

Immunohistological analysis of pancreatic carcinoma after vaccination with survivin 2B peptide: Analysis of an autopsy series.

Kubo T, Tsurita G, Hirohashi Y, Yasui H, Ota Y, Watanabe K, Murai A, Matsuo K, Asanuma H, Shima H, Wada S, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Tsukahara T, Mizuguchi T, Hirata K, Takemasa I, Imai K, Sato N, Torigoe T.

Cancer Sci. 2019 Aug;110(8):2378-2385. doi: 10.1111/cas.14106. Epub 2019 Jul 23.

要旨 当教室では本学消化器・総合、乳腺・内分泌外科および東京大学医科学研究所、神奈川県立がんセンターと共同で有効な治療のない進行膵臓がん患者にサバイビン 2B ペプチドワクチンを用いた無作為化二重盲検群間比較試験を行った。本研究では上記の臨床試験参加者に対して施行された病理解剖組織検体を用いて腫瘍微小環境における免疫学的効果の判定を目的として、対照群を含む 13 例（うち 7 例がワクチン投与群）の病理解剖検体組織を用いて腫瘍組織局所における各種の免疫細胞浸潤の評価した。

1. 背景

がん免疫療法は今や、さまざまな種類の悪性腫瘍において手術、化学療法、および放射線療法に並ぶ 4 番目の標準治療となっている。しかし、免疫チェックポイント阻害薬の単剤投与ではメラノーマ、腎細胞癌、非小細胞肺癌などにおいても奏効率は 3 割程度と満足いくものではない。一方で、免疫チェックポイント阻害薬は非特異的な免疫を誘導することから、さまざまな免疫関連有害事象を引き起こす。したがって、より効果の高い、かつ腫瘍特異的な免疫療法が模索されている。

当教室では、腫瘍特異的な免疫療法の候補として有望な多くの癌特異的および肉腫特異的抗原を探索、同定してきた。その中で、HLA-A24 によって提示される抗アポトーシス分子サバイビンに由来する SVN-2B ペプチドは強い免疫反応を誘発した。さらに、膵癌を含む種々のがん種に対する SVN-2B ペプチドワクチン第 I 相臨床試験では有望な抗腫瘍効果が得られた。このとき、SVN-2B ペプチドワクチンの投与によって重篤な副作用は発生しなかった。また、単剤治療としての SVN-2B ペプチドワクチン投与が、進行膵癌患者の 10 年以上に渡る生存に寄与している症例も存在している。このような背景から、我々は札幌医科大学消化器・総合、乳腺・内分泌外科、東京大学医科学研究所、神奈川県立がんセンターと共同で切除不能かつ既存の治療法に抵抗を示す膵癌を対象とした SVN-2B ペプチド第 II 相無作為化臨床試験を実施した。本研究ではワクチンを受けた 7 人を含む膵癌で死亡した 13 人の患者から剖検で得られた組織標本を免疫組織化学染色にて解析した。

2. 結果

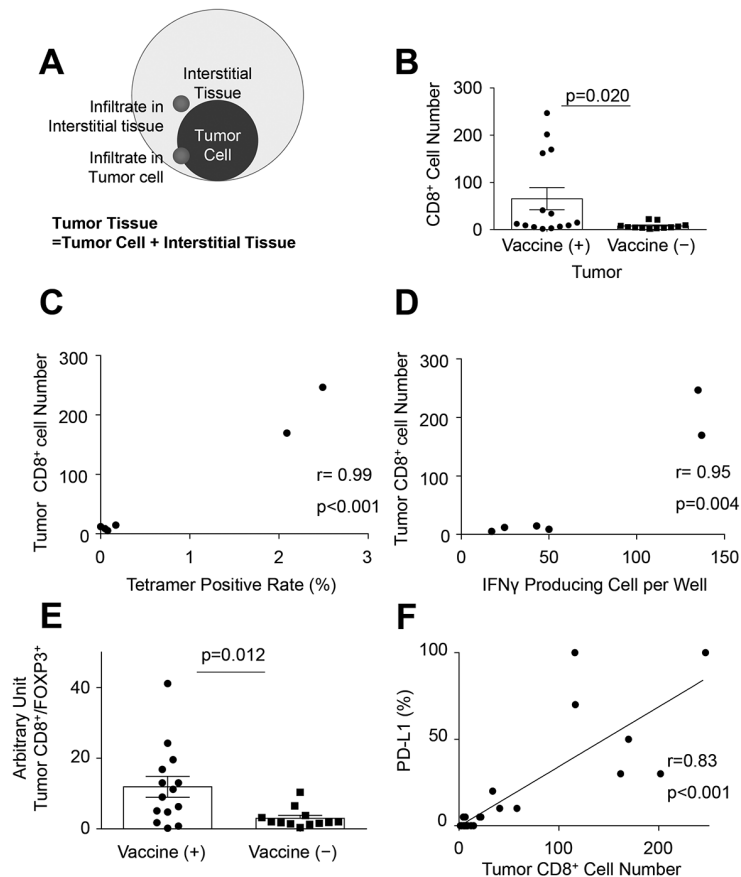
2.1. 臨床試験と病理解剖の概要

本臨床試験では末梢血中のペプチド反応性 IFN γ 産生

Cytotoxic T cell (CTL) の数の増加という免疫学的効果が認められたものの、IFN β の併用の有無にかかわらず SVN-2B ペプチドは無増悪生存を改善しなかった。病理解剖が行われた症例はすべて、癌による死亡であった。すべての症例において、組織学的に腫瘍細胞の大部分は生存していた。

2.2. ワクチン投与群とコントロール群における CD8 陽性細胞および FOXP3 陽性のリンパ球の浸潤

我々は剖検で得られた腫瘍標本の腫瘍微小環境を CD8 陽性細胞の浸潤数を腫瘍組織における抗腫瘍反応の指標として検索した (図 A)。CD8 陽性細胞の浸潤は間質に浸潤するものと腫瘍細胞そのものに浸潤するものを区別して評価した。SVN-2B ワクチンを投与された患者とコントロール群を比較するとワクチン投与群では腫瘍に浸潤している CD8 陽性細胞の数が有意に多かった ($p=0.020$; 図 B)。一方で、間質組織への CD8 陽性細胞の浸潤の程度に両群間に統計的に有意な差はみられなかった。注目すべきことに、ワクチンを投与されたいくつかの症例では腫瘍細胞に豊富な CD8 陽性細胞の浸潤を伴っていたのに対し、ワクチン接種された症例でも、CD8 陽性細胞の浸潤がみられなかった。ペプチド特異的 CD8 陽性 T 細胞の数ペプチド反応性 IFN γ 産生 CD8 陽性 T 細胞数と腫瘍への CD8 陽性細胞の浸潤数には相関がみられた (それぞれ $r=0.99$, $p<0.001$ および $r=0.95$, $p=0.004$, 図 C, D)。さらに、免疫抑制に働く制御性 T 細胞の指標となる FOXP3 陽性細胞の検討を行った。FOXP3 陽性細胞はほぼすべてが、間質への浸潤であった。ワクチン投与群とコントロール群で FOXP3 陽性細胞の浸潤数に有意な差はみられなかったが、腫瘍細胞への CD8 陽性細胞浸潤数と FOXP3 陽性細胞浸潤数の比をとるとワクチン投与群と



- A. 腫瘍浸潤リンパ球および間質浸潤リンパ球のカウント方法の模式図。
 B. ワクチン投与群とコントロール群における腫瘍浸潤 CD8 陽性細胞数。
 C, D. 腫瘍浸潤 CD8 陽性細胞数と末梢血中のテトラマー陽性サバイビン 2B ペプチド特異的な CD8 陽性 T 細胞数 (D), および IFN γ 産生エリスポット陽性を示す CD8 陽性 T 細胞数 (E) の相関。
 E. ワクチン投与群とコントロール群における腫瘍浸潤 CD8 陽性細胞数 / FOXP3 陽性細胞数。
 F. 腫瘍浸潤 CD8 陽性細胞数と腫瘍細胞が発現する PD-L1 の陽性率の相関。

コントロール群の差はさらに浮き彫りとなった (図 E)。

2.3. 腫瘍細胞が発現する PD-L1 と腫瘍への CD8 陽性細胞の浸潤

腫瘍細胞が発現する PD-L1 はいわゆる IFN γ signature として CTL の腫瘍に対する免疫応答のサロゲートマーカーとして様々ながん種で免疫染色によって検索されている。そこで、切片内の腫瘍細胞における PD-L1 の陽性率を評価した。ワクチン投与群は非投与群と比較で、高い PD-L1 発現率を示す傾向がみられたが有意差は認めなかった。しかし、興味深いことに PD-L1 の発現率と腫瘍細胞に浸潤する CD8 陽性細胞の数には統計学的に有意な相関がみられた ($r=0.83$, $P<0.00$, 図 F)。

3. 考察

本研究はペプチドワクチンを用いたがん免疫療法の臨床試験で病理解剖検体を用い、腫瘍局所の免疫微小環境を評価した最初の報告である。

SVN-2B ペプチドワクチン投与群では非投与群と比べて、腫瘍細胞に浸潤する CD8 陽性細胞数が有意に多かった。また、これは腫瘍細胞が発現する PD-L1 と強い

相関を示していた。したがって、腫瘍に浸潤した CD8 陽性細胞は腫瘍に対する免疫反応として IFN γ を高産生していたことが推察される。にもかかわらず、抗腫瘍効果が得られなかったのは PD-1/PD-L1 の作用による CTL 機能の減弱があったのであろう。したがってペプチドワクチンに加えて、PD-1 あるいは PD-L1 阻害薬を併用することで、さらなる抗腫瘍効果を得ることが期待される。

4. 文献

- Shima H, Tsurita G, Wada S, et al. Randomized phase II trial of survivin 2B peptide vaccination for patients with HLA-A24-positive pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Sci.* 2019; 110: 2378-2385.

久保 輝文

略歴

2008 年 札幌医科大学医学部卒業

2013 年 札幌医科大学大学院卒業, 医学博士

Swiss Institute of Allergy and Asthma Research 留学

2015 年 札幌医科大学附属病院病理診断科

2016 年 札幌医科大学医学部病理学第一講座