法と PD-L1 の発現及び  
CD8 陽性 T 細胞の関係性について 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻  
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：椰野 正人 教授)

小倉 淳司

## 【緒言】

近年、悪性黒色腫・肺癌・腎細胞癌をはじめ、多くの癌種で免疫チェックポイント阻害薬の目覚ましい効果が報告されている。大腸癌においては、フルオロピリミジン、オキサリプラチン、イリノテカンによる治療後の高頻度 microsatellite instability (MSI) 不安定性 (MSI-H) 転移性大腸癌に対する免疫チェックポイント阻害薬が 2017 年 8 月に FDA の承認を得たが、MSI 以外にバイオマーカーとなり得る可能性を示唆するデータはほとんどなく、その適応は非常に限られている。

そこで現在注目されているのが、免疫チェックポイント阻害薬と放射線治療の相乗効果である。そのメカニズムは完全には解明されていないが、放射線によって増加した Neoantigen によって活性化された CD8 陽性 T 細胞による腫瘍免疫学的な抗腫瘍効果が関与していると考えられている。欧米における直腸癌治療は、手術単独を標準とする本邦とは異なり、術前化学放射線療法 (CRT) を標準治療としている。近年、直腸癌に対する新たな術前治療として、CRT と免疫チェックポイント阻害薬を併用する臨床試験がいくつか行われているが、CRT と PD-L1 の発現に関する基礎的なデータは少ない。そこで、今回我々は、直腸癌における術前 CRT 前後の PD-L1 の発現パターンと、CD8 陽性 T 細胞を中心とした臨床病理学的背景因子及び予後との関連性について検証することを目的とした。

## 【方法】

対象は、術前 CRT を施行した 287 例の cStageII/III 下部進行直腸癌とした。PD-L1 発現に関しては、腫瘍細胞 (tumor) に発現する tPD-L1 と間質の免疫細胞 (stromal immune cell) に発現する iPD-L1 を区別して、術前 CRT 前後でその発現パターンを評価した。高発現の定義は、Intensity0,1,2,3 のうち Intensity2,3 が全体の 5%以上に発現していることとした (Figure 1)。CD8 陽性 T 細胞に関しては、生検検体と手術検体の腫瘍細胞内の CD8 陽性 T 細胞 (tCD8) と間質 (stroma) の CD8 陽性 T 細胞 (sCD8) の密度を Image Analyzer を用いて定量的に解析した (Figure 2)。

## 【結果】

tPD-L1 が高発現した症例は、術前 CRT 前後で 3 例ずつ (1.0%) しか確認できなかった。一方で、iPD-L1 が高発現した症例の割合は、全体の 31.7%から 49.2%と術前 CRT 後に有意に増加し ( $p < 0.001$ )、CRT 効果不良群 (Tumor regression grade (TRG)1-2) でのみ有意であった (Figure 3,4)。また、iPD-L1 は、術前 CRT 前は tCD8 高値群、CRT 後は sCD8 高値群で有意に高発現していた ( $p < 0.001$ ) (Figure 5)。予後に関しては、術前 CRT 前の tCD8 高値群で有意に無病生存期間の延長を認めたが ( $p = 0.0331$ )、iPD-L1 発現による予後の差は認められなかった (Figure 6)。しかしながら、iPD-L1 高発現群と低発現群でサブグループ解析を行うと、iPD-L1 高発現群でのみ術前 tCD8 高値群および術後 sCD8 高値群で有意に無病生存期間の延長が得られたが、iPD-L1 低発現群では CD8 の予後の相関は認めなかった (Figure 7)。

## 【考察】

免疫チェックポイント阻害薬の良好なバイオマーカーは MSI 以外に未だ判明していない。いくつかの癌種で使用されている tPD-L1 発現は、癌種によりその基準は異なり、我々の研究では、直腸癌の CRT 前後ともに高発現が全体の 1.0%と非常に低値であった。他の報告でも同様に 2-3%と低く、tPD-L1 は直腸癌において良好なバイオマーカーとなる可能性は低い。一方、iPD-L1 は治療前後で有意に発現が高まり、腫瘍の残存した TRG1-2 でのみで認められ、腫瘍の残存が少ない TRG3-4 では認められなかった。さらに、iPD-L1 の発現の違いによる予後について検討してみると、iPD-L1 高発現群でのみ治療前後で CD8 density との予後の相関を認めた。以上の結果から、iPD-L1 発現は、tPD-L1 発現とは異なる意味をもち、腫瘍細胞周囲における何らかの免疫反応を反映していると推察され、CRT により有意に活性化していることが示唆された。また活性化された状況下では、CD8 陽性 T 細胞による抗腫瘍効果が期待されることも示唆された。

CRT により惹起されているこのメカニズムは、MSI-H 大腸癌における Neoantigen の上昇に伴う免疫原性の活性化のメカニズムと類似しており、MSI-H 大腸癌において免疫チェックポイント阻害薬が有効であるのならば、CRT 後に iPD-L1 が高発現している直腸癌においても同様に免疫チェックポイント阻害薬が有効な治療薬となる可能性を示唆していると考えられた。

また、CRT によって CD8 陽性 T 細胞による抗腫瘍効果が活性化するのであれば、CRT による遠隔病巣での抗腫瘍効果 (Abscopal 効果) も説明がつくため、今後免疫学的な抗腫瘍効果を考慮した術前治療レジメン選択が必要なる可能性もある。将来的には、従来のレジメンを免疫学的な観点から再考しなければならない可能性も考えられる。

しかしながら、本研究にはいくつかの問題点が存在する。第一に、単施設の後方視的な研究デザインである点である。第二に、大腸癌領域において PD-L1 抗体や評価方法が統一されていないことである。第三に、腫瘍の heterogeneity、つまり生検検体は腫瘍の一部のみを評価しており、手術検体は評価部位を選択しているため腫瘍全体を反映していない可能性がある点である。第四に、生検と手術の 2 点でのみの評価であるため、PD-L1 や CD8 の発現をダイナミックに評価できていない点である。そして最後に、iPD-L1 陽性細胞の詳細な免疫染色を行っていないため、実際に iPD-L1 を発現している細胞が不明であることがあげられる。

免疫染色を用いた、術前後 2 点での評価には限界があるため、将来的には Cell free DNA における PD-L1 のダイナミックな変化を評価することにより、複雑に関与した腫瘍免疫の一部ではなく、全体を評価し、効果予測のバイオマーカーになり得る可能性もあると考えている。

## 【結論】

今回我々の研究では、iPD-L1 と CD8 陽性 T 細胞は術前 CRT 前後で有意な相関を示した。本研究は今後の直腸癌治療における免疫チェックポイント阻害薬と CRT の combined therapy の可能性を示唆する重要なデータであると考えられた。