

転移性腎細胞癌に対する Nivolumab/Ipilimumab 併用療法後の腎癌組織の検討

奥野佑美子, 田中 亮, 三上 耕治, 武内 巧
労働者健康安全機構関東労災病院泌尿器科

RENAL CANCER TISSUE AFTER NIVOLUMAB/IPILIMUMAB COMBINATION THERAPY FOR METASTATIC RENAL CELL CARCINOMA

Yumiko OKUNO, Ryo TANAKA, Koji MIKAMI and Takumi TAKEUCHI

The Department of Urology, Kanto Rosai Hospital

Antibodies that inhibit the function of PD-1, PD-L1, and CTLA4 increase the tumor immune response and suppress tumor growth. These immune checkpoint inhibitors have also been introduced into the treatment of metastatic renal cancer. We report combination therapy with nivolumab and ipilimumab in a case of renal cancer with bone metastasis and subsequent removal of the primary tumor. The patient was a 67-year-old male. Computed tomography (CT) revealed a 6.5 × 5.6 cm renal tumor in the left kidney, with osteolytic metastasis to the left 11th rib and thoracic spine. Irradiation of 30 Gy was performed for the thoracic spine tumors. Then, nivolumab + ipilimumab combination therapy was continued for a total of 4 courses. In addition, 4 courses of nivolumab monotherapy were added. CT after therapy revealed a 15.4% decrease in the length-wise diameter and increase in internal necrosis in the left kidney tumor, as well as shrinkage, absorption reduction, and appearance of a hardened border in the bone metastasis. Therefore, transabdominal left nephrectomy was performed. The histopathological diagnosis was clear cell carcinoma pT1bN0, grade 2. The renal cancer tissue was mostly internal necrosis, and the viable tumor comprised approximately 10%. Marked infiltration of predominantly CD8-positive lymphocytes to the primary tumor site was observed. Postoperatively, nivolumab was discontinued and the patient is under observation. In the specimens from 2 patients treated using pazopanib, a tyrosine kinase inhibitor, prior to renal cell cancer removal, there were fewer CD8- and CD4-positive cells infiltrating the renal cancer than after the combination therapy.

(Hinyokika Kiyo 66 : 13-17, 2019 DOI: 10.14989/ActaUrolJap_66_1_13)

Key words : Renal cancer, Nivolumab, Ipilimumab, CD8

緒 言

PD-1 (programmed cell death 1) はT細胞の細胞死誘導時に強発現される immunoglobulin superfamily の新規遺伝子として1992年に単離・同定された¹⁾。1998年に発表されたPD-1欠損マウスは脾腫、血中免疫グロブリン (IgG2b, IgA, IgG3) の増加、抗IgM抗体に対するB細胞の反応性亢進などを呈し、PD-1は生体内において免疫反応を負に制御していることが示された²⁾。また免疫を抑制する分子であるB7-H1はその受容体PD-1に結合するligandであることが示され、PD-L1と改名された³⁾。Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4) は活性化T細胞に発現される immunoglobulin superfamily の遺伝子であり、1987年に同定され⁴⁾、CTLA4欠損マウスの解析からPD-1と同様にT細胞の活性化を抑制する分子である^{5,6)}。

PD-1, PD-L1, CTLA4の作用を阻害する抗体は腫瘍免疫反応を増強して腫瘍増殖を抑制することが知られている^{7,8)}。これらは免疫チェックポイント阻害薬

(immune checkpoint inhibitor) として転移性腎細胞癌治療にも導入され、腎細胞癌治療は近年大きく変わりつつある。CheckMate 025試験⁹⁾によって転移性腎癌に対し抗PD-1抗体であるnivolumabの有効性がoverall response rate (ORR) とoverall survival (OS) において、mTOR阻害薬であるeverolimusに対して示された。またCheckMate 214試験ではnivolumabと抗CTLA4抗体であるipilimumabの併用療法がInternational Metastatic RCC Database Consortium (IMDC) のpoorおよびintermediateリスク分類の転移性腎細胞癌において、ORRとOSがチロシンキナーゼ阻害薬 (tyrosine kinase inhibitor ; TKI) であるsunitinibに優ることが示された¹⁰⁾。さらにこの併用療法症例の中で9%の症例が完全奏効を示した。

今回、われわれは骨転移を伴う腎細胞癌に対しnivolumabとipilimumabの併用療法 (以下Nivo+Ipi療法と記載する) を行い、その後原発巣の摘出を施行した症例を経験した。摘出腎の組織学的所見をTKIの1つであるpazopanib投与後の腎癌組織と比較し

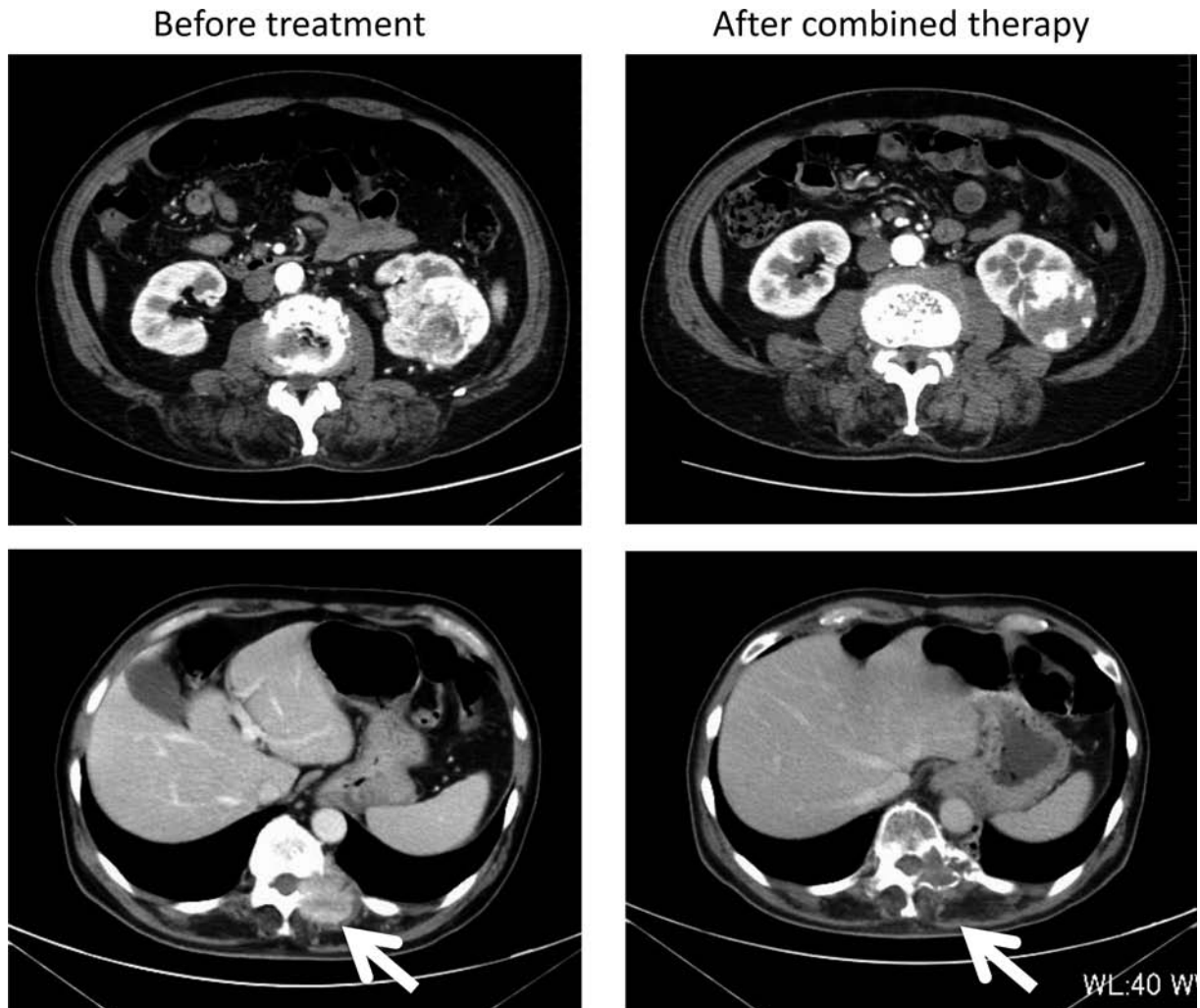


Fig. 1. CT scans for case 1, left: before treatment, right: after four courses of combined therapy of nivolumab and ipilimumab followed by four courses of nivolumab therapy. Upper panel: left renal cancer, lower panel: bone metastasis to Th12 (white arrow).

た。

症 例

患者1: 67歳, 男性. 左下腹部膨隆 (左鼠径ヘルニア), 左背部痛を主訴に当院外科受診した. 造影 CT にて左腎に 6.5×5.6 cm 大の腎腫瘍, 左第11肋骨および第11胸椎溶骨性転移を認め (Fig. 1 下段左), 当科受診となった. 脊柱管に突出する胸椎腫瘍に対しては 30 Gy の放射線照射を行った. 照射中に帯状疱疹を発症し, acyclovir (250 mg) を計 8 日間静注した. Acyclovir 投与終了後, Nivo + Ipi 療法 (nivolumab 3 mg/kg および ipilimumab 1 mg/kg) を開始した. 初回投与から11日後, 体幹を中心に皮疹出現し, 皮膚科受診にて薬疹の診断であった. ステロイド軟膏外用にて皮疹は消失し, Nivo + Ipi 療法は 3 週間隔で計 4 コース継続可能であった. その後, nivolumab 単独療法 (3 mg/kg, 2 週間隔) を 4 コース追加した. その間は皮疹の再燃やその他の有害事象の発現はなかった. Nivo + Ipi 療法開始158日後の造影 CT では左腎腫瘍は

5.5×5.1 cm に縮小し長径で15.4%の減少, 内部壊死増大, 造影効果減弱を認め, また肋骨胸椎転移には縮小, 低吸収化, 硬化縁出現が見られたため (Fig. 1 下段右), Nivo + Ipi 療法開始後174日目に経腹的左腎摘出術を行った. 病理組織診断は淡明腎細胞癌 pT1bN0, grade 2 であった. 腎癌組織は大部分内部壊死に陥っており, viable な腫瘍は全体の10%程度であり, Hematoxylin-Eosin 染色で原発腫瘍部位への著明な浸潤リンパ球が見られ, 組織免疫染色では CD4 陽性リンパ球と CD8 リンパ球が混在しており, CD8 陽性リンパ球が優位であった (Fig. 2 上段). CD4, CD8 染色に用いた抗体は, それぞれ 1F6 (ニチレイバイオサイエンス), C8/114B (ニチレイバイオサイエンス) であった. 術後は nivolumab は継続せず, 経過観察中である.

患者2: 47歳, 男性. めまい, 後頸部痛にて近医受診. MRI にて 2.0 cm の小脳虫部腫瘍を認め, 他院脳神経外科にて開頭頭蓋内腫瘍摘除術を行った. 病理組織診断は転移性腎細胞癌であった. 腹部造影 CT にて

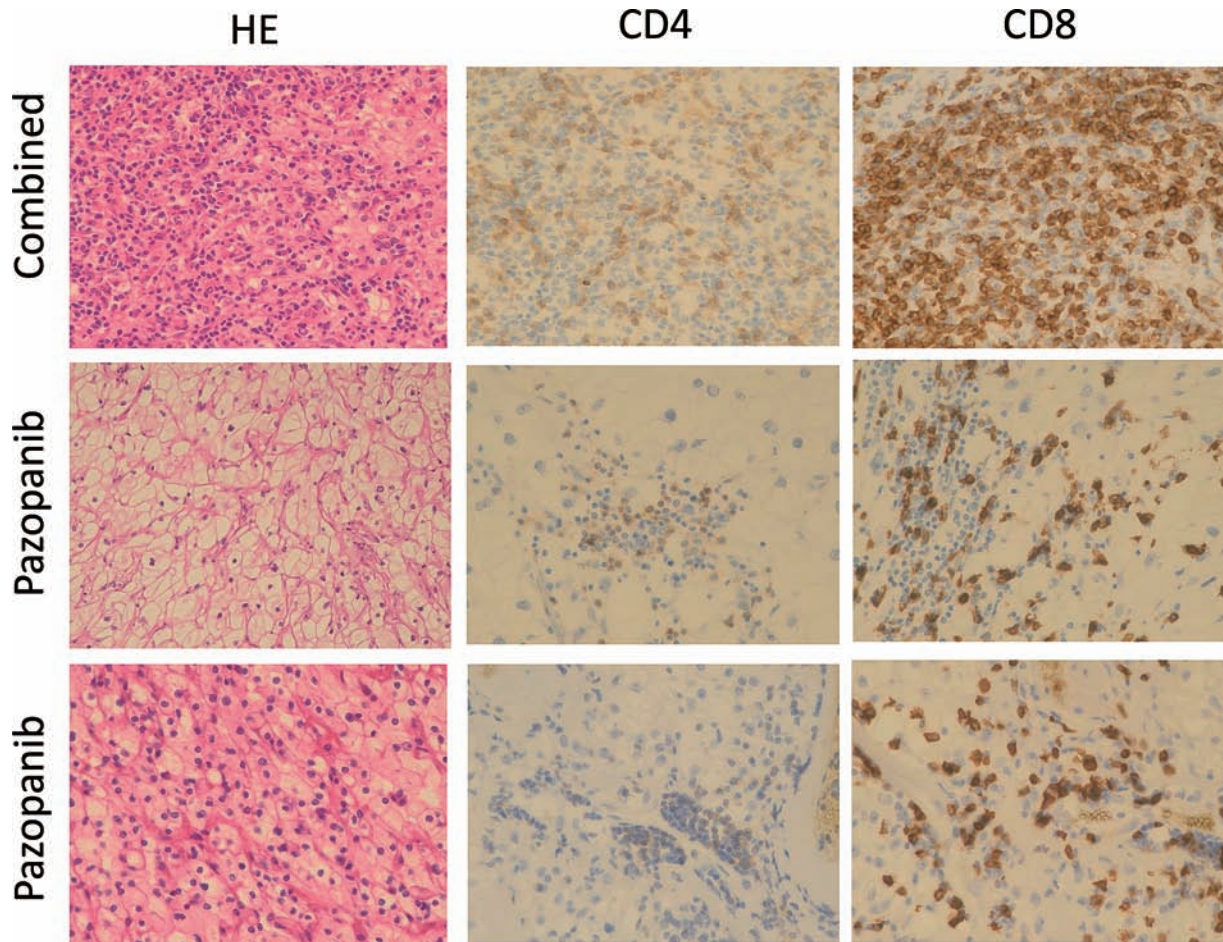


Fig. 2. Histology of renal cancer. Upper panel: Case 1 after four courses of combined therapy of nivolumab and ipilimumab followed by four courses of nivolumab therapy, middle panel: Case 2 after pazopanib therapy, lower panel: Case 3 after pazopanib therapy. Left row: Hematoxylin-eosin staining, middle row: CD4 staining, right row: CD8 staining.

10.5×9.0 cm 大の左腎腫瘍を認め (Fig. 3 上段左), また左後腹膜播種 (4.2 cm 大), 腎門部リンパ節転移 (2.2 cm 大), 両側多発肺転移が指摘された. 治療目的にて当院転院し pazopanib 800 mg/日投与を開始した. 投与開始101日後の CT にて左腎腫瘍は 9.5×8.5 cm と長径で9.5%縮小して充実成分はわずかとなり (Fig. 3 上段右), 左後腹膜播種は 3.6 cm 大に縮小, 腎門部リンパ節転移のサイズは不変, またこれらの病変の内部壊死が進行していた. さらに両側肺転移は縮小していた. 投与開始126日後に経腹的左腎摘出術を施行し, 病理組織診断は淡明腎細胞癌 pT3aN0, grade 3 であった. 腫瘍部位への浸潤リンパ球は Nivo + Ipi 療法よりも少なく, 組織免疫染色では主に CD8 陽性リンパ球であり, CD4 陽性リンパ球は少なかった (Fig. 2 中段).

術後補助療法は行わず経過観察していたが, 左腎摘出術後の CT にて 1~2 mm 大の多発肺転移の増大や新たな肺転移が出現し, nivolumab 3 mg/kg を 2 週間隔で計 2 回投与した. Nivolumab 投与開始後30日後, 嘔吐を主訴に近医受診. 血糖 700 mg/dl と高値であ

り, 糖尿病性ケトアシドーシスが疑われ, 当院受診した. 内分泌学的に精査し nivolumab による劇症型1型糖尿病と診断され, インスリン療法導入が余儀なくされた. 現在腎細胞癌に対しては無治療経過観察中であるが, nivolumab 開始後303日時点で多発肺転移は軽度が増大し, 頭蓋内腫瘍再発は認めていない.

患者3: 69歳, 女性. 37°C 代の微熱にて近医受診. 造影 CT にて 11.0×10.8 cm 大の左腎腫瘍あり (Fig. 3 下段左), また左腎静脈分枝への腫瘍浸潤が疑われた. 当科紹介され pazopanib 800 mg/日を投与開始, 約1カ月後に倦怠感や下痢が出現し 600 mg/日に減量した. 投与開始81日後の CT にて左腎腫瘍は 7.8×7.0 cm と長径で29.1%の縮小を認め, 内部壊死が進行していた (Fig. 3 下段右). 投与開始から108日後に経腹的左腎摘出術を施行した. 病理組織診断は淡明腎細胞癌 pT2N0, grade 2, viable な腫瘍成分は病変全体の約10~20%残存していた. 腫瘍部位への浸潤リンパ球は併用療法よりも少なく, 組織免疫染色では主に CD8 陽性リンパ球であり, CD4 陽性リンパ球はほとんど認めなかった (Fig. 2 下段).

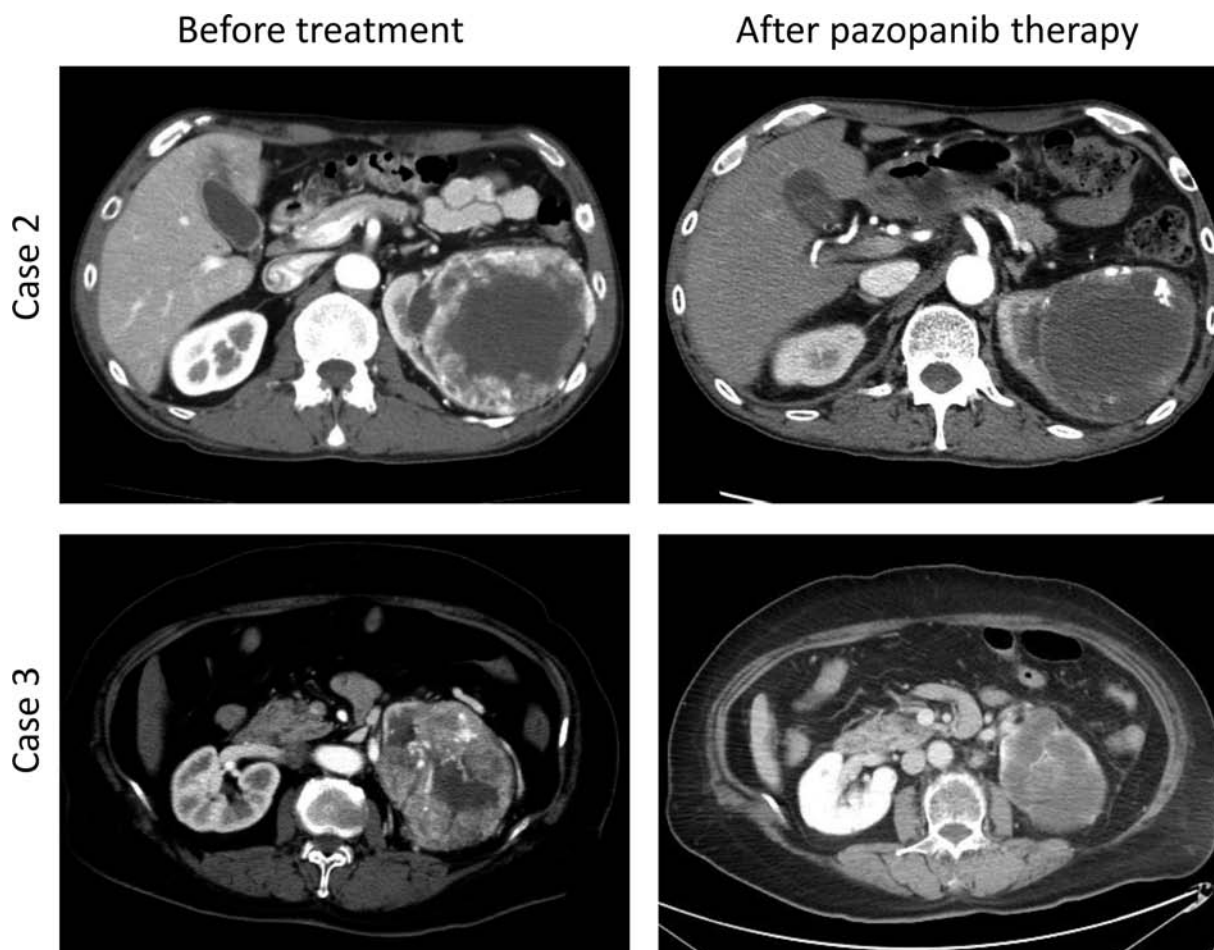


Fig. 3. CT scans for cases 2 and 3, left: before treatment, right: after pazopanib therapy.

術後補助療法は行わずに経過観察していたが、術後の CT にて多発肺転移が出現し、nivolumab 3 mg/kg 投与を 2 週間隔で計 6 回施行した。Nivolumab 開始 80 日後に間質性肺炎が出現したが、prednisolone 経口投与にて間質性肺炎は改善し、また多発肺転移は消失していた。Nivolumab 開始 301 日後の CT にて再発は認めていない。

考 察

今回、Nivo + Ipi 療法施行後に摘出した症例 1 の腎の病理学的検討では腎癌の大部分は壊死に陥っていた。腎癌組織にはリンパ球浸潤が著明であり、組織免疫学的検討では CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞とも浸潤しているが、特に CD8 陽性細胞が優位であった。これらのことから強い細胞性腫瘍免疫が腎癌に対して作用したことが伺える。Labbate らは下大静脈に腫瘍塞栓が進展する淡明左腎細胞癌に対し Nivo + Ipi 療法を施行したところ下大静脈～腎静脈の腫瘍塞栓が完全に消失し、腫瘍摘出術が施行できた症例を報告している¹¹⁾。その摘出標本の病理学的検討では左腎静脈の腫瘍塞栓部位では CD8 陽性細胞の浸潤が著明であったが、原発腎癌組織では見られず、また腫瘍塞栓

では PD-1 発現が見られたが、原発腎癌組織では見られなかったとしている。われわれの症例では原発腎癌組織に CD8 細胞の著明な浸潤が見られたことは Labbate らの報告とは異なっている。肋骨胸椎転移の改善は Nivo + Ipi 療法だけではなく、放射線治療あるいは両者の複合的な効果も否定はできない。

Choueiri らは転移性腎癌に対する nivolumab 単独の投与前後で癌組織の生検を施行し、組織免疫学的な検討を報告している¹²⁾。これによれば nivolumab 投与前に比べて投与後は癌組織に浸潤する CD3 および CD8 陽性細胞は CD4 陽性細胞よりも優位に増加し、PD-L1 の癌細胞における発現は nivolumab 投与によって変化しなかった。また Shirotake らは nivolumab 投与によって転移巣の完全消失をきたした転移性腎癌症例において腎摘出術を施行し、組織学的に癌細胞の消失と CD8 陽性細胞の著明な浸潤を示した¹³⁾。

今回 pazopanib を先行投与した 2 症例の摘出腎標本においては、腎癌に浸潤する CD8、CD4 陽性細胞とも Nivo + Ipi 療法後の腎癌組織に比べて少なかった。これは TKI が細胞性免疫の活性化を主作用とするものではないので、当然ではある。もちろん Nivo + Ipi 療法 1 例と pazopanib 療法 2 例のみの症例提示である

ので, 両治療に対する腎臓明細胞癌における免疫反応を推論, 結論付けられるものではない. しかしながら両症例において pazopanib 投与+腎摘出術治療後に生じた多発肺転移がその後の nivolumab 投与によって消失, あるいは安定化されたことから, 腫瘍に浸潤していた CD8 陽性細胞がその際の腫瘍免疫の惹起に寄与した可能性も推察される. 免疫チェックポイント阻害薬の効果の発現には, 投与前に腫瘍に浸潤している CD8 陽性細胞数が多いことが重要であるとの報告もある¹⁴⁾.

Pazopanib 投与後に腎摘出術を施行した2症例とも残存する, あるいは新たに出現した肺転移に対し手術後に nivolumab を投与し, 双方に別々の免疫関連有害事象 (immune-related adverse event: irAE) が発生した. 免疫チェックポイント阻害薬の効果は irAE が発生した症例において認められやすい¹⁵⁾. 今回, 症例2と3においては nivolumab 投与後に多発肺転移がそれぞれ比較的安定化, あるいは消失している. この nivolumab の効果は両症例が irAE を発症したと関連しているのかもしれない.

結 語

Nivo + Ipi 療法後の腎癌原発巣組織では著明な壊死と腫瘍へのリンパ球浸潤が認められた. 浸潤するリンパ球は CD4 陽性細胞よりも CD8 陽性細胞が優位であった.

文 献

- 1) Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al.: Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J* **11**: 3887-3895, 1992
- 2) Nishimura H, Minato N, Nakano T, et al.: Immunological studies on PD-1 deficient mice: implication of PD-1 as a negative regulator for B cell responses. *Int Immunol* **10**: 1563-1572, 1998
- 3) Dong H, Zhu G, Tamada K, et al.: B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med* **5**: 1365-1369, 1999
- 4) Brunet JF, Denizot F, Luciani MF, et al.: A new member of the immunoglobulin superfamily-CTLA-4. *Nature* **328**: 267-270, 1987
- 5) Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, et al.: Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. *Science* **270**: 985-988, 1995
- 6) Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, et al.: Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* **3**: 541-547, 1995
- 7) Syn NL, Teng MWL, Mok TSK, et al.: De-novo and acquired resistance to immune checkpoint targeting. *Lancet Oncol* **18**: e731-e741, 2017
- 8) Weber J: Immune checkpoint proteins: a new therapeutic paradigm for cancer--preclinical background: CTLA-4 and PD-1 blockade. *Semin Oncol* **37**: 430-439, 2010
- 9) Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al.: Nivolumab versus Everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* **373**: 1803-1813, 2015
- 10) Motzer RJ, Tannir NM, McDermott DF, et al.: Nivolumab plus ipilimumab versus sunitinib in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* **378**: 1277-1290, 2018
- 11) Labbate C, Hatogai K, Wernitz R, et al.: Complete response of renal cell carcinoma vena cava tumor thrombus to neoadjuvant immunotherapy. *J Immunother Cancer* **7**: 66, 2019
- 12) Choueiri TK, Fishman MN, Escudier B, et al.: Immunomodulatory activity of nivolumab in metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* **22**: 5461-5471, 2016
- 13) Shirotake S, Kaneko G, Nagata K, et al.: Histological complete response with nivolumab for renal cell carcinoma with multiple metastases: a case report. *Mol Clin Oncol* **10**: 244-248, 2019
- 14) Wong PF, Wei W, Smithy JW, et al.: Multiplex quantitative analysis of tumor-infiltrating lymphocytes and immunotherapy outcome in metastatic melanoma. *Clin Cancer Res* doi: 10.1158/1078-0432.CCR-18-2652. [Epub ahead of print], 2019
- 15) Ricciuti B, Genova C, De Giglio A, et al.: Impact of immune-related adverse events on survival in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with nivolumab: long-term outcomes from a multi-institutional analysis. *J Cancer Res Clin Oncol* **145**: 479-485, 2019

(Received on April 5, 2019)
(Accepted on September 5, 2019)