

当科の Pembrolizumab 投与症例における末梢血好中球/ リンパ球比 (NLR) と治療効果の検討

高知大学医学部泌尿器科学講座

水谷圭佑*・深田 聡・山本新九郎・安宅香弥・太田雄飛
葺石陽亮・波越朋也・久野貴平・大河内寿夫・福原秀雄
田村賢司・蘆田真吾・辛島 尚・井上啓史

(受付日: 2021 年 10 月 11 日, 受理日: 2021 年 12 月 8 日)

抄録:

【目的】免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitors: ICIs) の治療効果予測因子として末梢血好中球/リンパ球比 (Neutrophil / Lymphocyte Ratio: NLR) の有用性に関する報告がある。今回、当科の進行性尿路上皮癌に Pembrolizumab を投与した症例に対して検討を行い、NLR の有用性について考察した。

【対象と方法】2018 年 4 月から 2020 年 11 月までに高知大学医学部附属病院で進行性尿路上皮癌に対して Pembrolizumab を使用し、後方視的に解析可能な 30 例を対象とした。Pembrolizumab 治療前の NLR 値を用いて NLR 低値群と NLR 高値群の 2 群に群別化を行い、治療効果との関連性について統計学的解析を行った。また、他癌腫において免疫関連有害事象 (immune-related adverse event: irAE) と治療効果の関連性について報告されていることから、当院の症例について NLR と同様の方法で検討を行った。

【結果】NLR 低値群と NLR 高値群の 2 群間の全生存期間 (overall survival: OS), 無増悪生存期間 (progression-free survival: PFS) に関して Kaplan-Meier 曲線を作成して比較すると OS で統計学的な有意差を認めた ($P = 0.0425$)。irAE 発症の有無での 2 群に群別化を行い同様に OS, PFS に関して比較するといずれも統計学的な有意差を認めた ($P = 0.01$, $P = 0.005$)。

【結論】Pembrolizumab 投与において治療前 NLR・irAE の発現と治療効果の関連性が示された。NLR は治療効果予測因子として有用である可能性が示唆された。今後、さらなる予測因子の検討が必要である。

(西日泌尿, 84: 255-262, 2022)

キーワード: Pembrolizumab, NLR, irAE

緒 言

2017 年に報告された第 3 相試験 KEYNOTE-045 試験¹⁾によって抗 Programmed death receptor-1 (PD-1) 抗体である Pembrolizumab のプラチナ製剤抵抗性尿路上皮癌に対する生存期間延長の効果が認められた。本邦においても、外科的切除不能、あるいは転移を有する尿路上皮癌に対するプラチナ製剤投与後の 2 次治療として、Pembrolizumab が用いられるようになった。しかし、進行性尿路上皮癌の治療において 1 次治療である化

学療法から 2 次治療に移行する最適な時期や副作用発症時の治療継続の妥当性については、議論の余地があり、適切に Pembrolizumab 治療を実施するために、治療効果を予測する指標の同定が求められている。これまでに、ICIs に関する治療効果予測因子として、NLR^{2)~4)}が報告されている。今回我々は外科的切除不能、あるいは転移を有する尿路上皮癌に対するプラチナ製剤投与後の 2 次治療として Pembrolizumab を投与した症例を対象に、NLR が治療効果予測因子として有用であるか検討を行った。

対 象 と 方 法

2018 年 2 月から 2020 年 11 月までの間、当施設におい

* 〒783-8505 高知県南国市岡豊町小蓮
TEL 088-880-2402, FAX 088-880-2404

て外科的切除不能、あるいは転移を有する尿路上皮癌症例で Pembrolizumab を使用し、末梢血分画が未測定であった5例を除外した30例を対象に後方視的検討を行った。投与量方法は、Pembrolizumab 200 mg を3週毎に投与した。尚、本研究は高知大学倫理委員会の承認を得て行った（承認番号：2020-161）。治療効果予測因子として NLR が有用であるかを検討するために、Pembrolizumab 治療前の NLR (pre-treatment NLR) 値を用いて2群に群別化を行った。pre-treatment NLR のカットオフ値は Receiver-Operating Characteristic (ROC) 曲線を作成して 3.922 と算出して (Fig. 1), 3.922 未満を NLR 低値群, 3.922 以上を NLR 高値群と定義した。2群の患者背景因子として性別, 年齢, ECOG PS, 病理組織, 原発巣, 原発巣摘除の有無, Pembrolizumab 投与前の化学療法レジメン数 (術前化学療法を含む), Pembrolizumab 投与回数, irAE の発現について Fisher's exact test または Student's t-test を用いて比較を行った。また, NLR と治療効果の関連を検討するために病勢制御・生存期間について統計学的解析を行った。病勢制御との関連性についてはクロス集計表を作成して Fisher's exact test を用いた単一因子解析と Mann-Whitney U test を行った。生存期間に関しては

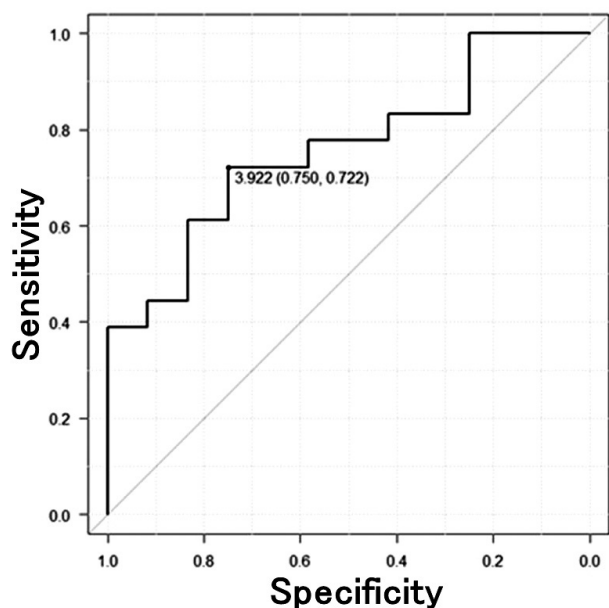


Fig. 1 The receiver operating characteristic curve for the peripheral blood neutrophil to lymphocyte ratio in advanced urothelial carcinoma patients treated with pembrolizumab. The area beneath the curve is 0.759 and the cut-off value is 3.922 which is based on the highest sensitivity and specificity, with a sensitivity of 0.722 and a specificity of 0.750

PFS, OS を主要評価項目として, Kaplan-Meier 曲線を作成して log-rank test による統計学的解析を行い pre-treatment NLR と予後改善の関連性を検討した。また, 他癌腫では ICIs における irAE と治療効果の関連について報告⁵⁾⁶⁾されているため, irAE についても同様の方法で検討を行った。OS, PFS はそれぞれ Pembrolizumab 投与後からの期間として, 後ろ向きに調査を行った。治療効果判定は Response Evaluation Criteria in Solid Tumors version 1.1 (RECIST 1.1) を使用し, complete response (CR)・partial response (PR)・stable disease (SD) を病勢制御群, progressive disease (PD) を非病勢制御群とした。有害事象は Common Terminology Criteria for Adverse Events version 5.0 で評価した。統計分析には EZR version 1.36 (Saitama Medical Center, Jichi Medical University) を用いた。検定は両側検定で行い, P value < 0.05 を統計学的有意差として検討を行った。連続変数の要約は中央値 (最小値・最大値), 質的変数の要約は度数で示した。

結 果

NLR 低値群, NLR 高値群の2群に群別化を行った30症例の患者背景と NLR の分布を以下に示す (Table 1, Fig. 2)。2群間の患者背景に関して統計学的有意差は認めなかった。NLR 低値群, NLR 高値群での NLR の中央値はそれぞれ 2.11 (0.82-3.0), 5.76 (3.920-30.29) であった。全症例での追跡期間の中央値は 12 カ月 (1-33 カ月), Pembrolizumab 投与回数中央値は 10.5 回 (1-33 回), Pembrolizumab 治療前の化学療法レジメン数中央値は 3 回 (1-14 回), 奏功率は CR : 9 例, PR : 8 例, SD : 1 例, PD : 12 例, overall response rate : ORR (CR + PR) は 56%, 転記は無増悪生存 : 10 例, 増悪生存 : 6 例, 癌死 : 14 例, irAE 発現例は全 grade : 16 例, grade3 以上 : 6 例, NLR 中央値は 3.46 (0.82-30.29) であった。病勢制御に関して, Fisher's exact test を用いた単一因子解析とノンパラメトリック検定 (Mann-Whitney U test) による結果を以下に示す (Fig. 3)。単一因子解析では統計学的有意差は認めなかったが (P = 0.0604), ノンパラメトリック検定では統計学的有意差を認めた (P = 0.017)。OS, PFS に関して Kaplan-Meier 曲線を作成して比較する (Fig. 4A, 4B) と OS で統計学的な有意差を認めた (P = 0.0425)。

irAE 発症の有無で2群に群別化を行った患者背景を以下に示す (Table 2)。2群間の患者背景に関しては Pembrolizumab 投与回数のみ統計学的有意差を認めた (P = 0.036)。病勢制御に関して, Fisher's exact test を

Table 1 Patient characteristics between the two groups, the low NLR group and the high NLR group.

	Low NLR group N=15	High NLR group N=15	p value
Sex (Male/Female)	12/4	8/6	0.700
Median age	69 (54-80)	71 (59-78)	0.487
ECOG PS			0.115
0	12	7	
1	3	5	
2	0	3	
Histology type			0.716
Pure UC	9	10	
Not pure UC	6	5	
Primary lesion			0.208
Renal pelvis or ureter	5	2	
Bladder	9	9	
Renal pelvis or ureter + bladder	1	4	
Primary lesion removal	11	6	0.139
Median number of pretreatment regimens	4 (1-14)	2 (1-8)	0.718
Median number of doses	12 (1-33)	3 (1-32)	0.123
Onset of irAE	9	7	0.715

NLR: neutrophil / lymphocyte ratio, irAE: immune-related adverse event, ECOG PS: Eastern Cooperative Oncology Group performance status, UC: urothelial carcinoma

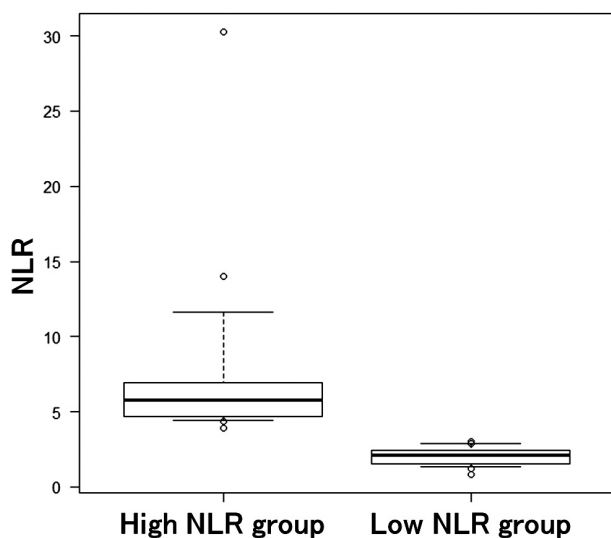


Fig. 2 The distribution of NLR in the high NLR group and the low NLR group.

用いた単一因子解析 (Fig. 3) を行うと統計学的有意差を認めた ($P = 0.0236$)。OS, PFS に関して比較する (Fig. 5A, 5B) といずれも統計学的な有意差を認めた ($P = 0.01$, $P = 0.005$)。

考 察

今回、プラチナ製剤耐性の尿路上皮癌に対する2次治療として、Pembrolizumabを使用した当科の30症例を

対象に、NLRが治療効果予測因子として有用であるか検討を行った。その結果、Pembrolizumabの治療効果予測因子としてpre-treatment NLRは有用である可能性が示唆され、生命予後にも関連していることが統計学的解析で示された。NLRはICIsの治療効果予測因子として着目されている指標の1つであり、NLR高値は様々な癌腫で予後不良因子として報告されている⁷⁾。

腫瘍微小環境に浸潤して抗腫瘍免疫応答の役割を担うリンパ球には細胞障害性T細胞 (Cytotoxic T lymphocyte: CTL) やナチュラルキラー細胞 (Natural Killer Cell) がある。特にCTLは癌細胞排除の中心的役割を担っており、これらの細胞の活性化にはCD4+T細胞の働きが必要である。過去の報告⁸⁾では腫瘍微小環境でのCD4+T細胞数の減少が予後不良と関連していることが報告されている。一方で、腫瘍微小環境の腫瘍細胞から分泌されるIL-6, VEGFなどの炎症性サイトカインにより、制御性T細胞 (Regulatory T cell: Treg)、骨髄由来免疫抑制細胞 (Myeloid derived suppressor cells: MDSC) などの免疫抑制性細胞が誘導される⁹⁾。腫瘍細胞ではIFN- γ 反応性にPD-L1の発現が誘導され、これにPD-1が結合することによりT細胞の働きを抑制するシグナルが発生する。この結果、T細胞の免疫機能は低下して免疫逃避が起こる。また、好中球は宿主免疫防御機構の中心的役割を担っているが、腫瘍微小環境での役割は複雑化している。様々な癌腫の微小環境では炎症

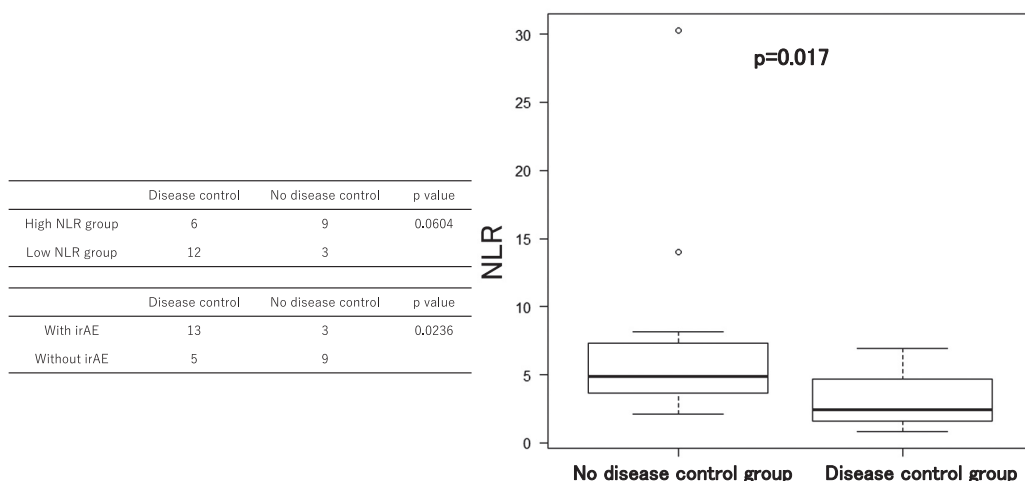


Fig. 3 For the relationship with disease control, single factor analysis using Fisher's exact test was performed by creating a cross tabulation table and Mann-Whitney U test.

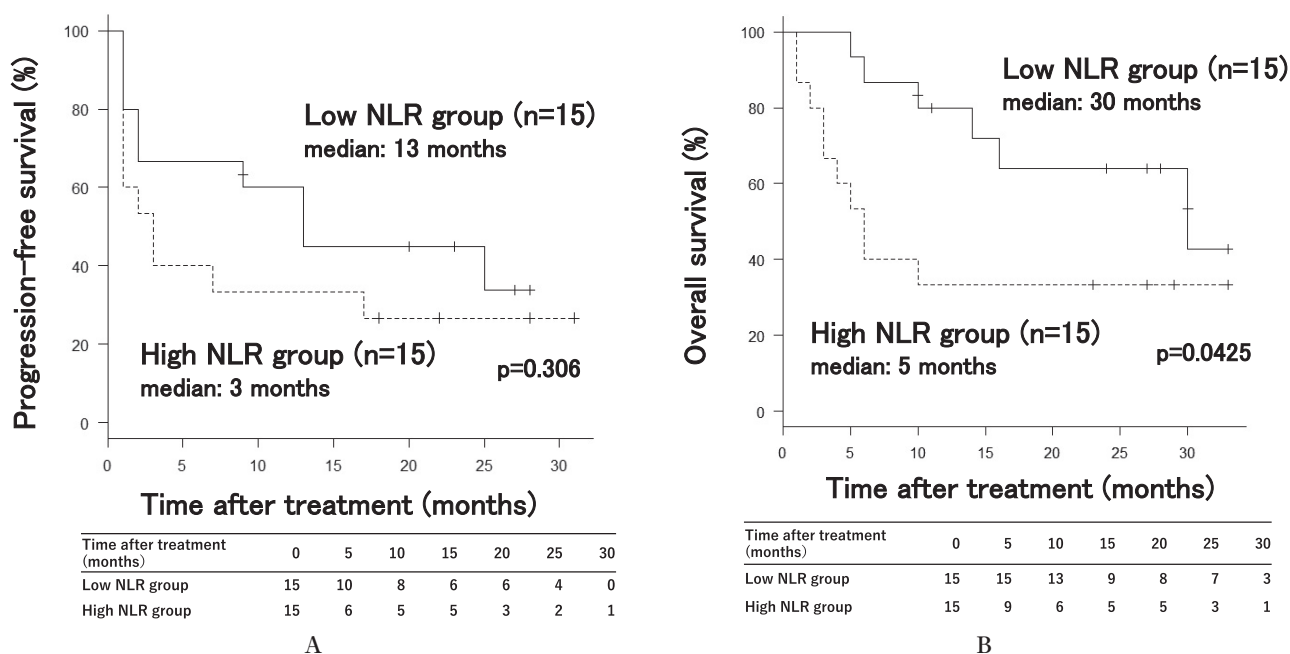


Fig. 4 The Kaplan-Meier curves of progression-free survival (4A) and overall survival (4B) in advanced urothelial carcinoma patients treated with pembrolizumab, as divided by the pre-treatment NLR value. The table below shows the number at risk every five months after starting treatment. NLR, neutrophil / lymphocyte ratio.

性サイトカインによって好中球が増加している傾向にある^{10)~13)}。そして、サイトカインの影響により腫瘍微小環境内に浸潤している好中球、いわゆる tumor-associated neutrophils (TAN) は血管新生などの腫瘍形成を促進する働きを担う N2 表現型に分化することが報告されている¹⁰⁾。

NLR の定義を考えると、Pre-treatment NLR は治療

前の末梢血中に存在する免疫細胞の割合を表していることになる。Pre-treatment NLR と治療効果の関連性を説明する生物学的な根拠は明確に示されていない。腫瘍微小環境に浸潤する免疫細胞と全身を循環する末梢血の免疫細胞は必ずしも一致しないと予想されるからである。しかし、リンパ球や好中球について、腫瘍微小環境に浸潤している割合と末梢血中の割合が相関していると

Table 2 Patient characteristics between the two groups, with and without irAE

	With irAE N=16	Without irAE N=14	p value
Sex (Male/Female)	11/5	9/5	0.804
Median age	69 (59-78)	74.5 (54-80)	0.727
ECOG PS			0.457
0	12	7	
1	3	5	
2	1	2	
Histology type			0.923
Pure UC	10	9	
Not pure UC	6	5	
Primary lesion			0.576
Renal pelvis or ureter	3	4	
Bladder	11	7	
Renal pelvis or ureter + bladder	2	3	
Primary lesion removal	8	9	0.676
Median number of pretreatment regimens	2.5 (1-8)	3.5 (1-14)	0.64
Median number of doses	23.5 (1-33)	5.5 (1-31)	0.036
Median NLR	2.725 (0.82-6.94)	4.625 (1.51-30.29)	0.193

NLR: neutrophil / lymphocyte ratio, irAE: immune-related adverse event, ECOG PS: Eastern Cooperative Oncology Group performance status, UC: urothelial carcinoma

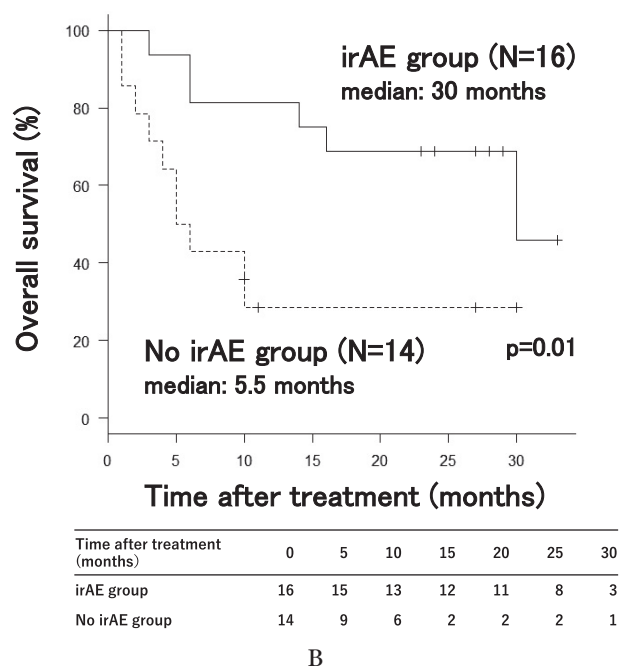
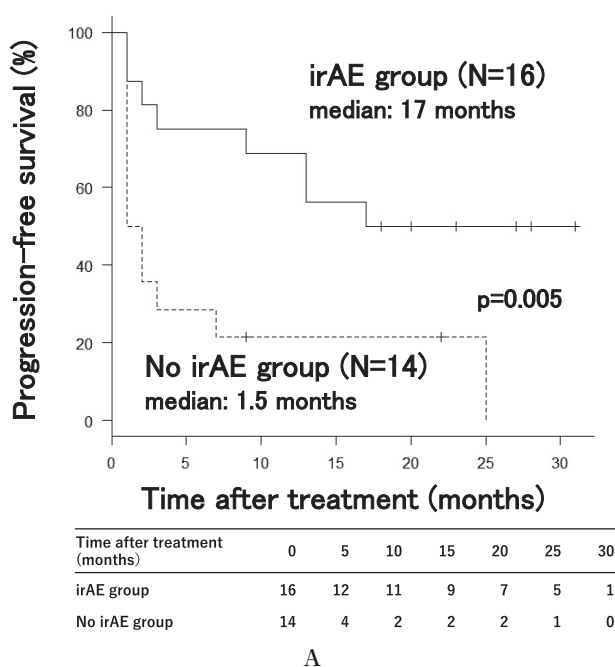


Fig. 5 The Kaplan-Meier curves of progression-free survival (5A) and overall survival (5B) in advanced urothelial carcinoma patients treated with pembrolizumab, as divided by whether or not irAE occurred. The table below shows the number at risk every five months after starting treatment. irAE, immune-related adverse event.

いう報告があり¹⁴⁾¹⁵⁾, NLR は腫瘍微小環境での免疫細胞の指標となり, ICIs 治療効果とある程度相関すると考えられる。

これまでの NLR についての検討では, その多くが

NLR の推移について言及していた。複雑な抗腫瘍免疫を治療前のワンポイントで評価するのが難しいと考えられていたためである。しかし, Pembrolizumab 投与前の値のみで治療効果の予測が期待できるなら, 臨床での

Pembrolizumab 治療を選択する一助になると考えられる。Pre-treatment NLR を評価する際に、留意することとしては NLR 値に影響を与える因子がいくつか報告されていることである。年齢、性別、喫煙習慣などがこれまでに報告されており、男性や高齢者では NLR 値が高い傾向がある¹⁶⁾¹⁷⁾。そして、ステロイドなどの末梢血分画に影響を与える薬剤も考慮しなくてはならない。今回の検討でも自己免疫性疾患によりステロイド内服加療が行われている患者が 1 名含まれていた。この患者は NLR 高値群 (NLR 4.35) であり病勢制御が得られていた。

ICIs 治療における副作用は免疫細胞が全身の各臓器で過剰な免疫反応を引き起こすことで発症する。この副作用は自己免疫疾患に類似した症状を呈することから irAE と呼ばれている。irAE の発症と治療効果の相関については他癌腫で報告がある⁵⁾⁶⁾。しかし、Pembrolizumab 治療における irAE と治療効果の関連については報告が少なく、尿路上皮癌では検討が進んでいない。今回の検討では、irAE の発症と治療効果、予後改善の関連性が示された。ICIs 治療での奏功と irAE の発症の関連についての機序はあきらかにされていないが、免疫応答の活性化が十分に起こり、正常細胞との交差反応が関係していると考えられる。irAE の発症を予測する因子は現在確立されていないが¹⁸⁾、irAE の発症が治療効果と関連しているという結果から、有害事象に対する迅速な対応を行いつつ、できる限り治療を継続することが治療効果、並びに生命予後延長にとって重要になると考えられる。

今回の検討の結果で我々が注目したのは ORR が高いことであった。KEYNOTE-045 試験と比較しても当院での奏効率は高かった (56% vs 21.1%)。当院では進行性尿路上皮癌に対する治療方針として、化学療法で病状増悪を認めた際には、可能な限り早期に ICIs 治療への変更を掲げている。Table 1 で示した通り、検討を行った 30 症例の pembrolizumab 治療前における化学療法レジメン数の中央値は 3 回であった。化学療法という細胞障害性治療を長期化しないことで、免疫の再活性化が起こりやすい状態になると考えられるが、確立されたエビデンスは存在しない。

今回は単施設での症例検討であり、症例数が 30 症例と少なく Pembrolizumab 治療において NLR が治療効果予測因子として有用であるか検討を行うには、さらに症例数を積み重ねる必要がある。Fig. 3 で示した単一因子解析や Fig. 4A で示した PFS の比較では統計学的有意差を認めなかったが、これに関しても症例数が少ない

ことによる影響であり、今後症例数を積み重ねていくことで結果は変わってくると考えている。

NLR は末梢血のみで評価が可能であり、低侵襲で得られる指標であることが何よりの利点であるが、確立された治療効果予測因子として用いるには現実的ではない。進行性尿路上皮癌治療は ICIs 治療の登場で、考え方が変化してきている。多種多様な選択肢がある中で、適切な治療法を選択することが ICIs 治療では今後必要になる。この点で、治療効果予測因子の検討は重要な課題であり、今後の研究の進展が期待される。

結 語

Pembrolizumab 投与において治療前 NLR・irAE の発現と治療効果の関連性が示された。治療前 NLR は治療効果予測因子として有用である可能性が示唆された。今後、さらなる治療効果予測因子の検討が必要である。

文 献

- 1) Bellmunt, J. et al.: Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **376**: 1015-1026, 2017.
- 2) Ogiwara, K. et al.: The pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is a novel biomarker for predicting clinical responses to pembrolizumab in platinum-resistant metastatic urothelial carcinoma patients. *Urol. Oncol.* **38**: 602.e1-602.e10, 2020.
- 3) Tamura, D. et al.: Prognostic outcomes and safety in patients treated with pembrolizumab for advanced urothelial carcinoma: experience in real-world clinical practice. *Int. J. Clin. Oncol.* **25**: 899-905, 2020.
- 4) Yamamoto, Y. et al.: Prognostic value of pre-treatment risk stratification and post-treatment neutrophil/lymphocyte ratio change for pembrolizumab in patients with advanced urothelial carcinoma. *Int. J. Clin. Oncol.* **26**: 169-177, 2020.
- 5) Buder-Bakhaya, K. and Hassel, J. C.: Biomarkers for clinical benefit of immune checkpoint inhibitor treatment—a review from the melanoma perspective and beyond. *Front Immunol.* **9**: 1474, 2018.
- 6) Judd, J. et al.: Immune-related adverse events as a biomarker in non-melanoma patients treated with programmed cell death 1 inhibitors. *Oncologist.* **22**: 1232-1237, 2017.
- 7) Templeton, A. J. et al.: Prognostic role of

- neutrophil-to-lymphocyte ratio in solid tumors: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* **106**: 124, 2014.
- 8) Gooden, M. J. M. et al.: The prognostic influence of tumour-infiltrating lymphocytes in cancer: a systematic review with meta-analysis. *Br. J. Cancer.* **105**: 93-103, 2011.
 - 9) Chen, D. S. and Mellman, I.: Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity.* **39**: 1-10, 2013.
 - 10) Fridlender, Z. G. and Albelda, S. M.: Tumor-associated neutrophils: friend or foe? *Carcinogenesis.* **33**: 949-955, 2012.
 - 11) Jiang, T. et al.: Clinical value of neutrophil-to-lymphocyte ratio in patients with non-small-cell lung cancer treated with PD-1/PD-L1 inhibitors. *Lung Cancer.* **130**: 76-83, 2019.
 - 12) Liang, W. and Ferrara, N.: The complex role of neutrophils in tumor angiogenesis and metastasis. *Cancer Immunol. Res.* **4**: 83-91, 2016.
 - 13) Treffers, L. W. et al.: Neutrophils in cancer. *Immunol. Rev.* **273**: 312-328, 2016.
 - 14) Kagamu, H. et al.: CD4 + T-cell immunity in the peripheral blood correlates with response to anti-PD-1 therapy. *Cancer Immunol. Res.* **8**: 334-344, 2020.
 - 15) Han, S. et al.: Pre-treatment neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with neutrophil and T-cell infiltration and predicts clinical outcome in patients with glioblastoma. *BMC Cancer.* **15**: 617, 2015.
 - 16) Fest, J. et al.: The neutrophil-to-lymphocyte ratio is associated with mortality in the general population: the rotterdam study. *Eur. J. Epidemiol.* **34**: 463-470, 2019.
 - 17) Graziano, V. et al.: Combination of peripheral neutrophil-to-lymphocyte ratio and platelet-to-lymphocyte ratio is predictive of pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast.* **44**: 33-38, 2019.
 - 18) Hopkins, A. M. et al.: Predicting response and toxicity to immune checkpoint inhibitors using routinely available blood and clinical markers. *Br. J. Cancer.* **117**: 913-920, 2017.

PERIPHERAL BLOOD NEUTROPHIL / LYMPHOCYTE RATIO (NLR) AND TREATMENT EFFECT IN PATIENTS TREATED WITH PEMBROLIZUMAB IN OUR DEPARTMENT

KEISUKE MIZUTANI, SATOSHI FUKATA, SHINKURO YAMAMOTO,
KAYA ATAGI, YUHI OTA, YOUSUKE HUKIISHI, TOMOYA NAO,
TAKAHIRA KUNO, HISAO OKOCHI, HIDEO HUKUHARA, KENJI TAMURA,
SHINGO ASHIDA, TAKASHI KARASHIMA AND KEIJI INOUE

Department of Urology, Kochi Medical School, Nankoku, Japan

Abstract :

PURPOSE : There are reports on the usefulness of the peripheral blood neutrophil / lymphocyte ratio (NLR) as a predictor of response to immune checkpoint inhibitors (ICIs). In this study, we examine the predictors of treatment response in patients treated with pembrolizumab for advanced urothelial cancer in our department and discuss the usefulness of NLR.

METHODS : Thirty patients who received pembrolizumab for advanced urothelial carcinoma at Kochi University Hospital between April 2018 and November 2020 and who could be analyzed retrospectively were included in this study. The 30 patients were divided into two groups, low NLR group and high NLR group, using the NLR value prior to pembrolizumab treatment. The results of the study were analyzed statistically. In addition, since the relationship between immune-related adverse events (irAE) and treatment effect has been reported in other carcinomas, we also examined the relationship in our case using

the same method as for NLR.

RESULTS: A comparison of overall survival (OS) and progression-free survival (PFS) between the low NLR and high NLR groups using Kaplan-Meier curves showed a statistically significant difference in OS ($P = 0.0425$), and a similar comparison of OS and PFS between the two groups of patients with and without irAE showed statistically significant differences ($P = 0.01$, $P = 0.005$).

CONCLUSION: In this study, pre-treatment NLR and irAE were identified as predictors of treatment response in patients treated with pembrolizumab, suggesting that NLR may be useful as a predictor of treatment response. Further investigation of predictive factors is needed.

(Nishinoh J. Urol. **84**: 255-262, 2022)

key words: Pembrolizumab, NLR, irAE
