



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

침샘관암에서 PD-L1의 발현을
분석과 종양 표지자로서의
효용성에 대한 고찰

연세대학교 대학원

의 학 과

이 용 주

침샘관암에서 PD-L1의 발현을
분석과 종양 표지자로서의
효용성에 대한 고찰

연세대학교 대학원

의 학 과

이 용 주

침샘관암에서 PD-L1의 발현을
분석과 종양 표지자로서의
효용성에 대한 고찰

지도 고 윤 우 교수

이 논문을 석사 학위논문으로 제출함

2019년 6월

연세대학교 대학원

의 학 과

이 용 주

이용주의 석사 학위논문을 인준함

심사위원 김혜련 인

심사위원 고윤우 인

심사위원 신향애 인

연세대학교 대학원

2019년 6월

감사의 글

대학원 교과과정을 마치고 연구결과를 토대로 만들어 낸 이 논문은 저에게 많은 것을 배우게 해준 결과물입니다. 이러한 배움에는 저의 연구에 항상 관심을 가져주시고 도와주신 고윤우 교수님의 지도가 가장 큰 힘이 되었습니다. 저의 지도교수님이신 고윤우 교수님께 진심으로 감사드리고 싶습니다. 교수님께서 주셨던 가르침과 소중한 정보들 덕분에 제가 연구를 이해하고 참여하여 논문을 작성할 수 있었던 것 같습니다. 다시 한번 진심으로 감사드립니다.

그리고 연구에 큰 도움을 주신 병리과 윤선옥 교수님께도 진심으로 깊은 감사를 드립니다. 그리고 윤선옥 교수님과 함께 연구에 도움을 주었던 병리과 류향주 선생님에게도 감사한 마음을 전합니다.

심사위원장을 맡아주신 김혜련 교수님과 저의 은사님이자 심사위원이신 신향애 교수님께도 진심으로 감사드립니다. 몇 년간 제 삶의 가장 큰 일부였던 본 과제를 마무리하며 도와주신 선생님들께 다시 한번 진심으로 감사드립니다.

저자 씀

<차례>

국문요약	1
I. 서론	2
II. 재료 및 방법	3
1. 번역조직화학적 염색과 분석	6
2. 통계적 분석	7
III. 결과	7
1. 임상병리학적 특성	7
2. 침샘관암에서 PD-L1 발현율	8
3. 침샘관암에서 종양침윤림프구의 비중	10
IV. 고찰	11
V. 결론	16
참고문헌	17
ABSTRACT	20

그림 차례

그림 1. 종양표지자의 발현과 생존율의 연관성 분석	8
---------------------------------------	---

표 차례

표 1. 임상병리적 특징	5
표 2. PD-L1 발현과 임상적 변수들의 연관성 분석	9

국문요약

침샘관암에서 PD-L1의 발현을 분석과 종양 표지자로서의 효용성에 대한 고찰

침샘관암은 두경부에서 발생하는 비교적 드문 질환으로 다양한 치료가 시행되고 있음에도 그 예후가 매우 불량한 암종으로 알려져 있다. 전통적으로 외과적 절제술을 비롯한 항암화학요법, 방사선 요법 등이 시행되어 왔으나 보다 성공적인 치료 방법에 대한 요구가 있었다. 이에 면역요법 등을 통한 새로운 치료방법이 시도되고 있으며, 최근 programmed death 수용체를 표적으로 하는 치료법이 다양한 암에서 우수한 결과를 보인 점을 토대로 침샘관암에서도 programmed death 수용체를 표적으로 하는 치료에 대해 연구가 진행되고 있다. 이에 본 연구는 PD-L1의 발현율을 조사하고 이것이 생존율에 미치는 영향을 분석하여 침샘관암에서 PD-L1을 통한 면역치료의 가능성에 대해서 고찰해보고자 하였다. 본 연구의 결과와 다양한 논문 고찰을 통해서 침샘관암에서 PD-L1의 발현률이 다른 암종에 비해 낮음을 발견하였고 또한 생존율에 미치는 영향에 대해서도 일관된 결과를 보이지 않는다는 점을 발견하였다. 이에 대해 침샘관암에서 PD-L1을 이용하여 환자를 선택하고 면역치료를 시행하는 데에는 제한이 있을 것이라는 결론을 도출하였다.

핵심되는 말: 침샘관암, programmed death ligand 1

침샘관암에서 PD-L1의 발현을 분석과 종양 표지자로서의 효용성에 대한 고찰

<지도교수 고유우>

연세대학교 대학원 의학과

이 용 주

I. 서론

침샘관암은 타액선 배출관의 상피세포에서 기원하는 암종으로서, Kleinsasser 등에 의해 1968년 처음 기술된 이후 1990년대에 주로 병리학자들의 임상병리적 연구들이 발표되면서 널리 알려지게 되었다.¹

2017년 WHO 분류에 따르면 침샘암은 20개의 조직아형으로 분류되고 침샘관암은 이중 하나로서 타액선에 발생하는 전체 악성종양 중 10% 내외를 차지하는 상대적으로 드문 암종이지만, 국소재발과 원격장기로의 전이가 흔하고 저조한 생존율을 보이는 고악성도의 암종으로 알려져 있다.² 침샘관암에서는 일반적으로 외과적 절제술이 가장 흔히 선택되는 치료법이며 이에 더해서 방사선 치료나 항암화학요법을 동시에 시행하게 되지만 이러한 적극적인 치료에도 예후는 비교적 좋지 않은 것으로 알려져 있다.³

이러한 특성들로 인해 최근 침샘관암의 치료에 다양한 방법들이 소개되고 있으며 그 중 대표적인 것이 항암면역치료이다. 침샘관암의

약 25-90%가 Human epidermal growth factor receptor type 2(HER2)를 발현한다는 사실과 유방도관암과 침샘관암의 조직학적 유사성에 근거하여 Herceptin®(trastuzumab) 을 이용한 치료를 시행한 연구도 있었으나 일부 연구에서 Herceptin®(trastuzumab) 단독치료가 효과적이지 않다는 보고도 있어 한계점으로 지적되기도 했다.⁴⁻⁶

최근에는 PD-L1의 발현이 침샘암의 예후에 영향을 미친다는 사실이 보고되면서 이에 대한 관심이 증가되고 있으며 일부 연구에서는 PD-1 차단항체인 nivolumab의 치료효과가 종래의 항암화학요법보다 우수하다고 보고하기도 했다.⁷ 이에 따라 PD-L1을 항암면역치료를 위한 차세대 환자 선택 표지자로서 이용하려는 연구도 활발히 이루어지고 있다.⁸

이에 본 연구는 침샘관암에서 HER2 발현과 PD-L1의 발현이 생존율에 미치는 영향을 분석하고 침샘관암 환자를 선별하기 위한 면역표지자로서 PD-L1의 효용성에 대해서 확인하고자 한다.

II. 재료 및 방법

2000년부터 2016년까지 총 36명의 환자가 침샘관암으로 진단되었고 조직표본이 이용 가능한 33명의 환자를 대상으로 연구를 진행하였다. 모든 케이스에서 외과적 절제술이 시행되었고 Archived formalin-fixed, paraffin-embedded (FFPE) 표본을 확보하였다. 모든 사례의 외과적 절제술은 세브란스 병원에서 시행되었다. 임상병리적 특징에 대해서 [표 1]에 제시하였다. Seventh American Joint Committee on Cancer TNM cancer classification system and the World Health Organization에 근거하여 종양 병기를 구분하였다. 추적관찰기간의 중앙값은 32개월이었고(range, 9 ~ 135 개월) 33명

환자 모두 anti HER2 치료나 androgen deprivation 치료를 시행받은
바 없었다. 이 연구는 Institutional Review Board of Severance
Hospital의 승인 하에 진행되었다.(4-2016-1049)

표 1. 임상병리적 특징

Variables	n(%)		
age		pN category	
Median (range), y	58(40-90)	pN0	14
gender		pN1	1
Male	26	pN2	16
Female	7	Unknown	2
alcohol		pM category	
Yes	9	pM0	29
No	24	pM1	2
smoking		Unknown	2
No	20	AJCC stage	
Ex-smoker	7	II	4
Current smoker	6	III	8
Tumor origin		IV	19
Parotid gl.	31	Unknown	2
Submandibular gl.	1	Postoperative adjuvant Tx	
Sublingual gl.	0	No treatment	3
Minor salivary gl.	1	RTx alone	10
Perineural invasion		CTx alone	0
Negative	11	RTx + CTx	10
Positive	17	Unknown	0
Unknown	5	c-erbB2 expression	
Lymphovascular invasion		0	7
Negative	15	1	2
Positive	13	2	11
Unknown	5	3	13
Resection margin		HER2 gene amplification	
Negative	11	Negative	12
Positive	22	Positive	21
pT category		<hr/>	
pT1	2	gl.=gland, RTx=radiation therapy, CTx=chemotherapy	
pT2	8		
pT3	16		
pT4	5		
Unknown	2		

1. 면역조직화학적 염색과 분석

TMA(tissue microarray) 구성을 위해 종양 조직에서 1-3개의 대표적인 표본을 채취하였다. 조직채취를 위한 기구(trephine apparatus)를 이용하여 3mm 직경의 중심조직을 채취하여 TMA 블럭에 배치하였다. 4- μm TMA 절편을 만들어 면역조직화학적 검사를 시행하였다(Ventana Bench Mark XT Autostainer; Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA).⁹

일차 항체로 HER-2/neu (RTU; clone 4B5; Ventana), PD-L1 (dilution 1:100; clone SP142; Ventana), CD3(dilution 1:200; LabVision, Fremont, CA, USA), CD8 (RTU; clone C8/144B; Dako, Glostrup, Denmark)을 사용하였다.

<American Society of Clinical Oncology(ASCO)/College of American Pathologists (CAP) guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) testing>방법에 따라서 HER2 유전자 증폭을 확인하고 c-erbB2/HER2 단백 발현을 0, +1, +2, +3 으로 구분하였다. HER2 양성은 c-erbB2 3+ 이거나 HER2 유전자 증폭이 확인된 경우 양성으로 판정하였다.¹⁰

이전 연구의 방법을 이용하여 PD-L1 발현을 종양세포와 면역세포로 분리하여 확인하였으나 이전 연구와 마찬가지로 PD-L1 양성 종양세포는 매우 국한되어 있고 적으며 면역세포가 침윤된 기질에서 관찰되는 양상이었기 때문에 본 연구에서는 면역세포의 PD-L1 양성률만을 연구 대상으로 삼았다.¹¹ 또한 이를 위해 추가적으로 CD3 염색을 추가적으로 실시하였다. PD-L1 발현율이 5% 이상인 경우 양성으로 판정하였다.

종양세포군집에 침윤하는 종양침윤림프구(tumor infiltrating lymphocyte, TILs)의 양은 400x magnification high-power fields 하에서 대표적인 조직 부분 다섯곳을 확인하여 평가하였다. CD3와 CD8을 발현하는 림프구를 일일이 세어서 그 갯수를 평균하였다.

중양침윤림프구 비중의 중앙값을 기준으로 환자군을 low TIL abundance와 high TIL abundance 그룹으로 분류하였다(CD3 13/HPF, CD8 5/HPF).

2. 통계적 분석

변수간 차이를 분석하기 위해 χ^2 , Fisher exact, linear-by-linear method를 사용하였다. 처음 진단된 날로부터 사망일 혹은 마지막 추적관찰일까지의 기간을 전체생존기간(overall survival)으로 측정하였다. 생존률분석을 위해 Kaplan-Meier method를 사용하였고 log-rank test 방법을 적용하였다. Two-sided P values가 0.05미만일 때 통계적으로 유의하다고 판정하였다. IBM SPSS 23 software for Windows (IBM Corp, Armonk, NY, USA)를 이용하여 분석을 시행하였다.

III. 결과

1. 임상병리학적 특성

남성의 비율이 높았고(78%, 26/33) 진단 시 연령의 중앙값은 58세였다(range, 40-90 years old). 흡연과 음주에서 특이사항은 관찰되지 않았다. 33개의 사례 중 이하선 기원이 31 사례로 가장 높았다. 진단 당시 절반 이상의 환자에서 진행된 암 병기의 소견을 보였다(T stage 3-4:51%; N stage 1-2:51%; AJCC cancer stage III-IV: 81%)[표 1]. 전체 평균 생존 기간은 75.6개월, 전체 생존 중앙값은 62개월이었고 전체 5년 생존율은 30.3%였다.

33개 사례 중 24개의 사례에서(72.7%) c-erbB2/HER2 단백질 발현이 양성(score 2+ or 3+)으로 관찰되었고 HER2 유전자 증폭은 33 사례 중 21개의 사례에서(63.6%) 관찰되었다.

HER2 양성률(c-erbB2 3+ and/or HER2 gene amplification)은 전체의 63.6%(21/33)에서 관찰되었다. 그러나 HER2 양성여부와 환자의 생존률과의 유의한 연관성은 관찰되지 않았다($p=0.249$). (그림 1)

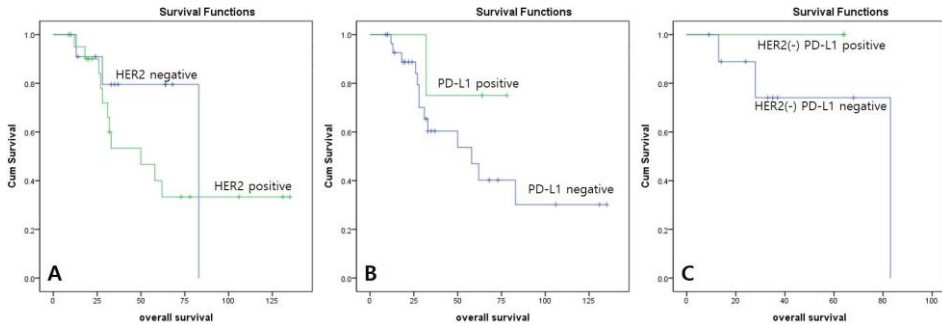


그림 1. 종양표지자의 발현과 생존율의 연관성 분석. A, HER2 양성여부에 따른 생존률 그래프($p=0.249$). B, PD-L1 양성여부에 따른 생존률 그래프($p=0.265$). C, HER2 음성 환자군에서 PD-L1 양성여부에 따른 생존률 그래프($p=0.456$). 모든 경우에서 통계적으로 유의한 연관성은 발견되지 않았다.

2. 침샘관암에서 PD-L1 발현율

33개의 사례 중 4개의 사례에서 PD-L1 발현이 관찰되었다. PD-L1 발현과 각각의 임상병리적 변수간에 유의한 연관성은 관찰되지 않았다. (표 2)

PD-L1 양성인 환자에서의 평균 생존기간은 66.5개월이었으며 음성인 환자군에서는 70개월이었으나 통계적으로 유의한 차이는 관찰되지 않았다($p=0.265$). PD-L1 양성인 환자군에서 5년 생존율은 75%로 음성인군과 비교하여 현저히 높은 결과를 보였으며 전체 5년

표 2. PD-L1 발현과 임상적 변수들의 연관성 분석

PD-L1	High(positive)	Low(negative)	
Cases	4	29	
Median (range),	55 (53-64)	61 (40-90)	
5-years	75%	24%	P=0.073
Perineural			
Absence	0	11	P=0.258
Presence	3	14	
unknown	1	4	
Lymphovascular invasion			
Absence	1	14	P=0.583
Presence	2	11	
unknown	1	4	
Resection margin			
Negative	1	10	P=1.000
Positive	3	19	
pT category			
pT1	1	1	P=0.949
pT2	0	8	
pT3	2	14	
pT4	1	4	
unknown	0	2	
pN category			
pN0	2	12	P=0.890
pN1	0	1	
pN2	2	14	
unknown	0	2	
pM category			
pM0	4	27	P=1.000
pM1	0	2	
unknown	0	2	
AJCC stage			
II	0	4	P=0.962
III	2	6	
IV	2	17	

unknown	0	2	
HER2 positivity			
Negative	2	10	P=0.610
Positive	2	19	
CD3 TIL			
Low	0	16	P=0.103
High	4	13	
CD8 TIL			
Low	1	14	P=0.607
High	3	15	

생존율 30.3%와 비교하여도 현저히 높은 생존율을 보였다. HER2가 음성인 환자군만을 따로 분리하여 시행한 분석에서는 PD-L1 양성여부에 따른 유의한 생존율 차이는 보이지 않았다($p=0.456$). (그림 1)

3. 침샘관암에서 종양침윤림프구의 비중

PD-L1 발현여부와 CD3+ 종양침윤림프구, CD8+ 종양침윤림프구의 비중 사이에 통계적으로 유의한 연관성은 발견되지 않았다. (표 2)
 HER2 양성여부와 CD3+ 종양침윤림프구의 비중($p=0.157$), CD8+ 종양침윤림프구의 비중($p=0.741$) 간에도 통계적으로 유의한 연관성은 발견되지 않았다.

또한 CD3+ 종양침윤림프구의 비중과 생존률($p=0.568$), CD8+ 종양침윤림프구의 비중과 생존률($p=0.568$)과의 유의한 연관성은 관찰되지 않았다.

IV. 고찰

침샘관암에서 HER2 양성 소견이 빈번하게 관찰되고 항 HER2 항암면역치료가 침샘관암의 치료로 언급된 바가 있지만 HER2 음성인 침샘관암 환자군에 대해서 항 HER2 치료법의 적용에는 모순이 있고 그 효과에도 논란이 있기 때문에 최근 다양한 면역 표지자들이 침샘관암의 치료로 고려되고 있다.^{4,5} 본 연구에서는 항 HER2 치료를 받은 환자를 제외하고 시행연구를 진행하였고 HER2 양성율은 63.6%로 높게 보고되었다. 그러나 HER2 양성여부와 생존률과의 연관성은 발견되지 않았다.

최근 차세대 면역표지자로 주목받고 있는 PD-L1이 침샘관암 환자의 생존률에 미치는 영향을 분석한 결과, 본 연구에서 통계적으로 유의한 결과는 발견되지 않았으나 면역세포의 PD-L1 발현이 높은군에서 5년 생존률이 75%로 보고되어 발현이 낮은군(24%)에 비하여 월등히 높게 관찰되었다. 이는 두경부암 환자 402명을 대상으로 동일 기관에서 시행한 연구에서 종양침윤림프구의 PD-L1 발현이 높은 환자그룹이 높은 생존률을 보였다는 결과에 부합하는 소견이다.¹²

18명의 침샘관암 환자를 대상으로 한 Sato 등의 최근 연구에서는 종양세포에서 PD-L1의 발현률이 높은 그룹에서 생존율이 낮게 나타났음을 보고하였다.¹³

Mukaigawa 등은 총 219명의 침샘암 환자를 대상으로 PD-L1의 발현이 생존율에 미치는 영향을 조사했는데 219명의 환자 중 31명이 침샘관암 환자였고 이중 종양세포에서 PD-L1 양성을 보인 환자가 15명, 면역세포에서 PD-L1 양성을 보인 환자가 9명이었다. 이 논문에서 침샘관암 환자만을 대상으로 따로 PD-L1 양성 종양세포

비중, PD-L1 양성 면역세포 비중과 생존율의 관계를 제시하지는 않았지만 침샘암 전체 환자에서 종양세포나 면역세포의 PD-L1의 발현이 높은 경우 생존률이 낮은 것으로 보고되었다.⁷

11명의 침샘관암 환자를 포함해서 총 70명의 침샘암 환자를 대상으로 PD-L1의 발현이 생존율에 미치는 영향을 분석한 Chang 등의 연구에서는 PD-L1 음성인 군에서 생존율이 높았으나 통계적으로 유의한 연관성은 관찰되지 않았고 이 연구에서는 종양세포와 면역세포에서의 발현을 따로 분류하지 않고 연구를 진행하였다.¹⁴

침샘관암이 포함되지는 않았지만 47명의 침샘암 환자를 대상으로 한 Harada 등의 연구에서는 종양세포나 면역세포 모두에서 PD-L1을 높게 발현한 군의 생존율이 낮게 보고되었다.¹⁵

각각의 연구마다 PD-L1의 발현율과 생존율과의 연관성 분석에 차이가 있었는데 이에 대해서 PD-L1 양성 여부를 판정하는 기준과 종양세포, 면역세포를 분류해서 PD-L1 양성 여부를 판정하는 기준이 연구마다 차이가 있고 일관된 기준이 부재되어 있다는 점을 인지하고 있어야 한다. 본 연구에서는 Kim 등의 연구와 같이 5% 이상의 PD-L1 발현을 양성인 군으로 채택하였다.¹² 침샘관암 환자를 대상으로 한 Sato 등의 연구에서는 종양세포에서는 10% 이상을 high, 1%-9%를 low, 0%를 null의 세 그룹으로 나누는 기준을 사용하였고 면역세포에서는 10% 이상을 IC3, 10% 미만 5% 이상을 IC2, 1%이상 5%미만을 IC1, 1%미만을 IC0으로 하여 4개의 군으로 분류하였다.¹³ 이 연구에서는(1:200 dilution; clone E1L3N; Cell Signaling Technology, Denvers, MA) 종양세포에서 1% 이상의 PD-L1 발현율이 18개의 사례 중 9개 사례로 50%였고 면역 세포에서 5% 이상의 발현율은 18개의 사례 중 10 사례로 56%로 높게

보고되었으나 동일하게 5%를 기준으로 설정한 본 연구에서(dilution 1:100; clone SP142; Ventana) 침샘관암의 면역세포 PD-L1 양성률은 12%에 불과했다. 침샘관암 환자만을 대상으로 한 Hederlein 등의 연구에서는 5% 이상을 양성 기준으로 적용하였고 50명의 침샘관암 환자중 22%에서 PD-L1 양성으로 보고되었다. 그러나 이 연구에서도 종양세포와 면역세포를 분류하여 양성률을 제시하지는 않았다(dilution 1:200; clone 28-8; Abcam, Cambridge, UK).¹⁶

Mukaigawa 등의 연구에서는 PD-L1 양성을 보이는 세포가 1% 이상인 경우 양성으로 채택하였고 Chang 등의 연구에서는 H-score 방법을 적용하여 양성 여부를 판단하였다.^{7, 14} 침샘암을 대상으로 연구한 Mukaigawa 등의 연구와 Chang 등의 결과를 비교해 보면 Chang 등의 연구에서(dilution 1:100; rabbit polyclonal; Abcam, Cambridge, UK) PD-L1 양성율을 제시한 선양낭성암종(adenoid cystic carcinoma), 침샘관암, 점액표피양암종(mucoepidermoid carcinoma) 환자는 총 53명이었고 이중 16명에서 PD-L1 양성 판측되었다(30%). Mukaigawa 등의 연구에서는(dilution 1:400; clone E1L3N; Cell Signaling Technology, Danvers, MA) 종양세포에서는 22.8%, 면역세포에서는 12.8%에서 양성 소견이 관찰되었다. 402명의 두경부 고형암 전체를 대상으로 한 Kim 등의 연구에서는 종양세포에서는 18.2%, 면역세포에서는 27%의 양성률이 판측되었다(dilution 1:100; clone SP142; Ventana).¹²

PD-L1 발현이 임상적인 결과에 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 연구마다 결과에 차이가 있고 아직까지 논란이 있다. 앞서 살펴본 Mukaigawa 등의 연구와 Harada 등의 연구에서만 보더라도 면역세포에서 PD-L1을 발현한 군에서 생존율이 더 낮게 보고되어

PD-L1의 발현이 침샘관암 환자의 생존율에 미치는 일관된 결론을 도출하기에는 어려움이 있다.^{7,15} 이와 마찬가지로 HPV 양성인 두경부 편평세포암종 환자를 대상으로 한 연구에서는 PD-1을 발현하는 종양침윤림프구의 비중이 높은군에서 생존율이 높게 나타나기도 했다.¹⁷

다른 종류의 암에서 시행한 연구에서는 이와는 상반된 결과들을 발표한 연구들도 있는데, 교모세포종(glioblastoma)과 관상유방암(luminal breast cancer)에서 종양세포의 PD-L1 발현이 높을수록 생존율이 낮게 보고되었고,^{18,19} 신장암(renal cell carcinoma) 환자를 대상으로 한 Thompson 등의 연구에서는 면역세포에서 PD-1 발현은 안좋은 예후와 연관이 있다고 보고한 바 있으며,²⁰ 두경부암 환자를 대상으로 한 Kim HR 등의 연구에서는 면역세포의 PD-L1 발현이 좋은 예후와 연관이 있다고 보고하기도 했다.¹²

이처럼 PD-1, PD-L1이 예후에 어떤 영향을 미치는지에 대해서는 논란이 있다. 그러나 현재까지 진행되어 온 관련된 연구들의 대부분이 PD-L1의 발현을 종양세포와 종양침윤면역세포를 세심하게 분류해서 진행하지 않았다는 점을 주목할 필요가 있다. 실제로 여러 연구에서 종양세포와 면역세포에서의 PD-L1이 다른 경로를 통해서 발현이 된다고 보고하고 있으며,²¹⁻²⁴ Kim의 연구에서는 종양세포와 면역세포에서 동시에 PD-L1이 발현되는 경우가 1%미만이라는 결과를 보고하기도 하였다.¹³ 이러한 점으로 미루어 볼 때 종양세포와 면역세포에서 PD-L1 발현을 세심하게 분류하여 생존률과의 연관성을 확인한다면 추후 일관된 결과가 도출될 가능성이 있을 것으로 사료된다.

침샘관암에서 PD-L1의 발현율이 다른 질환에 비해 낮은 점도

주목할 필요가 있다. 본 연구에서 PD-L1 양성판정 기준을 1%로 낮춰 양성률을 높이면 통계적으로 유의한 결과가 도출될 수도 있으나 언급한 바와 같이 항체 제조사가 연구마다 다르고 판정의 기준도 다르기 때문에 PD-L1이 침샘관암의 경과에 미치는 일관된 영향을 비교하기에는 어려움이 있다. 그렇기 때문에 동일한 항체와 방법을 사용한 동일 기관의 결과와 비교하기 위해 본 연구는 5%의 기준을 양성 판정 기준으로 사용하였고 이를 통해 두경부암 전체 대상군에 비해서 침샘관암 환자에서 PD-L1의 양성률이 낮게 보고된다는 점을 확인할 수 있었다. 본 연구와 동일기관에서 두경부암 환자 전체를 대상으로 시행한 연구에서 면역세포의 PD-L1 양성률은 27%였으나 같은 방법을 사용한 본 연구에서의 양성률은 12%에 불과했다.¹² 마찬가지로 동일한 방법을 사용한 연구 간에 비교를 통해서 침샘관암에서 PD-L1의 양성률을 다른 질환의 양성률과 비교해 볼 수 있다. Hederlein 등의 연구와 같은 기준과 방법을 사용하여 조직구, 수지상세포 질환에서 PD-L1의 발현율을 조사한 Xu 등의 연구에서는 사르코이도증(sarcoidosis) 7 사례 중 7 사례 모두가(100%) 양성하였고, Kikuchi-Fujimoto 질환도 6 사례 모두에서(100%) 양성, Rosai-Dorfman 질환 11 사례 중 2 사례(18%) 에서 PD-L1 양성 소견을 보였다. 이에 반해 Hederlein 등의 연구에서 침샘관암의 PD-L1 양성률은 22%로 동일한 방법을 사용한 다른 연구의 결과에서보다 낮은 양성률을 보였다.^{16,25} Mukaigawa 등의 연구와 같은 기준과 방법을 사용하여 nonclear-cell renal cell carcinoma에서 PD-L1의 발현율을 연구한 Choueiri 등의 연구에서는 종양세포의 PD-L1 양성률은 10.9%, 면역세포의 PD-L1 양성률은 56.4%로 보고되었다. 이에 비해 Mukaigawa 등의 연구에서는 침샘관암 종양세포에서의 양성률은 48%, 면역세포에서의 양성률은 29%로 종양세포에서는 그 발현율이 높게 보고되었으나

면역세포에서의 양성률은 현저히 낮게 보고되었다.^{7,26} Sato 등의 연구와 같은 방법을 사용하여 비소세포폐암(non small cell lung cancer)에서 PD-L1의 발현에 대해 조사한 Garon 등의 연구에서 종양세포에서 PD-L1 양성률(high)은 36.6%로 보고되었으나 Sato 등의 연구에서 종양세포의 PD-L1 양성률(high)은 22%로 보고되었다. 두 연구에서 그 방법은 동일하였으나 high expression의 기준을 다르게 설정하였는데 Garon 등의 연구에서는 50%이상, Sato 등의 연구에서는 10%이상의 발현을 high expression으로 설정하였다. 이에 대해서 Sato 등은 50%이상의 발현을 보이는 경우가 하나도 없었기 때문에 10% 이상을 high로 설정하였다고 언급하였다.^{13,27}

V. 결론

알려진 바와 같이 침샘관암은 매우 드문 질환이기 때문에 본 연구에서도 충분한 대상자를 확보하기 어려웠고 또한 PD-L1의 발현율이 낮아 통계적으로 유의한 결과를 도출해 내기에는 어려움이 있었다. 그러나 본 연구에서 PD-L1 양성 종양침윤림프구의 비중이 높은 환자군에서 5년 생존률이 현저히 높게 관찰된 점으로 미루어 침샘관암 환자에서 PD-1/PD-L1 경로를 이용한 치료방법에 대한 연구는 충분한 가치가 있을 것으로 생각된다. 그러나 아직까지 PD-1/PD-L1이 임상적인 예후에 미치는 일관된 결과나 해석이 부재한 상태이며 침샘관암에서 PD-L1의 발현율이 낮게 관찰된다는 점을 고려할 때 현 단계에서 PD-1/PD-L1을 침샘관암 항암면역치료의 표지자로 이용하기에는 어려움이 있어 추가적인 연구가 필요할 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Kleinsasser O, Klein HJ, Hubner G. Salivary duct carcinoma: a group of salivary gland tumors analogous to mammary duct carcinoma. *Arch Klin Exp Ohren Nasen Kehlkopfheid* 1968;192:100-5.
2. El-Naggar AK, Chan JKC, Grandis JR, Takata T, Slootweg PJ. WHO classification of head and neck tumours. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2017.
3. Jaehne M, Roeser K, Jaekel T, Schepers JD, Albert N, Löning T. Clinical and immunohistologic typing of salivary duct carcinoma: a report of 50 cases. *Cancer* 2005;103:2526-33.
4. Limaye SA, Posner MR, Krane JF, Fonfria M, Lorch JH, Dillon DA, et al. Trastuzumab for the treatment of salivary duct carcinoma. *Oncologist* 2013;18:294-300.
5. Ryu HJ, Koh YW, Yoon SO. The implications of TrkA and MET aberrations in de novo salivary duct carcinoma. *Hum Pathol.* 2018;81:18-25.
6. Alotaibi AM, Alqarni MA, Alnobi A, Tarakji B. Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2/neu) in salivary gland carcinomas: a review of literature. *J Clin Diagn Res.* 2015;9:ZE04-8
7. Mukaigawa T, Hayashi R, Hashimoto K, Ugumori T, Hato N, Fujii S. Programmed death ligand-1 expression is associated with poor disease free survival in salivary gland carcinomas. *J Surg Oncol.* 2016;114(1):36-43.
8. Chae YK, Pan A, Davis AA, Raparia K, Mohindra NA, Matsangou M, et al. Biomarkers for PD-1/PD-L1 Blockade Therapy in Non-Small-cell Lung Cancer: Is PD-L1 Expression a Good Marker for Patient Selection?. *Clin Lung Cancer.* 2016;17(5):350-361.
9. Choi CH, Park YH, Lim JH, Choi SJ, Kim L, Park IS, et al. Prognostic implication of semi-quantitative Immunohistochemical assessment of CD20 expression in diffuse large B-cell lymphoma. *J Pathol Transl Med* 2016;50:96-103.
10. Wolff AC, Hammond ME, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for human epidermal growth factor receptor 2

- testing in breast cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists clinical practice guideline update. *J Clin Oncol* 2013;31:3997-4013.
11. Herbst RS, Soria JC, Kowanetz M, Fine GD, Hamid O, Gordon MS, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature* 2014;515:563–567.
 12. Kim HR, Ha SJ, Hong MH, Heo SJ, Koh YW, Choi EC, et al. PD-L1 expression on immune cells, but not on tumor cells, is a favorable prognostic factor for head and neck cancer patients. *Sci Rep.* 2016;6:36956.
 13. Sato F, Akiba J, Kawahara A, Naito Y, Ono T, Takase Y, et al. The expression of programmed death ligand-1 could be related with unfavorable prognosis in salivary duct carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2018;47(7):683-690.
 14. Chang H, Kim JS, Choi YJ, Cho JG, Woo JS, Kim A, et al. Overexpression of PD-L2 is associated with shorter relapse-free survival in patients with malignant salivary gland tumors. *Onco Targets Ther.* 2017;10:2983-2992.
 15. Harada K, Ferdous T, Ueyama Y. PD-L1 expression in malignant salivary gland tumors. *BMC Cancer.* 2018;18:156.
 16. Haderlein M, Scherl C, Semrau S, Lettmaier S, Hecht M, Erber R, et al. Impact of postoperative radiotherapy and HER2/new overexpression in salivary duct carcinoma : a monocentric clinicopathologic analysis. *Strahlenther Onkol.* 2017;193:961-970.
 17. Badoual C, Hans S, Merillon N, Van Ryswick C, Ravel P, Benhamouda N, et al. PD-1-expressing tumor-infiltrating T cells are a favorable prognostic biomarker in HPV-associated head and neck cancer. *Cancer Res.* 2013;73:128–138.
 18. Tsang JY, Au WL, Lo KY, Ni YB, Hlaing T, Hu J, et al. PD-L1 expression and tumor infiltrating PD-1 + lymphocytes associated with outcome in HER2 + breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat.* 2017;162:19-30.
 19. Han J, Hong Y, Lee YS. PD-L1 expression and combined status of PD-L1/PD-1-positive tumor infiltrating mononuclear cell density predict

- prognosis in glioblastoma patients. *J Pathol Transl Med.* 2017;51:40-48.
20. Thompson RH, Dong H, Lohse CM, Leibovich BC, Blute ML, Cheville JC, et al. PD-1 is expressed by tumor-infiltrating immune cells and is associated with poor outcome for patients with renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2007;13:1757-1761.
 21. Parsa AT, Waldron JS, Panner A, Crane CA, Parney IF, Barry JJ, et al. Loss of tumor suppressor PTEN function increases B7-H1 expression and immunoresistance in glioma. *Nat. Med.* 2007;13:84–88.
 22. Atefi M, Avramis E, Lassen A, Wong DJ, Robert L, Foulad D, et al. Effects of MAPK and PI3K pathways on PD-L1 expression in melanoma. *Clin. Cancer Res.* 2014;20:3446–3457.
 23. Palazón A, Martínez-Forero I, Teijeira A, Morales-Kastresana A, Alfaro C, Sanmamed MF, et al. The HIF-1 α hypoxia response in tumor-infiltrating T lymphocytes induces functional CD137 (4-1BB) for immunotherapy. *Cancer Discov.* 2012;2:608–623.
 24. Noman MZ, Desantis G, Janji B, Hasmim M, Karray S, Dessen P, et al. PD-L1 is a novel direct target of HIF-1 α , and its blockade under hypoxia enhanced MDSC-mediated T cell activation. *J. Exp. Med.* 2014;211:781–790.
 25. Xu J, Sun HH, Fletcher CD, Hornick JL, Morgan EA, Freeman GJ, et al. Expression of programmed cell death 1 Ligands (PD-L1 and PD-L2) in Histiocytic and dendritic cell disorders. *Am J Surg Pathol.* 2016;40:443–453.
 26. Choueiri TK, Fay AP, Gray KP, Callea M, Ho TH, Albiges L, et al. PD-L1 expression in nonclear cell renal cell carcinoma. *Ann Oncol.* 2014;25:2178–2184.
 27. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, Leighl N, Balmanoukian AS, Eder JP, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2015;372:2018-2028.

ABSTRACT

Analysis of PD-L1 expression in salivary duct carcinoma with its efficacy as a tumor marker

Yong Ju Lee

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Yoon Woo Koh)

Salivary duct carcinoma is a rare tumor in head and neck which has one of the poorest prognosis among other types of cancers, even though multiple approaches of treatments are performed. The conventional treatments include surgical resection, chemotherapy, as well as radiation therapy. However, there has been a need for more successful treatment methods for salivary duct carcinoma. Therefore, treatment options using new technologies are attempted like immunotherapy. Based on recent study results indicating that targeting programmed death receptors are effective in treating various cancers, this study aimed to identify the frequency of PD-L1 expression and its impact on survival rate in salivary duct carcinoma. According to this study and review of similar studies, we discovered that the expression of PD-L1 in salivary duct carcinoma was lower than other types of cancers. The impact of PD-L1 on survival rate also showed inconsistency in salivary duct carcinoma. Thus, a conclusion was made that using PD-L1 as patient selection marker has limitation and immunotherapy using PD-1/PD-L1 in salivary duct carcinoma needs further evaluation for clinical application

Key Words : salivary duct cancer, programmed death ligand 1