HamaMed-Repository
浜松医科大学学術機関リポジトリ
浜松医科大学
Hamamatsu University School of Medicine

Heterogeneity analysis of PD-L1 expression and copy number status in EBUS-TBNA biopsy specimens of non-small cell lung cancer: Comparative assessment of primary and metastatic sites

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2020-04-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 吉村, 克洋 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/00003705

博士（医学）　吉村　克洋

論文題目

Heterogeneity analysis of PD-L1 expression and copy number status in EBUS-TBNA biopsy specimens of non-small cell lung cancer: Comparative assessment of primary and metastatic sites

（非小細胞肺がんの EBUS-TBNA 検体における原発巣と転移巣の比較解析による PD-L1 発現および遺伝子コピー数変化の腫瘍不均一性の検討）

論文の内容の要旨

［はじめに］

現在、免疫チェックポイント阻害薬（抗 PD-1/PD-L1 抗体薬）は非小細胞肺がんの標準治療の一つであり、治療予測のバイオマーカーとして免疫染色による PD-L1 発現が用いられている。PD-L1 免疫染色は、用いられる抗体が複数存在している点、評価方法が臨床試験によって異なる点、PD-1 阻害薬に対する予測効果が十分ではない点など、いくつか問題が存在する。我々は以前、PD-L1 遺伝子コピー数変化の PD-L1 発現や腫瘍浸潤免疫細胞との関係を報告し、PD-1 阻害薬の治療効果に対する補完的バイオマーカーとなる可能性を提唱しており、既に症例報告レベルでもいくつか実証されている。一方で、PD-L1 陽性率の生検組織や切除組織の間の PD-L1 発現の一致率は報告により異なり、腫瘍内不均一性が主の原因とされている。超音波気管支鏡ガイド下針生検（EBUS-TBNA）は実臨床で標準的な検査手技となっているが、得られる検体は微小で PD-L1 評価の妥当性については十分検証されていない。以上から、PD-L1 発現と遺伝子コピー数変化の評価における EBUS-TBNA 検体の有用性について、腫瘍間不均一性に注目し、手術や経気管支肺生検（TBB）で得られた組織検体間で比較・検討した。さらに、PD-L1 発現と遺伝子コピー数の腫瘍内不均一性も比較した。

［材料ならびに方法］

浜松医科大学医学部附属病院および聖隷三方原病院で 2011 年から 2017 年に採取された非小細胞肺がん症例の EBUS-TBNA 検体 71 例と、それに対応する検体として、TBB68 例、切除原発巣 13 例、切除転移巣 15 例を対象とした。PD-L1 発現は E1L3N 抗体で免疫組織化学的に評価し、染色強度に関係なく細胞膜の染色が認められた腫瘍細胞を陽性とし、PD-L1 陽性率（TPS）を算出した。PD-L1 遺伝子コピー数は fluorescence in situ hybridization（FISH）法を用いて評価し、amplification、polysomy、disomy の 3 群に分類した。PD-L1 発現および遺伝子コピー数について、それぞれの検体間の一致率を検討した。さらに、切除検体 17 例で whole section の腫瘍内 3 か所における PD-L1 変化について、不均一性の指標となる diversity index を算出し、腫瘍内不均一性について統計学的に検討した。本研究は両病院の倫理委員会で承認され実施された（承認番号#17-67、#14-260、

#17-40）。

［結果］

PD-L1 発現（cut-off: TPS≧ 5%）の EBUS-TBNA 検体と対応する検体の間の一致率はそれぞれ TBB に対して κ= 0.63、原発巣に対して κ= 0.68、転移巣に対して κ= 0.70 と中等度の一致を示した。PD-L1 遺伝子コピー数については、TBB に対して κ= 0.61、原発巣に対して κ= 0.74、転移巣に対して κ= 0.70 とほぼ同等の一致率を示した。TPS（%）および遺伝子コピー数（コピー数/核）の連続変数で相関解析をすると、PD-L1 発現では TBB に対して r= 0.550、切除原発巣に対して r= 0.493、切除転移巣に対して r= 0.693 であったのに対し、PD-L1 遺伝子コピー数では TBB に対して r= 0.728、原発巣に対して r= 0.931、転移巣に対して r= 0.818 と PD-L1 遺伝子コピー数で優れた相関関係が示された。切除検体 17 例での腫瘍内不均一性の検討では、diversity index が PD-L1 発現で 0.427、PD-L1 遺伝子コピー数で 0.074 と遺伝子コピー数変化よりタンパク質発現で有意（p= 0.015）に腫瘍内不均一性が顕著だった。

［考察］

がん細胞の適応免疫の過程で IFNγ により誘導される PD-L1 は、腫瘍組織において不均一に発現しており、生検など微小検体を扱う実臨床において腫瘍不均一性は避けられない問題となる。微小検体における PD-L1 評価の妥当性については先行研究がいくつか存在するが、EBUS-TBNA についてはあまり報告がない。榊原らの報告では EBUS-TBNA 検体と、対応する検体の間で強い相関関係を報告しているが、EBUS-TBNA 実施症例が 15 例と少ないという問題点があった。また、最近 Sakata らが 61 例の EBUS-TBNA 検体と対応する切除検体の PD-L1 発現を比較し、TPS≧ 1%で 87%と優れた一致率を報告したが、TPS≧ 50%と cut-off を変更することで一致率が低下する問題点を指摘していた。この点は、本研究でも同様で、TPS≧ 5%、TPS≧ 50%と cut-off を上昇させると、検体間の一致率が明らかに低下した。微小検体では含まれる腫瘍細胞数が少なくなるため、PD-L1 発現も過小評価されやすい傾向にあることが原因と考えられ、本研究から EBUS-TBNA 検体の PD-L1 発現の評価には TPS≧ 1%が適切な cut-off と考えられた。

また、本研究では PD-L1 発現以外に PD-L1 遺伝子コピー数に注目しているが、PD-L1 遺伝子増幅は適応免疫とは異なり、PTEN 欠失などと同様に内因性に PD-L1 発現を誘導する因子の一つとされる。最近の報告された免疫チェックポイント阻害薬と PD-L1 遺伝子増幅との関係をみた多数例の検討でも、PD-L1 遺伝子増幅例は少数ながら存在しており、非増幅症例と比較して高い奏功率が示されており、今後、補完的な治療予測マーカーになる可能性があると考えられる。本研究では腫瘍内不均一性の結果から、微小検体しか利用できない症例においては PD-L1 発現より PD-L1 遺伝子コピー数がより有用である可能性が示唆された。

［結論］

EBUS-TBNA は PD-L1 発現および PD-L1 遺伝子コピー数いずれも評価可能であり、EBUS-TBNA 検体と対応する他の検体との間の PD-L1 変化の一致率は同等であった。微小検体を用いた PD-L1 変化の評価には腫瘍内不均一性を常に念頭におくべきで、特に PD-L1 発現の cut-off の設定には注意すべきと考えられた。