

ORIGINAL ARTICLE

免疫チェックポイント阻害剤の効果と末梢血白血球分画の関係

藤本 栄¹・湊 浩¹・小野里良²・藤田 敦²

Relationship Between the Effect of Immune Checkpoint Inhibitors and Peripheral Differential Leukocyte Counts

Sakae Fujimoto¹; Koichi Minato¹; Ryoichi Onozato²; Atsushi Fujita²

¹Department of Pulmonary Medicine, ²Department of Thoracic Surgery, Gunma Prefectural Cancer Center, Japan.

ABSTRACT — **Objective.** The immune status of the tumor microenvironment (TME) in lung cancer patients influences the effect of immune checkpoint inhibitors (ICIs). The effective immune status of ICIs was examined using peripheral differential leukocyte counts. We also searched the relevant literature for data on the relationship between differential leukocyte counts in the peripheral blood and in tumor-infiltrating leukocytes in the TME. **Method.** Peripheral differential leukocyte counts at the time of ICI administration (day 1) and 42 days after ICI administration (day 43) in 83 cases of non-small cell lung cancer treated with ICIs alone at our hospital between February 2016 and October 2019 were included in a Cox regression analysis to identify factors associated with progression-free survival (PFS) and overall survival (OS). **Results.** Higher eosinophil counts in the peripheral blood on day 1 were associated with a significantly improved PFS, and higher monocytes were associated with significantly worse PFS and OS. Higher eosinophil and lymphocyte counts in the peripheral blood on day 43 were associated with significantly improved PFS and OS, and higher basophil and monocyte counts were associated with significantly worse PFS and OS. **Conclusion.** The effect of ICI treatment is related to the peripheral differential leukocyte counts.

(JLCC. 2020;60:958-965)

KEY WORDS — Immune checkpoint inhibitor, Eosinophil, Basophil, Monocyte, Lymphocyte

Corresponding author: Sakae Fujimoto.

Received June 3, 2020; accepted August 25, 2020.

要旨 — **目的.** 肺癌患者の腫瘍微小環境 (TME) の免疫状態が免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) の効果に影響している。末梢血白血球分画と TME での腫瘍浸潤白血球分画との関係を文献的に調べ、末梢血白血球分画で ICI の有効な免疫状態を探索した。 **方法.** 2016 年 2 月～2019 年 10 月までに当院にて ICI 単剤を投与された非小細胞肺癌 83 症例において、ICI 投与時 (Day 1) と ICI 投与後 42 日 (Day 43) の末梢血白血球分画を無増悪生存期間 (PFS) と全生存期間 (OS) に対して Cox 回帰解析を行った。 **結果.** Day 1 の末梢血において、好酸球数が高

いほど PFS を有意に良好にし、単球数が高いほど PFS と OS を有意に不良にした。 Day 43 の末梢血において、好酸球数とリンパ球数が高いほど PFS と OS を有意に良好にし、好塩基球数と単球数が高いほど PFS と OS を有意に不良にした。 Day 1 に比べ Day 43 の末梢血好中球数が高いほど、PFS と OS を有意に不良にした。 **結論.** ICI 治療の効果と末梢血白血球分画は関連している。

索引用語 — 免疫チェックポイント阻害剤、好酸球、好塩基球、単球、リンパ球

はじめに

進行非小細胞肺癌患者に免疫チェックポイント阻害剤 (ICI) が使用できるようになり、その効果予測因子として腫瘍組織の PD-L1 発現が考えられていたが、期待されたほどには予測されなかった。そのような中私たちは、ICI 投与前の組織浸潤好酸球数の多さが、ICI 治療の無増悪生存期間 (PFS) を延長させることを報告した。¹ 好酸球以外にも、リンパ球やマクロファージなどが腫瘍微小環境 (TME) の免疫状態に関係している。² この TME の免疫状態を調べることは、ICI 効果を予測する上で重要である。ICI 投与時は組織検体があるため免疫状態を調べられるが、ICI 投与後に TME の免疫状態を調べることは、検体採取の問題のため困難である。しかし、末梢血好酸球数と腫瘍組織浸潤好酸球数とに正相関の関係があり、¹ 末梢血好酸球数によって腫瘍組織好酸球浸潤数を推測できる。実際に、ICI 投与前の末梢血好酸球数の高さも、腫瘍組織好酸球浸潤数の多さと同様に PFS を良好にしている。³ 末梢血好酸球以外にも末梢血好中球数が低く、末梢血リンパ球数が高い場合、ICI 治療による PFS を良好にする。³ 末梢血好酸球数と同様に、末梢血白血球分画と TME での白血球分画とに相関関係がある場合、これらの末梢血白血球分画が ICI 効果に影響していることを容易に説明できる。この関係を文献的に検討し、ICI 投与前後の末梢血白血球分画と PFS と全生存期間 (OS) との関係調べ、ICI に有効な TME の免疫状態を探索した。

方法

2016 年 2 月～2019 年 10 月まで、当院呼吸器内科にて ICI 単剤を投与された非小細胞肺癌患者 100 人のうち、ICI 投与前 30 日以内にプレドニゾロン (PSL) 10 mg 以上を投与された患者 17 人を除外した 83 人を解析対象とした。2020 年 1 月に患者情報を診療記録に基づき収集した。PFS は、ICI 投与日から画像検査にて増悪が確認された日までの期間とした。OS は、ICI 投与日から死因に関係なく死亡日までの期間とした。Cox ハザード比例モデルを使用して、ICI 治療による PFS と OS に対して臨床情報と検査データを単変量解析した。その後、臨床的意義を踏まえ、年齢、パフォーマンスステータス (PS)、22C3 抗体を用いた PD-L1 IHC 検査 (PD-L1 TPS)、血清アルブミン (Alb)、及び血清 LDH を共変量とし、ICI 投与時 (Day 1) と ICI 投与後 42 日 (Day 43) の末梢血白血球分画 (絶対数) を変数減法 (尤度比) で多変量解析した。共変量が量的変数 (スケール/連続変数) の場合は単位量に対するハザード比 (HR) で示した。また、Day 43 の末梢血データがある 71 人を PFS < 4 ヶ月 (n=27) と PFS

≥ 4 ヶ月 (n=44) に 2 群化し、Day 1 と Day 43 の末梢血白血球分画 (絶対数) を t 検定、ペア t 検定、及び反復測定 2 元配置分散分析にて検定した。今回、Day 43 の末梢血データがある患者を 2 群化するために PFS=4 ヶ月を使用した。ICI 投与後 3 ヶ月間は免疫システムが自然応答から適応応答に変換するのに必要な時間とされており、⁴ ICI 効果を比較するため十分な期間と考えられたからである。これらの統計処理は IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0 (NY, IBM Corp.) を使用し、両側 p 値 < 0.05 を有意とした。数値は、全て最終桁で切り捨てをした。

結果

ICI 単剤を投与された非小細胞肺癌患者 83 人の臨床情報と、単変量解析での PFS と OS に対する HR を Table 1 に示す。単変量解析において、末梢血白血球分画 (絶対数) による PFS と OS に対する HR を Table 2 に示す。Day 1 の末梢血において、各白血球分画は、PFS や OS に対する HR に影響しなかった。Day 43 の末梢血において、好中球数と単球数が高いほど PFS と OS の HR が有意に高くなった (好中球: PFS; HR 1.000, p=0.001, OS; HR 1.000, p=0.004, 単球: PFS; HR 1.001, p=0.010, OS; HR 1.001, p=0.011)。また、リンパ球数が高いほど PFS と OS の HR が有意に低くなった (PFS; HR 0.999, p=0.008, OS; HR 0.999, p=0.039)。Day 1 と Day 43 との末梢血好中球数の差が大きくなるほど PFS と OS の HR が有意に高く (PFS; HR 1.000, p=0.004, OS; HR 1.000, p=0.010)、リンパ球数ではその差が大きくなるほど PFS の HR が有意に低くなった (PFS; HR 0.999, p=0.027)。

PFS と OS とに対して、年齢、PS、PD-L1 TPS、血清 Alb、血清 LDH、及び末梢血白血球分画 (絶対数) による多変量解析を施行し、Cox 比例ハザードモデルを形成する共変量を Table 3 に示した。Day 1 の末梢血において、好中球数が高いほど OS の HR が有意に低く (HR 0.999, p=0.014)、好酸球数が高いほど PFS の HR が有意に低くなった (HR 0.998, p=0.043)。単球数が高いほど PFS と OS の HR が有意に高くなった (PFS; HR 1.001, p=0.006, OS; HR 1.002, p=0.002)。Day 43 の末梢血において、好酸球数とリンパ球数が高いほど PFS と OS の HR が有意に低くなった (好酸球: PFS; HR 0.998, p=0.029, OS; HR 0.997, p=0.022, リンパ球: PFS; HR 0.998, p<0.001, OS; HR 0.999, p=0.024)。好塩基球数と単球数が高いほど PFS と OS の HR が有意に高くなった (好塩基球: PFS; HR 1.013, p=0.037, OS; HR 1.025, p=0.005, 単球: PFS; HR 1.001, p<0.001, OS; HR 1.002, p<0.001)。Day 1 と Day 43 との末梢血好中球数の差が大きくなるほど PFS と OS の HR が有意に高

Table 1. Univariate Analysis of Clinical Characteristics and Laboratory Data Associated with PFS and OS

		*PFS		*OS	
		HR (95%CI)	p-value	HR (95%CI)	p-value
Age; median (range), years	68 (39 to 88)	0.977 (0.953 to 1.003)	0.089	1.000 (0.965 to 1.036)	0.983
Sex					
Female	19	1		1	
Male	64	0.894 (0.479 to 1.667)	0.726	1.171 (0.504 to 2.719)	0.712
ECOG PS 0/1/2	30/46/7	1.820 (1.188 to 2.787)	0.005	2.609 (1.467 to 4.640)	0.001
Smoking status					
Never smoked	11	1		1	
Former/Current smoker	72	0.818 (0.386 to 1.735)	0.601	0.643 (0.264 to 1.566)	0.331
Clinical stage					
Recurrence or III	25	1		1	
IV	58	1.067 (0.602 to 1.892)	0.823	2.212 (0.909 to 5.378)	0.079
Histology					
Non-squamous cell carcinoma	52	1		1	
Squamous cell carcinoma	31	0.861 (0.489 to 1.514)	0.604	0.762 (0.360 to 1.613)	0.478
Gene abnormality (EGFR, ALK)					
No/Unknown/Yes	49/24/10	1.149 (0.789 to 1.672)	0.468	1.130 (0.692 to 1.844)	0.623
PD-L1 (22C3) TPS					
<50%/Unknown/≥50%	19/27/37	0.652 (0.472 to 0.901)	0.009	0.737 (0.468 to 1.160)	0.188
ICI					
Nivolumab	34	1		1	
Pembrolizumab	42	0.567 (0.324 to 0.993)	0.047	0.670 (0.329 to 1.364)	0.270
Atezolizumab	7	1.413 (0.538 to 3.710)	0.482	0.653 (0.084 to 5.022)	0.682
Palliative irradiation before ICI					
No	57	1		1	
Yes	26	1.372 (0.770 to 2.443)	0.282	0.581 (0.298 to 1.098)	0.581
Total protein, g/dl	7.1 (5.4 to 8.5)	0.878 (0.529 to 1.456)	0.614	0.591 (0.314 to 1.114)	0.104
Serum albumin, g/dl	3.6 (1.8 to 4.5)	0.485 (0.288 to 0.815)	0.006	0.280 (0.143 to 0.549)	<0.001
Serum LDH, U/l	225 (113 to 608)	1.003 (1.000 to 1.005)	0.007	1.004 (1.001 to 1.006)	0.002

*PFS and OS were analyzed by univariate Cox proportional hazards models.

Abbreviations: PFS, progression-free survival; OS, overall survival; HR, hazard ratio; 95%CI, 95% confidence interval; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status; EGFR, epidermal growth factor receptor; ALK, anaplastic lymphoma kinase; PD-L1, programmed death ligand 1; TPS, tumor proportion score; ICI, immune checkpoint inhibitor; LDH, lactic acid dehydrogenase.

く (PFS ; HR 1.000, $p=0.001$, OS ; HR 1.000, $p=0.001$), リンパ球数はその差が大きくなるほど PFS の HR が有意に低くなった (PFS ; HR 0.999, $p=0.007$).

Day 43 の末梢血データのある対象集団 ($n=71$) を PFS <4 ヶ月 ($n=27$) と PFS ≥ 4 ヶ月 ($n=44$) との 2 群に分けて, Day 1 と Day 43 での末梢血白血球分画 (絶対数) を比較した. Day 1 の白血球分画において PFS <4 ヶ月と PFS ≥ 4 ヶ月で有意差はなかった (Figure 1A~1F). Day 43 の末梢血において PFS ≥ 4 ヶ月が PFS <4 ヶ月に比べ, 好中球数が有意に低く ($p=0.040$), リンパ球数が有意に高かった ($p=0.001$). また, Day 1 から Day 43 の末梢血において好中球数が PFS ≥ 4 ヶ月と PFS <4 ヶ月の間で有意な変化がなかった ($p=0.066$), リンパ球数では有意な変化があった ($p=0.007$). 特に, リンパ球数が PFS <4 ヶ月において Day 1 に比べ Day 43 で有意に低下し

ていた ($p=0.022$).

考察

今回, ICI 治療の PFS と OS に関連する末梢血白血球分画を調べた. さらに, 末梢血白血球分画と TME での腫瘍浸潤白血球分画との関係を文献的に調べ, 末梢血白血球分画で ICI の有効な免疫状態を探索した.

好中球

これまで ICI 治療前の末梢血好中球数が高い場合, PFS と OS が不良となることが報告されている.³ 腫瘍浸潤好中球は, 腫瘍関連好中球とも呼ばれ, 抗腫瘍作用 (N1) と腫瘍成長促進作用 (N2) の 2 つの状態がある.⁵ その腫瘍浸潤好中球数と末梢血好中球数とに正相関の関係があるため,⁶ 末梢血好中球数の高さは, N2 好中球を反映し予後不良になると考えられる. 今回の多変量解析

Table 2. The Univariate Analysis of the Association Between Peripheral Differential Leukocyte Counts and PFS and OS

		*PFS		*OS	
		HR (95%CI)	p-value	HR (95%CI)	p-value
On day 1 (n = 83)					
White blood cells, / μ l	7390 (3020 to 22200)	1.000 (1.000 to 1.000)	0.792	1.000 (0.999 to 1.000)	0.072
Neutrophils, / μ l	5020 (1654 to 20357)	1.000 (1.000 to 1.000)	0.604	1.000 (0.999 to 1.000)	0.061
Eosinophils, / μ l	145 (0 to 2286)	0.999 (0.998 to 1.000)	0.285	0.999 (0.999 to 1.000)	0.981
Basophils, / μ l	27 (0 to 91)	0.999 (0.986 to 1.013)	0.968	1.003 (0.984 to 1.022)	0.716
Monocytes, / μ l	628 (151 to 1890)	1.000 (0.999 to 1.001)	0.113	1.001 (0.999 to 1.002)	0.060
Lymphocytes, / μ l	1554 (319 to 3274)	0.999 (0.999 to 1.000)	0.269	0.999 (0.998 to 1.000)	0.143
On day 43 (n = 71)					
White blood cells, / μ l	7370 (1990 to 18300)	1.000 (1.000 to 1.000)	0.010	1.000 (1.000 to 1.000)	0.010
Neutrophils, / μ l	4543 (1354 to 16817)	1.000 (1.000 to 1.000)	0.001	1.000 (1.000 to 1.000)	0.004
Eosinophils, / μ l	127 (0 to 1238)	1.000 (0.999 to 1.001)	0.824	1.000 (0.998 to 1.001)	0.777
Basophils, / μ l	28 (0 to 123)	1.004 (0.994 to 1.015)	0.376	1.008 (0.995 to 1.021)	0.207
Monocytes, / μ l	582 (91 to 2044)	1.001 (1.000 to 1.001)	0.010	1.001 (1.000 to 1.002)	0.011
Lymphocytes, / μ l	1533 (214 to 3530)	0.999 (0.998 to 0.999)	0.008	0.999 (0.999 to 1.000)	0.039
Differences in measurements between days 1 and 43 (n = 71)					
[†] δ White blood cells, / μ l	100 (-14490 to 10490)	1.000 (1.000 to 1.000)	0.017	1.000 (1.000 to 1.000)	0.014
[†] δ Neutrophils, / μ l	17 (-14860 to 9977)	1.000 (1.000 to 1.000)	0.004	1.000 (1.000 to 1.000)	0.010
[†] δ Eosinophils, / μ l	-11 (-1845 to 1130)	1.000 (0.999 to 1.001)	0.443	1.000 (0.998 to 1.001)	0.997
[†] δ Basophils, / μ l	1 (-81 to 116)	1.003 (0.994 to 1.013)	0.521	1.000 (0.993 to 1.018)	0.347
[†] δ Monocytes, / μ l	-23 (-1247 to 761)	1.001 (0.999 to 1.002)	0.295	1.000 (0.999 to 1.002)	0.488
[†] δ Lymphocytes, / μ l	-64 (-2193 to 1980)	0.999 (0.999 to 0.999)	0.027	1.000 (0.999 to 1.000)	0.948

*Factors associated with PFS and OS were analyzed by univariate Cox proportional hazards models.

[†] δ indicates the value obtained by subtracting the peripheral differential leukocyte count on day 1 from that on day 43.

Abbreviations: PFS, progression-free survival; OS, overall survival; HR, hazard ratio; 95%CI, 95% confidence interval.

では、Day 1の末梢血好中球数が高いほどOSが良好となり、従来の報告とは反対となった。一方で、Day 43では末梢血好中球数が高いほどPFSとOSを不良にし、従来の報告と一致した。PFS < 4ヶ月とPFS \geq 4ヶ月の末梢血好中球数を比較したところ、Day 1では有意差はなかったが、Day 43ではPFS \geq 4ヶ月で有意に低い。ICIは、末梢血好中球数に影響しながら、PFSとOSに影響しているため、Day 1とDay 43との末梢血好中球数で異なる結果となったと考える。

好酸球

以前の研究でICI投与前の末梢血好酸球数と組織浸潤好酸球数には正相関の関係があることを示した。¹ 今回、これまでの報告のようにDay 1の末梢血好酸球数が高いほどPFSが良好であった。好酸球を増加させるサイトカインにIL-2、IL-4、及びIL-5がある。リンパ球を増加させるIL-2は、付随的に好酸球を上昇させるが、⁷ Day 1の末梢血リンパ球数がPFSに影響のない状態で、Day 1の末梢血好酸球数に関与する可能性は低い。IL-5は好酸球や好塩基球を増加させる。しかし、ICI投与による末梢血IL-5増加は、OSを不良にした。⁴ 今回の結果におい

ても、Day 43においては末梢血好塩基球数が高いほどPFSとOSを不良にした。このため、好酸球数に関与する可能性は低い。一方で、ICI投与前の末梢血IL-4は高いほど全奏効率(ORR)を改善させた。⁴ 今回、Day 1の末梢血好酸球数が高いほどPFSを良好にした。末梢血IL-4は末梢血好酸球と同様にICI効果を高めるため、末梢血IL-4が末梢血好酸球に関係している可能性がある。

好塩基球

好塩基球においても、腫瘍成長促進作用と抗腫瘍作用との2つの状態があり、⁸⁻¹¹ 癌腫によってその作用が異なる。¹² 今回、Day 1の末梢血好塩基球数はPFS、OSに影響しなかったが、Day 43の末梢血好塩基球数が高いほどPFSとOSを不良にした。肺組織において好塩基球はマクロファージをM2に分極化させるため、¹³ 腫瘍成長促進に働いていることが考えられ、ICI治療に不利益な免疫状態をもたらしていると考えられる。

単球

末梢血単球は、腫瘍組織内で骨髄由来抑制細胞(MDSC)やマクロファージになる潜在的能力がある。特に、腫瘍組織浸潤マクロファージは、腫瘍関連マクロ

Table 3. The Multivariate Analysis of the Association Between Peripheral Differential Leukocyte Counts and PFS and OS

	*PFS		*OS	
	HR (95%CI)	p-value	HR (95%CI)	p-value
On day 1 (n = 83)				
PD-L1 (22C3) TPS	0.625 (0.448 to 0.870)	0.005	-	
Serum albumin, g/dl	0.330 (0.117 to 0.624)	<0.001	0.191 (0.081 to 0.448)	<0.001
Serum LDH, U/l	-		1.002 (1.000 to 1.005)	0.043
Neutrophils, / μ l	0.999 (0.999 to 1.000)	0.076	0.999 (0.999 to 0.999)	0.014
Eosinophils, / μ l	0.998 (0.997 to 0.999)	0.043	-	
Basophils, / μ l	-		-	
Monocytes, / μ l	1.001 (1.000 to 1.003)	0.006	1.002 (1.000 to 1.004)	0.002
Lymphocytes, / μ l	-		0.999 (0.998 to 1.000)	0.073
On day 43 (n = 71)				
Age, years	-		1.049 (0.997 to 1.103)	0.062
ECOG PS	-		2.459 (1.010 to 5.477)	0.027
Serum albumin, g/dl	0.580 (0.305 to 1.101)	0.095	-	
Serum LDH, U/l	1.004 (1.001 to 1.007)	0.001	1.006 (1.002 to 1.009)	<0.001
Neutrophils, / μ l	-		-	
Eosinophils, / μ l	0.998 (0.996 to 0.999)	0.029	0.997 (0.995 to 0.999)	0.022
Basophils, / μ l	1.013 (1.000 to 1.025)	0.037	1.025 (1.007 to 1.044)	0.005
Monocytes, / μ l	1.001 (1.000 to 1.002)	<0.001	1.002 (1.000 to 1.003)	<0.001
Lymphocytes, / μ l	0.998 (0.998 to 0.999)	<0.001	0.999 (0.998 to 0.999)	0.024
Differences in measurements between days 1 and 43 (n = 71)				
Serum albumin, g/dl	0.406 (0.213 to 0.774)	0.006	0.351 (0.157 to 0.788)	0.011
Serum LDH, U/l	1.003 (1.000 to 1.006)	0.007	1.004 (1.001 to 1.007)	0.005
[†] δ Neutrophils, / μ l	1.000 (1.000 to 1.000)	0.001	1.000 (1.000 to 1.000)	0.001
[†] δ Eosinophils, / μ l	-		-	
[†] δ Basophils, / μ l	-		-	
[†] δ Monocytes, / μ l	-		-	
[†] δ Lymphocytes, / μ l	0.999 (0.998 to 0.999)	0.007	-	

*PFS and OS were analyzed by multivariate Cox proportional hazards models based on the backward elimination process.

[†] δ indicates the value obtained by subtracting the peripheral differential leukocyte count on day 1 from that on day 43.

Abbreviations: PFS, progression-free survival; OS, overall survival; HR, hazard ratio; 95%CI, 95% confidence interval; PD-L1, programmed death ligand 1; TPS, tumor proportion score; LDH, lactic acid dehydrogenase; ECOG PS, Eastern Cooperative Oncology Group performance status.

ファージ (TAM) と呼ばれ、抗腫瘍作用 (M1) と腫瘍促進作用 (M2) との 2 つの状態がある。¹⁴ 今回、Day 1 において末梢血単球数が高いほど PFS と OS を不良にした。血液腫瘍では末梢血単球の割合と CD68⁺ 及び CD163⁺ 細胞として表される TAM 含有量 (M2 マクロファー) とに正相関の関係がある。¹⁵ Day 1 の末梢血単球数の高さは、M2 マクロファーを代表し、PFS と OS を不良にした可能性がある。また、末梢血単球数の高さは、Day 43 においても PFS と OS を不良にしたが、Day 1 と Day 43 との差は PFS と OS に影響しなかった。さらに、PFS < 4 ヶ月と PFS \geq 4 ヶ月の群で末梢血単球数に有意差がなかった。これらのことより、ICI は、好中球と異なり、

単球に影響できず、単球の免疫抑制解除ができないため、ICI 治療の PFS と OS を不良にしていると考えられる。

リンパ球

ICI 投与前の末梢血リンパ球数は高いほど PFS と OS とを良好にするが、³ 今回の結果では、Day 1 の末梢血リンパ球数は予後に影響しなかった。他の白血球分画と異なり、治療前では、末梢血リンパ球数と腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) との相関関係は一定でない。¹⁶⁻¹⁸ このため、Day 1 の末梢血リンパ球数は予後に影響しなかった可能性がある。一方で、Day 43 には、末梢血リンパ球数が高いほど PFS と OS を良好にし、従来の報告と一致した。PFS < 4 ヶ月と PFS \geq 4 ヶ月の末梢血リンパ球数を比較した

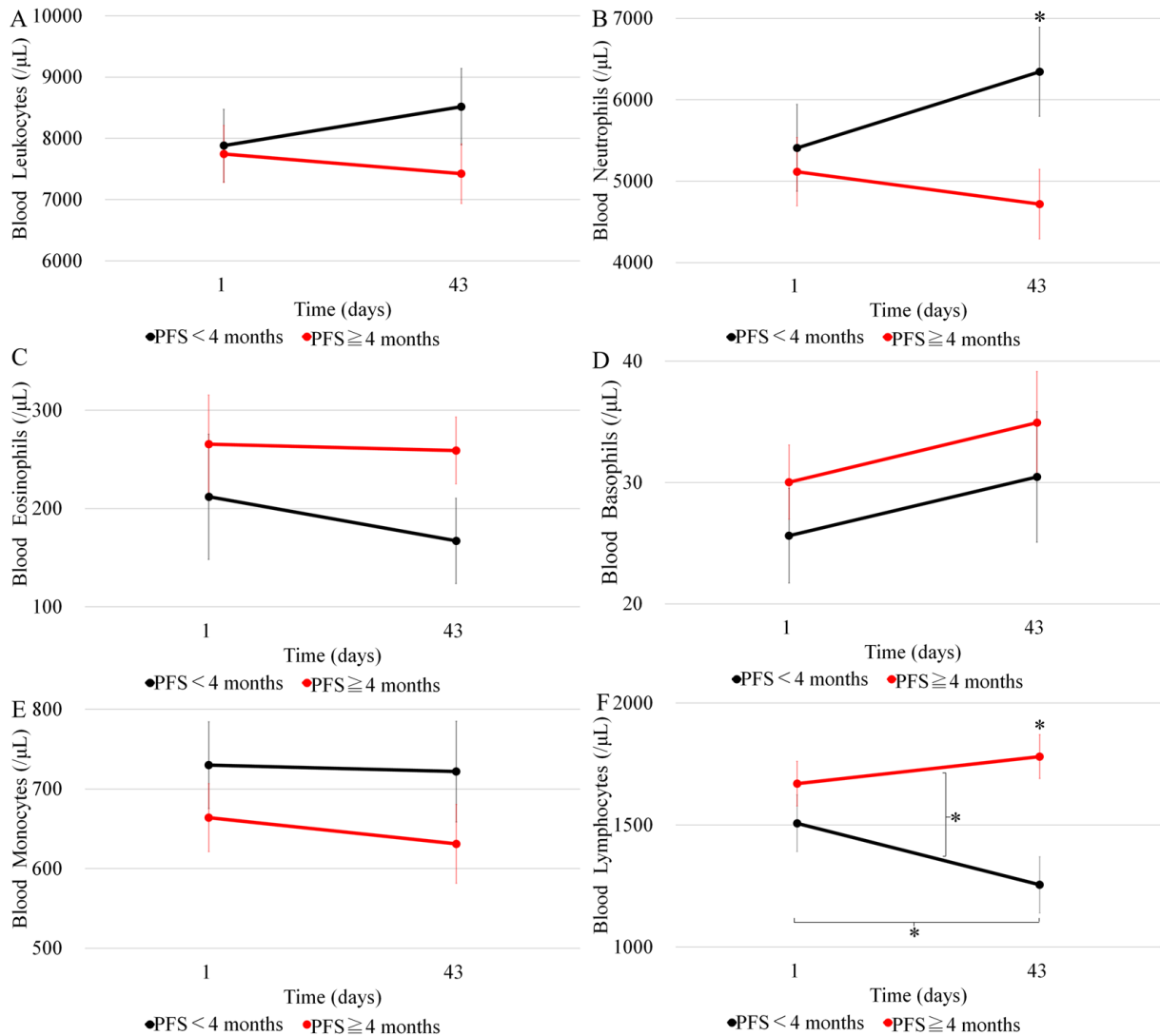


Figure 1. (A-F) These figures show the peripheral total and differential leukocyte counts in the PFS < 4 months ($n = 27$) and PFS \geq 4 months ($n = 44$) groups on days 1 and 43. PFS, progression-free survival; * $p < 0.05$.

ところ、Day 1では有意差はなかったが、Day 43ではPFS < 4ヶ月で有意に低く、ICIが末梢血リンパ球数に影響している可能性がある。ICI効果のある場合、4週間以内にCD8⁺T細胞が増殖し、¹⁹ ICI投与後のIL-2増加がOSを改善させており、⁴ 末梢血リンパ球数を供給させていることが考えられる。ICIは、末梢血リンパ球数に影響しながら、PFSとOSに影響しているため、Day 1とDay 43との末梢血リンパ球数で異なる結果となったと考える。

末梢血において、Day 1とDay 43の好酸球数、及びDay 43のリンパ球数は高いほどPFSを良好にし、Day 1とDay 43の単球数、及びDay 43の好塩基球数は高いほどPFSを不良にした。これら各白血球分画は、抗腫瘍作用と腫瘍促進作用の2つの状態がある。各白血球分画

によってその状態が異なり、その絶対数の高さによってICIへの影響が異なると考えられる。Day 43は免疫システムが自然応答から適応応答に変換するのに必要な時間の半分であり、⁴ ICIによる免疫状態の変化が末梢血白血球分画に反映する過渡期である。そのため、Day 43の末梢血白血球分画は、ICIへの影響が捉えやすかったのかもしれない。特に、好中球とリンパ球は、Day 1からDay 43にかけて絶対数が変化しており、ICIの影響を受けながら、ICIへ影響している可能性がある。

今回、末梢血白血球分画の変化とICI効果とに有用な所見を見出したが、単施設での後方的研究であり、その解釈には制限がある。ICIにおけるPFSとOSのCox比例ハザード解析に、白血球分画を連続変数の共変量として使用した。このため、細胞分画の絶対数の高低を区

別する閾値が不明なため、予後・効果予測因子の判定が難しい。しかし一方で、各細胞数での HR は、単位量 (μl) の HR をその細胞数でべき乗すれば算出可能となる。具体的には、PFS において Day 1 の好酸球の単位量 (μl) の HR は 0.998 であり、最小値 $0/\mu\text{l}$ の HR は 1 だが、最大値 $2286/\mu\text{l}$ の HR は 0.010 となる。このように、好酸球数が高いほど PFS が有意に改善することがわかる。

多変量解析の場合、変数減法などのステップワイズ法は、臨床的に意味のない Cox 比例ハザードモデルとなる危険性があるため、強制投与方法が勧められている。しかし、Day 43 の末梢血の単変量解析にて好中球数と単球数に有意な HR を認めていたが、強制投与による多変量解析ではこれら HR の有意性が消失しており、好中球数と単球数とに多重共線性の可能性があった。このため、ICI 効果に影響のある白血球分画を探索するため、変数減法を使用することで、統計的に多重共線性を排除し、Cox 比例ハザードモデルを作成した。これらのモデルは従来の報告とほぼ一致したが、今回の集団での ICI 効果に有効な末梢血白血球分画での免疫状態を説明する統計モデルの 1 つであり、別の対象集団での再現性の検証が必要である。

まとめ

ICI 効果と末梢血白血球分画との関係を調べたところ、Day 1 において好酸球数が高く単球数が低い場合は ICI 治療の効果が高くなり、Day 43 では好酸球数とリンパ球数が高く、好塩基数と単球数が低い場合は ICI 治療の効果が高くなった。また、Day 43 にリンパ球が増加し、好中球が減少するほど ICI 治療の効果が高くなった。

本論文内容に関連する著者の利益相反：湊 浩一 [研究費・助成金などの総額] 小野薬品工業、プリストルマイヤーズ株式会社

REFERENCES

1. 藤本 栄, 湊 浩一, 飯島美砂, 中里宜正. 免疫チェックポイント阻害剤の抗腫瘍効果における好酸球の関与. *肺癌*. 2019;59:342-347.
2. Seo JS, Kim A, Shin JY, Kim YT. Comprehensive analysis of the tumor immune micro-environment in non-small cell lung cancer for efficacy of checkpoint inhibitor. *Sci Rep*. 2018;8:14576.
3. Tanizaki J, Haratani K, Hayashi H, Chiba Y, Nakamura Y, Yonesaka K, et al. Peripheral Blood Biomarkers Associated with Clinical Outcome in Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Nivolumab. *J Thorac Oncol*. 2018;13:97-105.
4. Boutsikou E, Domvri K, Hardavella G, Tsiouda D, Zarogoulidis K, Kontakiotis T. Tumour necrosis factor, interferon-gamma and interleukins as predictive markers of antiprogrammed cell-death protein-1 treatment in advanced non-small cell lung cancer: a pragmatic approach in clinical practice. *Ther Adv Med Oncol*. 2018;10:1758835918768238.
5. Coffelt SB, Wellenstein MD, de Visser KE. Neutrophils in cancer: neutral no more. *Nat Rev Cancer*. 2016;16:431-446.
6. Han S, Liu Y, Li Q, Li Z, Hou H, Wu A. Pre-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with neutrophil and T-cell infiltration and predicts clinical outcome in patients with glioblastoma. *BMC Cancer*. 2015;15:617.
7. Sano T, Saijo N, Sasaki Y, Shinkai T, Eguchi K, Tamura T, et al. Three schedules of recombinant human interleukin-2 in the treatment of malignancy: side effects and immunologic effects in relation to serum level. *Jpn J Cancer Res*. 1988;79:131-143.
8. de Paulis A, Prevete N, Fiorentino I, Rossi FW, Staibano S, Montuori N, et al. Expression and functions of the vascular endothelial growth factors and their receptors in human basophils. *J Immunol*. 2006;177:7322-7331.
9. Bochner BS. Systemic activation of basophils and eosinophils: markers and consequences. *J Allergy Clin Immunol*. 2000;106(Suppl):S292-S302.
10. Mantovani A, Marchesi F, Malesci A, Laghi L, Allavena P. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat Rev Clin Oncol*. 2017;14:399-416.
11. Sektioglu IM, Carretero R, Bulbuc N, Bald T, Tüting T, Rudensky AY, et al. Basophils Promote Tumor Rejection via Chemotaxis and Infiltration of CD8 + T Cells. *Cancer Res*. 2017;77:291-302.
12. Marone G, Gambardella AR, Mattei F, Mancini J, Schiavoni G, Varricchi G. Basophils in Tumor Microenvironment and Surroundings. *Adv Exp Med Biol*. 2020;1224:21-34.
13. Cohen M, Giladi A, Gorki AD, Solodkin DG, Zada M, Hladik A, et al. Lung Single-Cell Signaling Interaction Map Reveals Basophil Role in Macrophage Imprinting. *Cell*. 2018;175:1031-1044.e18.
14. Sumitomo R, Hirai T, Fujita M, Murakami H, Otake Y, Huang CL. M2 tumor-associated macrophages promote tumor progression in non-small-cell lung cancer. *Exp Ther Med*. 2019;18:4490-4498.
15. Koh YW, Kang HJ, Park C, Yoon DH, Kim S, Suh C, et al. The ratio of the absolute lymphocyte count to the absolute monocyte count is associated with prognosis in Hodgkin's lymphoma: correlation with tumor-associated macrophages. *Oncologist*. 2012;17:871-880.
16. Milne K, Alexander C, Webb JR, Sun W, Dillon K, Kalloger SE, et al. Absolute lymphocyte count is associated with survival in ovarian cancer independent of tumor-infiltrating lymphocytes. *J Transl Med*. 2012;10:33.
17. Lee KH, Kim EY, Yun JS, Park YL, Do SI, Chae SW, et al. The prognostic and predictive value of tumor-infiltrating lymphocytes and hematologic parameters in patients with breast cancer. *BMC Cancer*. 2018;18:938.
18. Hu G, Liu G, Ma JY, Hu RJ. Lymphocyte-to-monocyte ratio in esophageal squamous cell carcinoma prognosis. *Clin Chim Acta*. 2018;486:44-48.
19. Kamphorst AO, Pillai RN, Yang S, Nasti TH, Akondy RS, Wieland A, et al. Proliferation of PD-1 + CD8 T cells in

peripheral blood after PD-1-targeted therapy in lung cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114:4993-4998.