氏　　名	五十嵐　知之
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士甲第７６５号
学位授与の要件	学位規則第４条第１項
学位授与年月日	平成２９年　３月１０日
学位論文題目	Scoring of PD-L1 expression intensity on pulmonary adenocarcinomas and the correlations with clinicopathological factors （肺腺がんにおける PD-L1 発現強度の半定量的解析と臨床病理学的所見の関連について）
審査委員	主査　教授　縣　保年
	副査　教授　村田　喜代史
	副査　教授　九嶋　亮治

別紙様式３（課程博士・論文博士共用）

論　文　内　容　要　旨

※整理番号	772	氏名（ふりがな）	五十嵐　知之（いがらし　ともゆき）
学位論文題目	Scoring of PD-L1 expression intensity on pulmonary adenocarcinomas and the correlations with clinicopathological factors		

【目的】

がん細胞は Programmed cell deathligand-1（PD-L1）を発現し、細胞傷害性 T リンパ球（CTL）上の Programmed cell death-1（PD-1）と結合することで、CTL にアナジーを誘導し、生体の免疫監視機構から逃避している。PD-L1/PD-1 経路は、がんの治療標的として関心を集めているが、非小細胞肺がんにおける PD-L1 発現の臨床病理学的意義は未だ不明確である。本研究では、免疫組織化学染色(IHC)における PD-L1 発現の新たな評価方法を開発し、肺線がんにおける PD-L1 発現の臨床病理学的意義を明らかにする。

【方法】

2008 年~2013 年に滋賀医科大学医学部附属病院 呼吸器外科で根治術を施行した肺腺がん 106 例の切除組織検体を用いて PD-L1 の IHC を施行した。臨床病理学的所見は診療録より収集した。本研究は滋賀医科大学倫理審査委員会の承認を受けた。

肺腺がんに対する PD-L1 の IHC 予備実験で、肺胞マクロファージ（AMs）は常に PD-L1 を高発現していたため、AMs の PD-L1 染色強度を、IHC における内在性の陽性コントロールとした。また、がん細胞の PD-L1 染色強度は細胞ごとに不均一であったことから、組織切片内の個々のがん細胞の PD-L1 染色強度を AMs と比較して 4 段階（0: 陰性、1: 弱陽性[AMs より低い染色強度]、2: 中等度陽性[AMs と同等の染色強度]、3: 強陽性[AMs より高い染色強度]）に分類し、観察した視野全体の PD-L1 染色強度を以下の式で半定量化した。H スコア(0～300)=0×陰性細胞の割合(%)+1×PD-L1 弱陽性細胞の割合(%)+2×PD-L1 中等度陽性細胞の割合(%)+3×PD-L1 強陽性細胞の割合(%)。組織切片全体を 200 倍の視野で顕鏡し、任意の 3 視野における H スコアの平均を、その症例の PD-L1 発現スコアとした。臨床病理学的所見との関連については、Mann-*U* test で、無再発生存期間は Kaplan-Meier 曲線を作成したうえ Log rank 検定で統計学的解析を行った。

（備考）１．論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、２千字程度でタイプ等を用いて印字すること。
２．※印の欄には記入しないこと。

別紙様式３の２（課程博士・論文博士共用）

（続紙）

【結果】

患者背景は、平均年齢 66.0 歳、喫煙者 62 例（58.5%）、組織亜型は乳頭型腺がんが 38 例（35.8%）と最多で、EGFR 遺伝子変異は 34.9%に認めた。肺線がんの PD-L1 発現スコアは、中央値が 52.3（0.1～273.3）で、リンパ管浸潤（P=0.032）、低分化度（P=0.022）と相関した。EGFR 遺伝子変異や他の臨床病理学的因子との相関は認めなかった。予後情報の得られた 94 症例の検討で、高 PD-L1 発現群は低 PD-L1 発現群に比較して手術後の無再発生存期間が有意に短かった（高 PD-L1 発現群 *vs* 低 PD-L1 発現群=24.1 ヶ月 *vs* 36.4 ヶ月, P=0.035）。

【考察】

非小細胞肺がんにおける PD-L1 発現の臨床病理学的意義に関しては、未だ一定の見解を得られていない。その背景には、IHC において使用する試薬や組織検体の取り扱いの違い、陽性・陰性コントロールが設定されていない、PD-L1 発現の評価のための手技が標準化されていないことが要因として考えられる。本研究では、AMs が PD-L1 を高発現していることに着目し、AMs の発現強度を PD-L1 発現の内在性の陽性コントロールとした。AMs と比較してがん細胞の PD-L1 発現強度を段階的に評価することは、使用する抗体による染色性の違いに影響を受けずに、評価が可能となる。また、IHC 後の PD-L1 陽性細胞の計測に、自動画像解析ソフトを用いる研究もあるが、AMs も PD-L1 陽性細胞として計測される可能性があるため注意を促したい。

IHC での PD-L1 発現強度は、同一切片内でも部位や細胞間で不均一であることは、組織マイクロアレイや内視鏡下生検による微小検体を用いた場合、その症例の PD-L1 発現強度を反映しない可能性がある。従って、本研究のように whole section を用いる方が PD-L1 発現強度の適切な評価が可能と考えた。また、他の研究の多くは、PD-L1 陽性症例の定義として PD-L1 陽性のがん細胞の割合（5%~50%）を用いているが、Cut off 値の設定に明確な根拠は示されていない。本研究で行った PD-L1 の半定量的評価方法は、がん細胞における PD-L1 発現の特性を考慮した適切な評価方法であると考えられた。

【結論】

IHC における肺腺がんの PD-L1 発現の評価法は、AMs の PD-L1 発現強度を陽性コントロールとした半定量的評価方法が、がん細胞にける PD-L1 発現の特性を踏まえていると考えられた。本評価方法により、肺腺がんの PD-L1 発現強度は悪性度（低分化及びリンパ管浸潤）と関連しており、高 PD-L1 発現群において、手術後の無再発生存期間が有意に短いことが示された。

別紙様式８（課程・論文博士共用）

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	772	氏　名	五十嵐　知之
論文審査委員			

（学位論文審査の結果の要旨）（明朝体１１ポイント、６００字以内で作成のこと。）

がん細胞はProgrammed cell death ligand-1（PD-L1）を発現し、細胞傷害性Tリンパ球（CTL）上のProgrammed cell death-1（PD-1）と結合することでCTLを不応答化し、生体の免疫監視機構から逃避している。PD-L1/PD-1経路はがん治療標的として注目されているが、非小細胞肺がんのPD-L1発現に関する評価方法や臨床病理学的意義は不明確である。本研究では、肺がん細胞のPD-L1発現形態の特徴を踏まえた解析方法を開発し、PD-L1発現の臨床病理学的意義を明らかにした。

１）PD-L1の発現は、肺がん組織内で不均一であるが、肺胞マクロファージ(AMs)はPD-L1を恒常的に発現することを見出した。
２）AMsのPD-L1発現強度を内部陽性コントロールとし、肺がん細胞のPD-L1染色強度を半定量的にスコア化する評価方法を開発した。
３）上記方法を用いて、非小細胞肺がんにおけるPD-L1発現は肺がんの悪性度(リンパ管侵襲・低分化度)と関連し、PD-L1高発現群で術後無再発生存期間が不良であることを示した。

本論文は、非小細胞肺がんにおけるPD-L1発現の新たな評価方法を開発し、PD-L1発現の臨床病理学的意義について新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士（医学）の学位論文に値するものと認められた。

（総字数　597　字）

（平成29年　1月　23日　）