

① 論文タイトル：胃癌における血漿 PD-L1 および PD-L2 測定の臨床的意義

著者：五十嵐裕一、 深川剛生、 田村純子、 鈴木悠介、 緑川裕紀、 添田成美、 熊田
宜真、 堀川昌宏、 清川貴志、 福島亮治

所属：帝京大学医学部 外科学講座 上部消化管外科

キーワード：英語 5 語、対応する和語 5 語

Gastric cancer, prognosis, immunotherapy, biomarker, liquid biopsy

胃癌、予後、免疫療法、バイオマーカー、リキッドバイオプシー

② 和文抄録

1) 背景・目的

胃癌は我が国において最も罹患率の高い癌のひとつである。2017年に胃癌に対する新たな3次治療として、免疫チェックポイント阻害剤ニボルマブの適応が認可された。しかし治療効果予測が可能なバイオマーカーは未確定で、リキッドバイオプシーを含めた新たなバイオマーカーが必要とされている。今回我々は、胃癌に対する新たなバイオマーカーの探索を目指して、胃癌患者血漿・腫瘍組織中の免疫チェックポイント関連分子であるPD-L1およびPD-L2蛋白量を測定し、臨床病理因子、再発および予後との関連性を検討した。

2) 対象・方法

2006年11月から2013年12月に帝京大学医学部附属病院上部消化管外科にて手術を施行した242人の胃癌患者を対象とし、血漿・腫瘍組織中のPD-L1・PD-L2の発現を測定した。

3) 結果

血漿・腫瘍組織中のPD-L1・PD-L2の値は病理ステージとの関連はなかった。高/低発現の2群に分けて比較した結果、臨床病理因子との明らかな相関はなく、予後にも影響を与えなかった。

4) 結論

胃癌患者の術前血漿中のPD-L1・PD-L2発現は健常人よりは高いものの、病理ステー

ジとの相関はなく、予後予測マーカーとはならない可能性が示唆された。

③ 本文

はじめに

胃癌は、日本および他の東アジア諸国で最も一般的な癌の1つである。日本では検診システムの確立などにより早期の段階で発見されることも多く、内視鏡切除術¹⁾や低侵襲手術²⁾の適応となる。早期胃癌患者の予後は良好で、手術を受けた症例の5年生存率は約95%を越える³⁾。しかし進行胃癌患者の予後は依然不良で、術後補助化学療法の開発⁴⁾とともに改善傾向にあるとはいえ、手術後に再発を生じる患者は少なくない⁵⁾。また腹膜播種や血行性転移などの遠隔転移を伴うステージIV胃癌患者の予後はきわめて不良である⁶⁾。検診などで多くの早期胃癌が発見される一方で、胃癌はかなり進行した状態でも症状が出にくいことが多く、診断および治療が遅れる原因となっている。

胃癌の治療はガイドラインに準じて行われる⁷⁾。内視鏡切除は適応内となる早期胃癌に対して行われ、それ以外の根治可能な胃癌は手術が唯一の治癒可能な治療法である。遠隔転移を伴うステージIV胃癌は基本的には手術適応がなく、生存期間延長を目的に化学療法を行う。化学療法は、エビデンスに基づき、推奨されるレジメンが1次治療から順に定められている。

2017年に胃癌に対する3次化学療法として、新たに免疫チェックポイント阻害剤ニボルマブ（抗PD-1抗体）の適応が認可され、各施設で使用されている⁸⁾。作用機序は、リンパ球が発現するPD-1と腫瘍が発現するPD-L1・PD-L2の結合を、抗PD-1抗体でブロッ

クすることによって、リンパ球が本来持つ抗腫瘍免疫作用を強化する、と考えられている。

しかしこういった症例に免疫チェックポイント阻害剤の効果が現れるかを予想することは現時点では困難で、治療効果予想が可能なバイオマーカーが必要とされている。PD-1,PD-L1,PD-L2 はそうした腫瘍免疫に関与する因子であるが、その発現が免疫療法の効果予測につながるだけでなく、予後自体に関連する可能性が指摘されている⁹⁾¹⁰⁾。

リキッドバイオプシー (liquid biopsy) は主に癌の領域で、内視鏡や針を使って腫瘍組織を採取する従来の生検 (biopsy) に代えて、血液などの体液サンプルを使って診断や治療効果予測を行う方法である。リキッドバイオプシーの解析対象としては、血中循環腫瘍細胞(CTC: Circulating Tumor Cells)¹¹⁾、もしくは癌細胞に由来する DNA(ctDNA: circulating tumor DNA)がよく知られている。従来は微量癌細胞の存在を推測するものであったが¹²⁾、CTC における特定の遺伝子発現や、遺伝子変異を解析することで、予後予測や治療薬の選択を行うための方法としても期待されている。

今回、リキッドバイオプシーとして、胃癌患者血漿中の免疫チェックポイント関連分子である PD-L1・PD-L2 濃度を測定し、胃癌の予後との関連性を検討した。また、腫瘍組織の PD-L1・PD-L2 濃度も測定し、血漿濃度との関連を検討した。

方法

・症例

2006 年 11 月から 2013 年 12 月に帝京大学医学部附属病院上部消化管外科にて手術を施行

した 242 人の胃癌患者を対象とした。すべての患者は組織学的に胃癌と証明された（胃癌
取扱い規約第 15 版¹³⁾ に準じる）。治療と follow-up は胃癌診療ガイドラインに基づいて行
われ、術後経過の follow は少なくとも 3 か月ごと 5 年間施行された。Computed Tomography
は 6 か月ごとに 5 年間まで施行された。再発は、経過中の画像所見によって診断した。本
研究は学内倫理委員会承認 (09-081-3) のもと、文書による同意の得られた患者を対象とし
た。これらの患者の臨床情報は電子カルテから集められた。

・ DNA extraction and quantification of PD-L1 ・ PD-L2 from frozen tissue sample

切除検体は、その腫瘍の一部を 24 時間 RNA later 液に浸したのちに -80°C に凍結したも
のを使用した。PD-L1 ・ PD-L2 の定量的測定は Human Programmed Cell Death Ligand 1
ELISA Kit (CUSABIO®, TX, USA) と Human Programmed Cell Death 1 Ligand 2 ELISA
Kit (CUSABIO®) を用いて解析した。DNA の抽出は QIAamp DNA Mini Kit
(QIAGEN®, Hilden, Germany) を用いて抽出した。

・ Collection and quantification of PD-L1 ・ PD-L2 in plasma sample

血漿検体は手術数日前に採取されたものを遠心分離 (2000 回転、15 分間) して -80°C で
冷凍保管した検体を用いた。Human Programmed Cell Death Ligand 1 ELISA Kit
(CUSABIO®) と Human Programmed Cell Death 1 Ligand 2 ELISA Kit (CUSABIO®) を

用いて、PD-L1・PD-L2 の定量的測定を行った。また末梢血における PD-L1・PD-L2 発現を胃癌患者と健常人で比べた。

・ ELISA 法(Enzyme-linked immunosorbent assay)

EDTA を用いて採取後に遠心分離 (2000 回転、15 分間) して-80°Cで凍結した血漿検体中の可溶性 PD-L1 は ELISA キット (CUSABIO®) にて測定された。Detection Range は 15.6pg/ml-1000pg/ml であり、Detection limit は 3.9pg/ml である。PD-L1 に対するアビジン-ビオチン複合体 (ABC 法) で増幅させ、西洋ワサビペルオキシターゼ (HRP: Horseradish Peroxidase) を標的酵素抗体 (conjugated antibody) としてサンドイッチ法で定量的に測定 (発色基質は TMB solution) した。PD-L2 も上記と同様に測定した。Detection Range は 46.88pg/ml-3000pg/ml であり、Detection limit は 11.72pg/ml である。

・ Statistical analysis

PD-L1・PD-L2 の発現量と臨床病理学的因子を解析する際には Student's t-test、chi-squared test を用いた。血漿中及び腫瘍組織中 PD-L1/PD-L2 発現の相関、血漿中 PD-L1 と PD-L2 発現の相関を、Pearson の相関係数を用いて評価した。OS (overall survival: 全生存率) と DFS (disease free survival: 無再発生存率) は Kaplan-Meier method で解析し、log-rank test で評価した。統計解析は SPSS(version 23, 日本 IBM)を用いた。

結果

・解析した 242 例について臨床病理学的因子の内訳を Table 1 に示す。男性/女性 170/72 例であり、年齢の中央値は 70.0 歳であった。病理学的病期分類では、Stage I /II/III/IV は 78/48/75/41 例であった (StageIV 患者のうち 17 例は開腹後腹膜播種や多臓器への浸潤により試験開腹・バイパス手術を行った)。

・血漿中 PD-L1・PD-L2 および腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現の測定

血漿中 PD-L1 は 242 例中測定値が 0 であった 15 例を除く 227 例を解析した。同様に PD-L2 は 1 例を除く 241 例を解析した。腫瘍組織中の PD-L1・PD-L2 は 80 例について測定・解析を行った。血漿 PD-L1・PD-L2 測定値のヒストグラムを Figure 1 に示す。いずれも単峰性の分布を示している。

・胃癌患者と健常人における血漿中の PD-L1・PD-L2 発現の比較

末梢血における PD-L1・PD-L2 発現を胃癌患者と健常人 (n=8) で比べた (Figure 2 A,B)。

胃癌患者において PD-L1 と PD-L2 の発現は、健常人と比べて高値を示す。

・血漿中・腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現と病理学的ステージとの相関

血漿中・腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現の平均値と中央値を胃癌患者病理ステージ別に

Table 2 に示した。血漿中 PD-L1・PD-L2 発現の分布を病理ステージ別に Figure 3A,3B に示した。同様に腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現の分布を病理ステージ別に Figure 4A,4B に示した。病理ステージの間に PD-L1・PD-L2 発現についての有意差は認められなかった。

・血漿中 PD-L1・PD-L2 発現と腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現の相関

腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 の測定を行った 80 例について、血漿中 PD-L1・PD-L2 発現との相関を解析した。PD-L1 における両者の相関係数(Pearson)は 0.057、PD-L2 は -0.083 となり、血漿中 PD-L1・PD-L2 発現と腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現の間には明らかな相関は認められなかった。

・血漿中及び腫瘍組織中の PD-L1 発現と PD-L2 発現の相関

血漿中 PD-L1 発現と PD-L2 発現の相関係数は 0.406、腫瘍組織中 PD-L1 発現と PD-L2 発現の相関係数は 0.435 で、いずれも有意な相関がみられた ($p<0.001$)。

・血漿中・腫瘍組織中 PD-L1・PD-L2 発現と臨床病理学的因子の関係

血漿中 PD-L1・PD-L2 発現の中央値が 37.3、201.0 であることより、各々 37、201 を cut-off 値として low group/high group に分け、その 2 群と臨床病理学的因子の比較を行った (Table 3)。血漿 PD-L1 の発現において、high group の方が low group より有意に平均年

齢が高かった ($p=0.021$) 以外は、明らかな有意差を示す因子は認められなかった。同様に腫瘍組織中の PD-L1・PD-L2 発現についても中央値 (70/248) を cut off 値として 2 群間の比較を行った (Table 4)。PD-L1・PD-L2 高発現症例の平均年齢が高値であること、PD-L2 発現とリンパ管侵襲の有無に有意な相関があること、が認められた。血漿中 PD-L1・PD-L2 発現については、全体を 4 等分し上位 4 分の 1 を high group、下位 4 分の 1 を low group とする解析も行ったが 2 分割の場合と同様の結果であった (データ未表示)。

・生存分析

全 242 例のうち根治手術が行われた 201 例に対して生存分析を行った。死亡例 73 例 (癌死 56 例、他病・癌死 16 例、不明死 1 例)、生存例 128 例 (再発あり 7 例、再発なし 121 例)、生存例の観察期間は平均 2051 日・中央値 1971 日であった。血漿中 PD-L1 low group と high group の 5 年全生存率は各々 67.5%(95%CI +-10.6), 61.8%(95%CI+-10.2) で low group の方が若干予後良好ではあるが、両群に有意差は認められなかった ($p=0.308$) (Figure 5A)。また 5 年無再発生存率は、69.0%(+-10.2), 64.6%(+-10.0)% で同様に有意差は認められなかった ($p=0.294$) (Figure 5B)。血漿中 PD-L2 low group と high group の OS と DFS は、PD-L1 の場合と同様に両群に有意差は認めないものの、high group の方がやや良好であった (Figure 6A,B)

考察

ヒトには免疫監視機構が備わっており、細胞障害性 T 細胞 (CTL) はがん細胞を認識し、細胞障害活性を発揮する。ところががん細胞は免疫監視から逃れることができる。がん細胞の免疫逃避において、がん細胞は PD-L1 及び PD-L2 を細胞表面に発現して、活性化された CTL 細胞に発現する PD-1(PD-L1/PD-L2 のリガンド)と結合し、CTL に抑制性シグナルを伝達する。免疫チェックポイント阻害剤はヒト PD-1 に対するモノクローナル抗体で、CTL の PD-1 とがん細胞の PD-L1・PD-L2 の結合を阻害し、がん細胞による免疫抑制を解除することによって、CTL の活性化とがん細胞に対する細胞障害性を増強すると考えられている¹⁴⁾。抗 PD-1 抗体 (ニボルマブ) を用いた臨床試験では、標準治療が不応または不耐となった切除不能進行・再発胃癌に対して生存期間の延長が認められ、胃癌治療ガイドラインでは、切除不能進行・再発胃癌に対する 3 次治療としてニボルマブが推奨されるに至った。しかしどの症例に対してもニボルマブが奏効するわけではなく、治療効果予測因子の探索が待たれている。また胃癌における PD-L1 及び PD-L2 の発現が新たな予後予測因子になり得るかどうかという点も不明な点が多い。

今回我々は、胃癌患者の血漿中 PD-L1・PD-L2 の発現を検討したが、腫瘍の存在と関連して健常人より高い値を示すものの¹⁵⁾、ステージや臨床病理学的因子との相関はなく、予後との相関も認められなかった。Ito S らの報告¹⁵⁾(n=372)でも、末梢血中の PD-L1 発現はステージとは相関がなく、高低発現で比較した場合、ステージ I と II-IV 別の全生存およ

び全例の無再発生存に有意差はなかったので、ほぼ我々の検討と同様の結果と考えられる。

一方 Ito M¹⁶⁾らは食道癌について (n=150)、やはりステージ別での有意差はないものの、4分割での最も高い PD-L1 発現患者の予後が不良であると報告している。Boffa¹⁷⁾らは、肺癌について、末梢血に PD-L1 を発現している腫瘍細胞が認められた患者の予後が不良と報告している。PD-L1 の発現が予後予測因子かどうかについてはいまだ確定してはいないが、測定方法が様々であることを考慮すべきである。また血漿中 PD-L2 の発現と予後の関係では、有意差はないものの生存曲線は高発現群の方がやや良好で、PD-L2 発現と逆の傾向を示した。今回の研究では血漿中 PD-L1・PD-L2 の発現には相関が認められ、他も腫瘍組織中の PD-L1・PD-L2 発現に相関があると報告している (免疫染色法)¹⁸⁾。胃癌患者血漿中の PD-L2 発現についてはこれまでに報告がなく、この傾向については今後の検討を待ちたい。

腫瘍組織中の PD-L1 発現については、「免疫組織染色による PD-L1 の腫瘍細胞における陽性割合」が有効な治療効果予測バイオマーカーと考えられている^{19),20)}。今回の研究では腫瘍組織内の定量を行ったが、臨床病理因子との関連はなく、予後との相関もなかった。

腫瘍組織中の PD-L2 発現は、病理学的リンパ管侵襲との相関が認められたが、実際のリンパ節転移との相関はなく、臨床的な意義についてはさらなる検討が必要である。今回我々が行った腫瘍組織内の定量では不十分な可能性があるため、継続研究として陽性割合の検討を病理部と共同で行う予定である。

胃癌において組織中の PD-L1 について行われた研究はいくつかあるものの²¹⁾²²⁾²³⁾、血漿中の PD-L1 蛋白量に焦点を当てた研究は少ない¹⁵⁾。Shigemori ら²⁴⁾は組織に発現している PD-L1 と血漿中 PD-L1 蛋白量の相関を調べ、予後予測マーカーとして検討しているが、我々の検討とは異なる結果である。胃癌患者においては組織検体の生検はリスクや侵襲も大きく、頻回に行うことも困難である。そして、組織の免疫染色は癌の不均一性などが原因で再現性に乏しいこともあり、腫瘍の限られた情報しかわからない。Liquid biopsy は従来の生検検査と比べると感度と特異度は低いものの (CTC は癌患者の血液細胞 10⁹分の 1 の割合で存在し、エクソソームは腫瘍以外の細胞由来でも検出される)、非侵襲的な方法でリアルタイムの情報を反映して精度の高い予後情報をもたらす可能性があり^{25),26)}、侵襲が少なく再現性の高い検査を頻回に行うことができる。ただし文献²⁴⁾でも指摘されているように末梢血液における PD-L1・PD-L2 発現がどのような生物学的意義を持つかについてはさらなる検討が必要である。

今回の研究では、胃癌患者の術前血漿中および腫瘍組織内の PD-L1・PD-L2 発現を検討したが、方法論的にどのサンプルの検討が胃癌の生物学的活性を正しく反映しているかどうかについては未確定であるため、臨床的な意義を検討するにあたっては限界がある。200 症例を越える検討ではあるが、さらに多数症例の解析が望ましい。

今回我々は胃癌患者の術前血漿中の PD-L1・PD-L2 発現を検討し、健常人よりは高いものの、病理ステージや臨床病理因子との相関はなく、発現の高低で比較した場合予後との

相関も認められない可能性を示した。

④ 引用文献

1. Ono H, Kondo H, Gotoda T, et al. Endoscopic mucosal resection for treatment of early gastric cancer. *Gut* 2001; 48: 225-9.
2. Katai H, Mizusawa J, Katayama H, et al. Short-term surgical outcomes from a phase III study of laparoscopy-assisted versus open distal gastrectomy with nodal dissection for clinical stage IA/IB gastric cancer: Japan Clinical Oncology Group Study JCOG0912. *Gastric Cancer* 2017; 20: 699-708.
3. Katai H, Ishikawa T, Akazawa K, et al. Five-year survival analysis of surgically resected gastric cancer cases in Japan: a retrospective analysis of more than 100,000 patients from the nationwide registry of the Japanese Gastric Cancer Association (2001-2007). *Gastric Cancer* 2018; 21:144-54.
4. Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, et al. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med* 2007; 357: 1810-20.
5. Kano Y, Ohashi M, Hiki N, et al. Favorable long-term outcomes of one-year adjuvant S-1 monotherapy for pathological stage II or III gastric cancer treated at a high-volume center. *Gastric Cancer* 2018; 21: 1024-30.

6. Fujitani K, Yang HK, Mizusawa J, et al. Gastrectomy plus chemotherapy versus chemotherapy alone for advanced gastric cancer with a single non-curable factor (REGATTA): a phase 3, randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2016; 17: 309-18.
7. 日本胃癌学会編 胃癌治療ガイドライン第5版 2018年1月 金原出版
8. Kang YK, Boku N, Satoh T, et al. Nivolumab in patients with advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer refractory to, or intolerant of, at least two previous chemotherapy regimens (ONO-4538-12, ATTRACTION-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 390: 2461-71.
9. Ando K, Hamada K, Watanabe M, et al. Plasma Levels of Soluble PD-L1 Correlate With Tumor Regression in Patients With Lung and Gastric Cancer Treated With Immune Checkpoint Inhibitors. *Anticancer Res.* 2019; 39: 5195-201.
10. Muro K, Chung HC, Shankaran V, et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1-positive advanced gastric cancer (KEYNOTE-012): a multicentre, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol.* 2016; 17: 717-26.
11. Kosaka Y, Mimori K, Fukagawa T, et al. Clinical Significance of Molecular Detection of Matrix metalloproteinase-1 in Bone Marrow and Peripheral Blood in Patients with Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012; Suppl 3:430-7.
12. Mimori K, Fukagawa T, Kosaka Y, et al. A large-scale study of MT1-MMP as a

marker for isolated tumor cells in peripheral blood and bone marrow in gastric cancer cases. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 2934-42.

- 1 3. 日本胃癌学会編 胃癌取扱の規約第 15 版 2017 年 10 月 金原出版
- 1 4. Sharma P, Allison JP. Immune checkpoint targeting in cancer therapy: toward combination strategies with curative potential. *Cell* 2015; 161: 205-14.
- 1 5. Ito S, Fukagawa T, Noda M, et al. Prognostic Impact of Immune-Related Gene Expression in Preoperative Peripheral Blood from Gastric Cancer Patients. *Ann Surg Oncol*. 2018; 25: 3755-63.
- 1 6. Ito M, Yajima S, Suzuki T, et al. High serum PD-L1 level is a poor prognostic biomarker in surgically treated esophageal cancer. *Cancer Med*. 2019 Dec 21. doi: 10.1002/cam4.2789. [Epub ahead of print]
- 1 7. Boffa DJ, Graf RP, Salazar MC, et al. Cellular Expression of PD-L1 in the Peripheral Blood of Lung Cancer Patients is Associated with Worse Survival. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017; 26:1139-45.
- 1 8. Yearley JH, Gibson C, Yu N, et al. PD-L2 Expression in Human Tumors: Relevance to Anti-PD-1 Therapy in Cancer. *Clin Cancer Res*. 2017; 23: 3158-67.
- 1 9. Herbst RS, Baas P, Kim DW, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a

randomised controlled trial. *Lancet* 2016; 387:1540-50.

- 2 0 . Brahmer JR, Rodriguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Health-related quality-of-life results for pembrolizumab versus chemotherapy in advanced, PD-L1-positive NSCLC (KEYNOTE-024): a multicentre, international, randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2017; 18: 1600-9.
- 2 1 . Kim JY, Kim WG, Kwon CH, et.al Differences in immune contextures among different molecular subtypes of gastric cancer and their prognostic impact. *Gastric Cancer* 2019; 22: 1164-75.
- 2 2 . Yamashita K, Iwatsuki M, Harada K, et al. Can PD-L1 expression evaluated by biopsy sample accurately reflect its expression in the whole tumour in gastric cancer? *Br J Cancer* 2019; 121: 278-80.
- 2 3 . Boger C, Behrens HM, Mathiak M, et al. PD-L1 is an independent prognostic predictor in gastric cancer of Western patients. *Oncotarget* 2016; 26: 24269-83.
- 2 4 . Shigemori T, Toriyama Y, Okugawa Y, et al. Soluble PD-L1 Expression in Circulation as a Predictive Marker for Recurrence and Prognosis in Gastric Cancer: Direct Comparison of the Clinical Burden Between Tissue and Serum PD-L1 Expression. *Ann Surg Oncol.* 2019; 26: 876-83.
- 2 5 . Kumata Y, Iinuma H, Suzuki Y, et al., Exosome-encapsulated microRNA-23b as a

minimally invasive liquid biomarker for the prediction of recurrence and prognosis of gastric cancer patients in each tumor stage. *Oncol Rep* 2018; 40: 319-30.

26. Soeda N, Iinuma H, Suzuki Y, et al., Plasma exosome-encapsulated microRNA-21 and microRNA-92a are promising biomarkers for the prediction of peritoneal recurrence in patients with gastric cancer. *Oncol Lett*, 2019; 18: 4467-80.

⑤ 図の説明

Figure 1 胃癌患者 血漿中 PD-L1・PD-L2 値のヒストグラム

血漿中 PD-L1・PD-L2 発現値の度数分布をヒストグラムに図示すると、いずれも単峰性を示している。

Figure 2A,B 健常人（コントロール）と胃癌患者の血漿 PD-L1・PD-L2 値の比較

血漿中 PD-L1(2A)・PD-L2(2B)発現値と健常人の比較を箱ひげ図に表示した。いずれも癌患者血漿中の PD-L1・PD-L2 発現は健常人よりも高い。

Figure 3A,B 胃癌患者 血漿中 PD-L1・PD-L2 値と病理ステージの相関

各病理ステージ別の血漿中 PD-L1 発現 (3A) PD-L2 発現 (3B)。いずれも病理ステージと関連を認めない。

Figure 4A,B 胃癌患者 胃癌組織中 PD-L1・PD-L2 値と病理ステージの相関

各病理ステージ別の胃癌組織中 PD-L1 発現 (4A) PD-L2 発現 (4B)。いずれも病理ステージと関連を認めない。

Figure 5A,B 胃癌患者 血漿中 PD-L1 と全生存期間 (OS)・無再発生存期間(DFS)の
関係

Kaplan-Meier 法による全生存曲線 (OS) (5A)・無再発生存曲線(DFS) (5B)。PD-L1
の低発現・高発現の 2 群の間に有意差は認めない。

Figure 6A,B 胃癌患者 血漿中 PD-L 2 と全生存期間 (OS)・無再発生存期間(DFS)の
関係

Kaplan-Meier 法による全生存曲線 (OS) (6A)・無再発生存曲線(DFS) (6B)。PD-L2
の低発現・高発現の 2 群の間に有意差は認めない。

⑥ 英文抄録

1) Background

Gastric cancer is one of most frequent malignancy in East Asia. Therapeutic strategies
have been established by years, but prognosis of the patients with far advanced tumor
is still poor. Nivolumab has been used for metastatic gastric cancer in Japan from 2017
as an immunotherapeutic agent. Nivolumab can block the binding between PD-1 of
lymphocyte and PD-L1/PD-L2 of tumor cell. However, the prognostic predicting role
of PD-L1 and PD-L2 expression is not clear.

2) Methods

The expression of PD-L1/PD-L2 in the serum and tumor tissue of gastric cancer patients who underwent surgery from Nov.2006 to Dec.2013 at Teikyo University Hospital were analyzed. Correlation between the expression of PD-L1/PD-L2 and clinicopathological factors was studied.

3) Results

The expression of PD-L1/PD-L2 in the serum were higher than those of normal control. There was no significant correlation between the expression of PD-L1/PD-L2 in the serum and tumor tissue of gastric cancer patients and clinicopathological factors and patients survival.

4) Conclusions

The expression of PD-L1/PD-L2 in the serum of gastric cancer patients was not estimated as prognostic factor.

⑦ 表 別添え

⑧ 図 別添え

Table 1 解析症例の臨床病理学的因子

因子		症例数
性別	男・女	170/72
年齢	中央値	70歳
	平均値	67歳
病理ステージ	I/II/III/IV	78/48/75/41
組織型	分化型/低分化型/その他/不明	105/123/10/4
病理学的リンパ節転移度	N0/N1/N2/N3	99/41/40/50
病理学的深達度	m/sm/mp/ss/se/si	35/32/25/70/57/10
病理学的静脈侵襲(Ly)	有/無	136/94
病理学的リンパ管侵襲(V)	有/無	136/94
腫瘍径	平均値	58.3mm

Table 2 血漿・腫瘍組織中のPD-L1・PD-L2発現と病理ステージの関連

ステージ		全体	I	II	III	IV
血漿PD-L1(pg/ml)	平均値	39.1	41.1	39.8	40.6	31.9
	中央値	37.3	39.2	35.2	39.5	32.8
血漿PD-L2(pg/ml)	平均値	223.5	241.5	193.2	246.1	183.9
	中央値	201.0	208.2	204.3	205.3	165.1
腫瘍PD-L1(pg/ml)	平均値	121.9	229.1	85.3	100.9	135.1
	中央値	69.9	79.0	67.1	65.3	73.1
腫瘍PD-L2(pg/ml)	平均値	1475.8	5016.1	735.3	744.0	1124.3
	中央値	248.3	352.5	248.3	239.6	202.5

Table 3 血漿中PD-L1・PD-L2発現と臨床病理学的因子の関連

		血漿PD-L1(pg/ml)		P値	血漿PD-L2(pg/ml)		P値
		Low(n=113)	High(n=114)		Low(n=120)	High(n=121)	
性別	男性	77	80		84	86	
	女性	36	34	0.740	36	35	0.855
年齢	平均値	66.0	69.3	0.021	67.2	68.3	0.429
ステージ	I・II	57	61		55	70	
	III・IV	56	53	0.664	65	51	0.062
組織型	分化型	45	53		43	61	
	低分化型	62	54	0.675	69	54	0.057
リンパ節転移	あり	66	58		70	64	
	なし	43	52	0.243	44	54	0.243
深達度	m・sm	25	37		28	38	
	mp・ss・se・si	83	71	0.671	82	80	0.262
静脈侵襲	あり	64	65		68	68	
	なし	44	44	0.955	43	50	0.576
リンパ管侵襲	あり	64	65		63	72	
	なし	44	44	0.955	48	46	0.576

Table 4 腫瘍組織中PD-L1・PD-L2発現と臨床病理学的因子の関連

		血漿PD-L1(pg/ml)		P値	血漿PD-L2(pg/ml)		P値
		Low(n=40)	High(n=40)		Low(n=120)	High(n=121)	
性別	男性	32	23		29	26	
	女性	8	17	0.053	14	11	0.786
年齢	平均値	67.9	72.4	0.042	68.0	72.7	0.03
ステージ	I・II	14	15		13	16	
	III・IV	26	25	0.816	30	21	0.227
組織型	分化型	12	19		17	14	
	低分化型	24	18	0.119	20	22	0.542
リンパ節転移	あり	33	27		35	25	
	なし	7	13	0.121	8	12	0.154
深達度	m・sm	3	7		3	7	
	mp・ss・se・si	37	33	0.176	40	30	0.107
静脈侵襲	あり	32	30		9	9	
	なし	8	10	0.592	34	28	0.717
リンパ管侵襲	あり	33	28		39	22	
	なし	7	12	0.189	4	15	0.001

Figure 1 胃癌患者 血漿中PD-L1・PD-L2値のヒストグラム

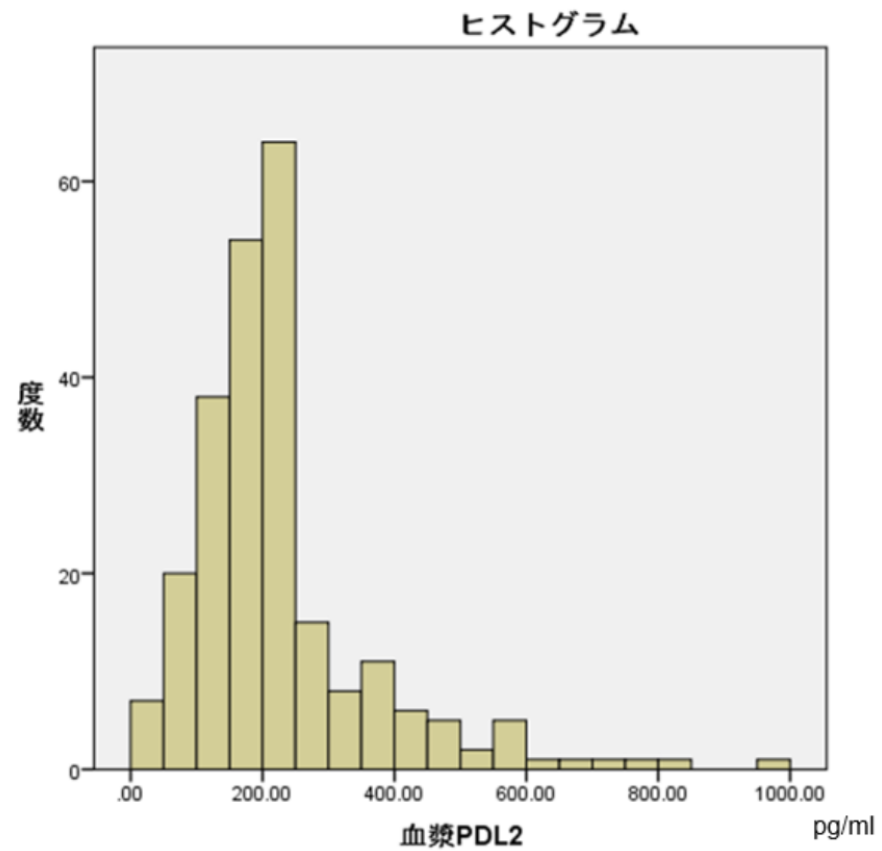
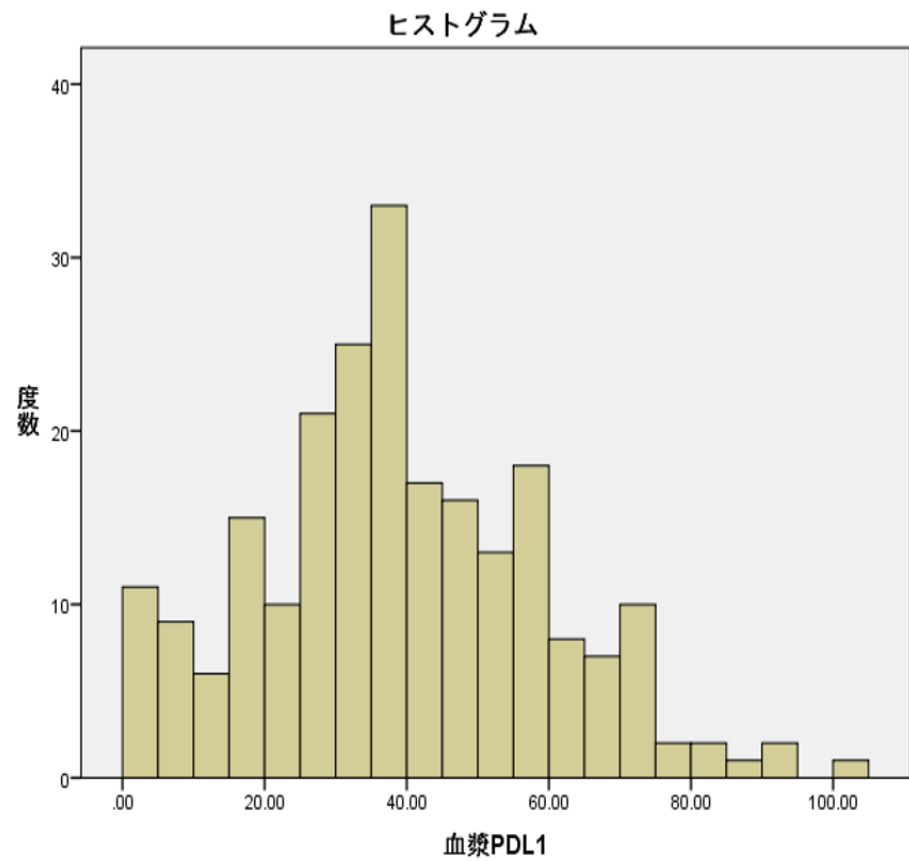


Figure 2A,B 健常人(コントロール)と胃癌患者の血漿PD-L1・PD-L2値の比較

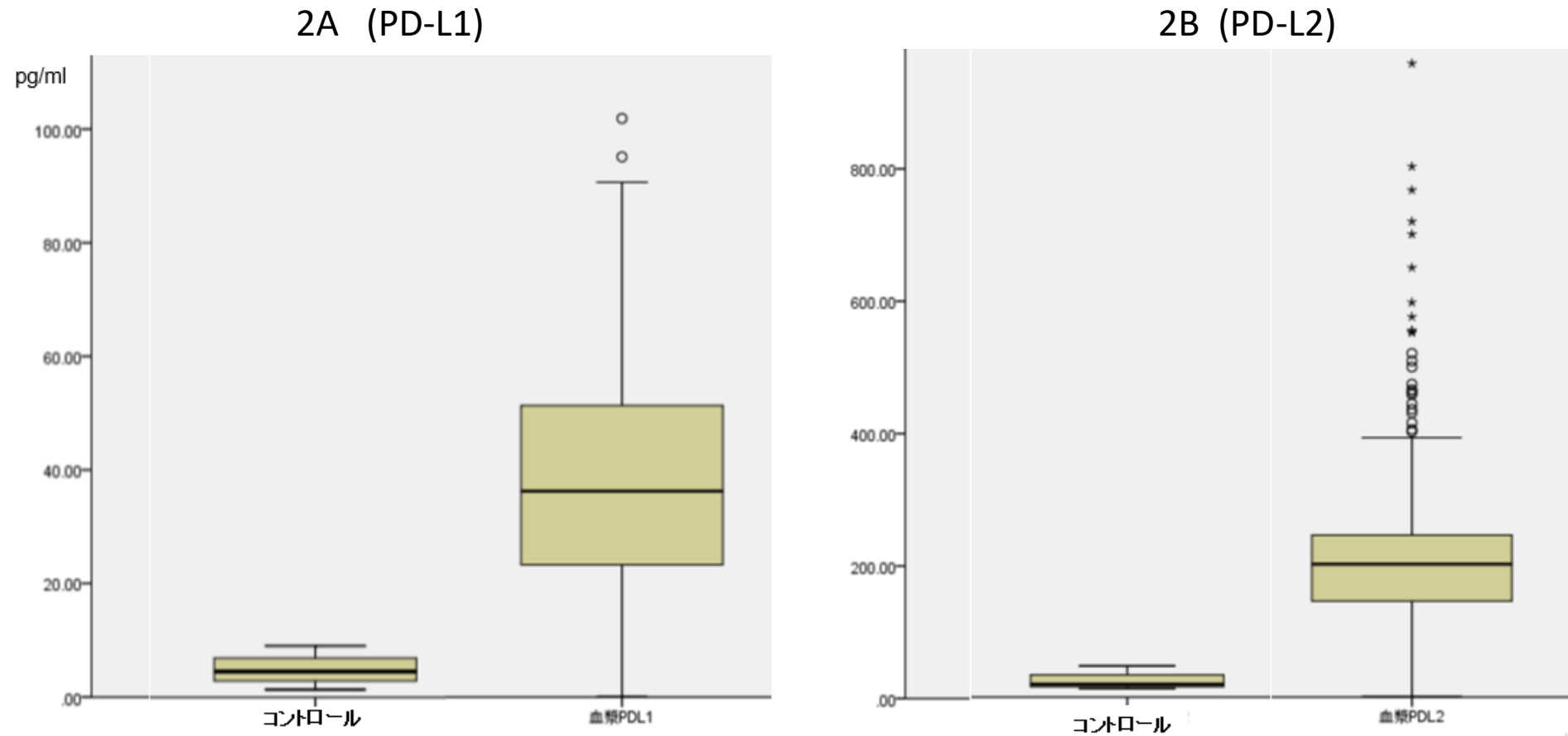


Figure 3A,B 胃癌患者 血漿中PD-L1・PD-L2値と病理ステージの相関

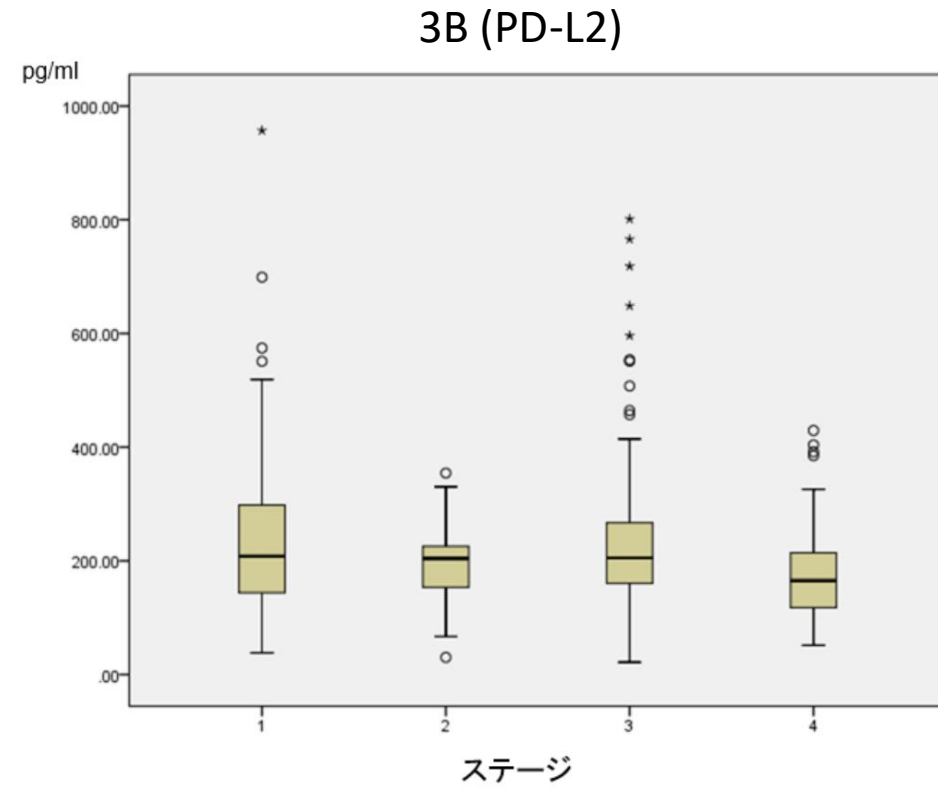
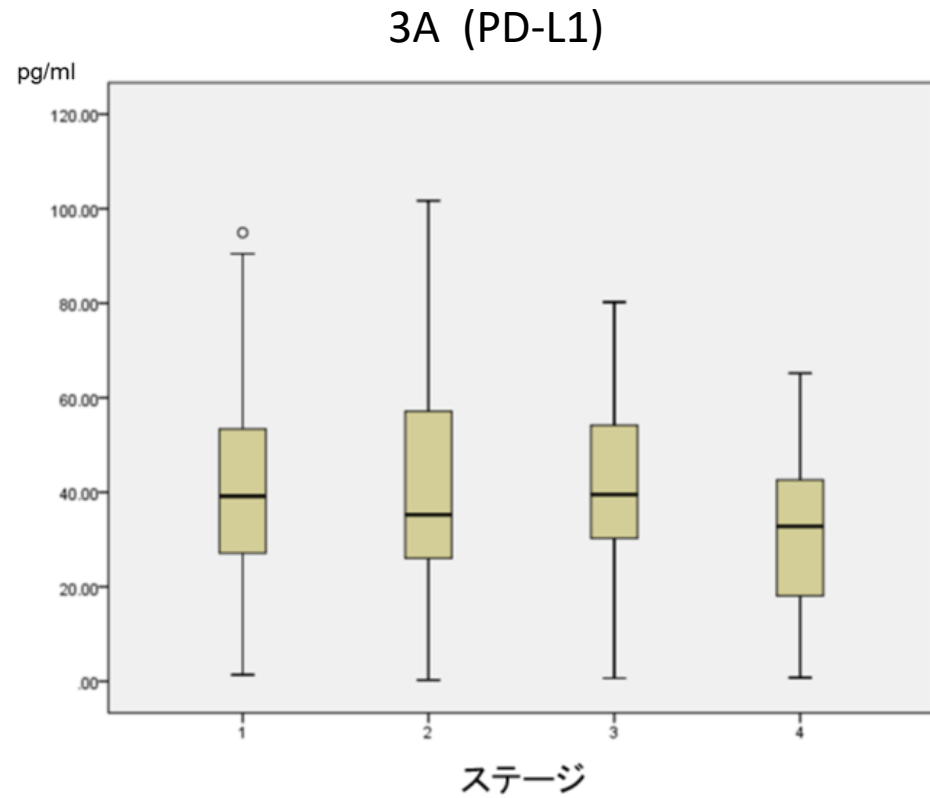
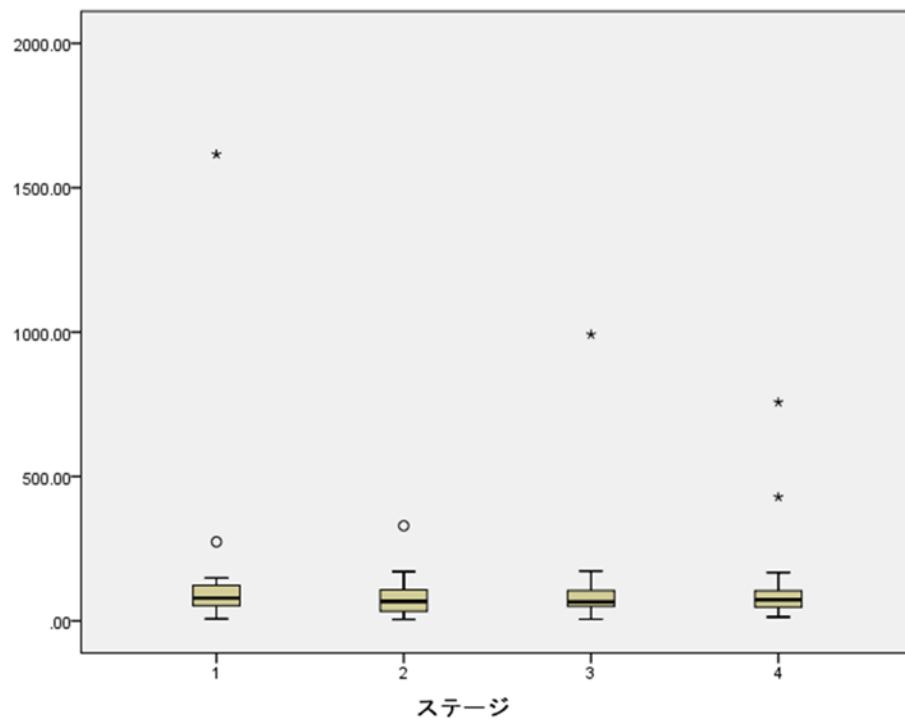


Figure 4A,B 胃癌患者 胃癌組織中PD-L1・PD-L2値と病理ステージの相関

4A (PD-L1)



4B (PD-L2)

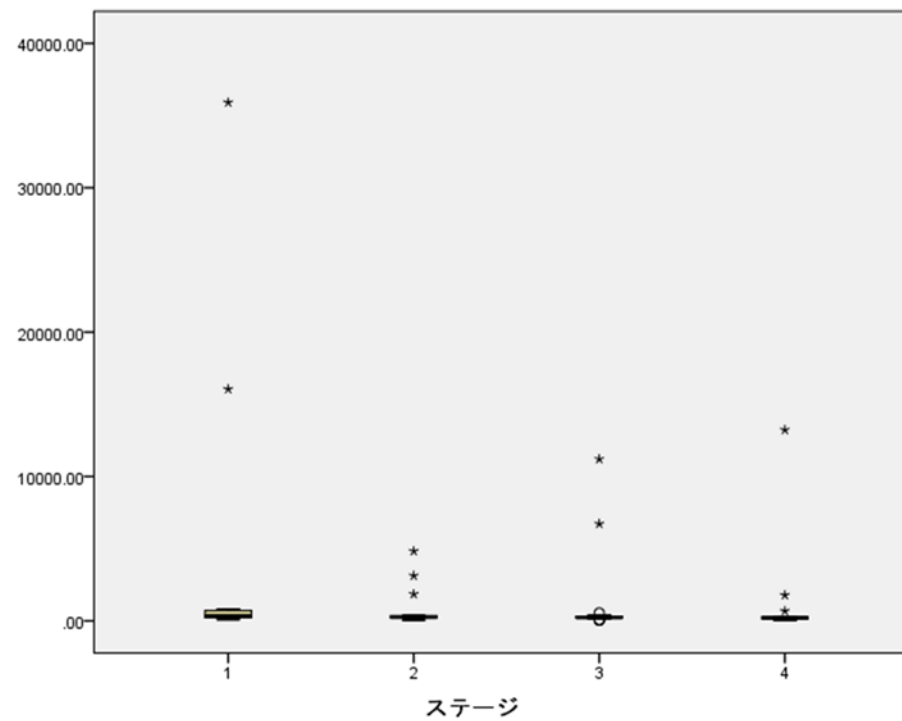


Figure 5A,B 胃癌患者 血漿中PD-L1と全生存期間(OS)・無再発生存期間(DFS)の関係

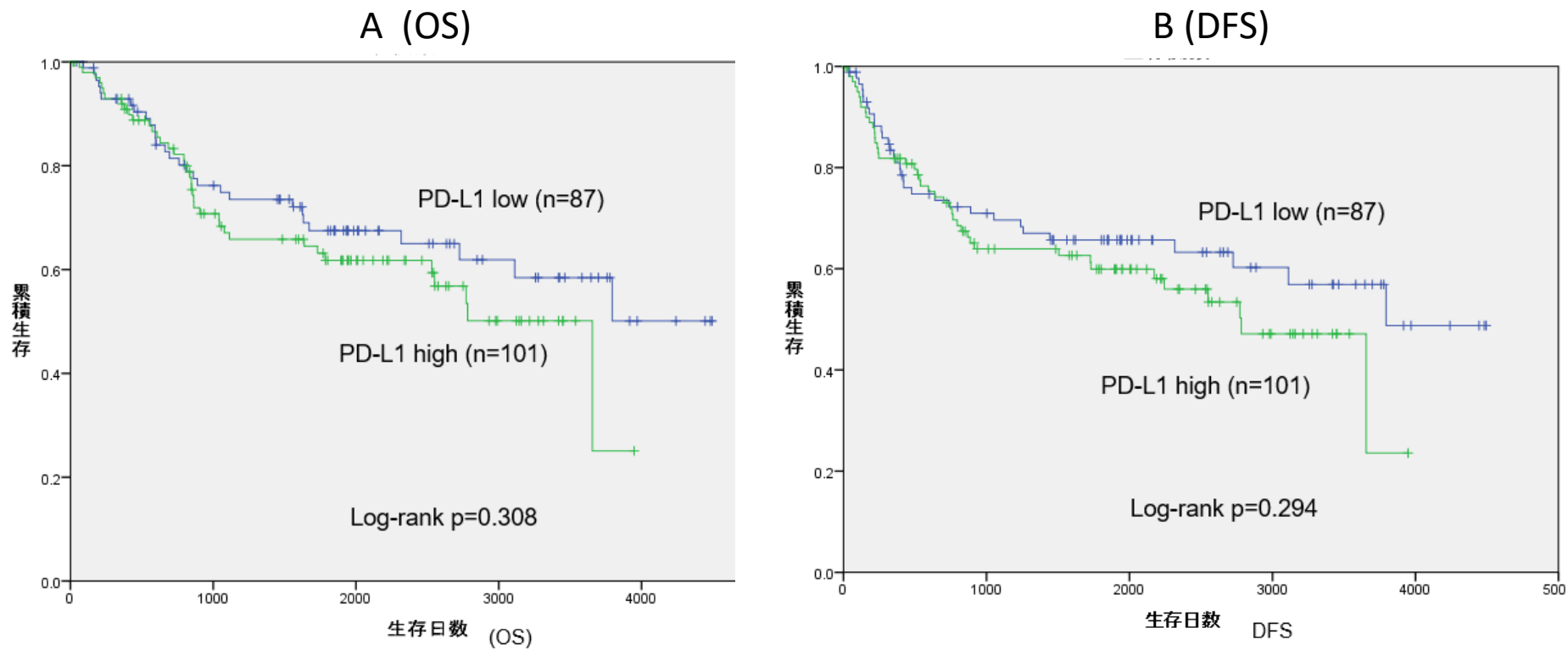


Figure 6A,B 胃癌患者 血漿中PD-L2と全生存期間(OS)・無再発生存期間(DFS)の関係

