

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18455

研究課題名(和文) 肺がんにおける抗PD-1抗体の効果予測因子の発見

研究課題名(英文) Discovery of effect predictor of anti-PD-1 antibody in lung cancer

研究代表者

池田 喬哉 (IKEDA, Takaya)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号：00773871

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：症例登録は25例であった。年齢中央値は68歳、男性が19例、女性が6例であった。組織型は腺癌16例、扁平上皮癌7例、大細胞癌2例であった。病期分類はⅢ期3例、Ⅳ期19例、術後再発3例であった。喫煙歴ありは21例であった。ニボルマブ治療において25例中6例で奏効が得られ奏効率24.0%、無増悪生存期間中央値107日であった。25例について免疫コンプレキソーム法で抗原タンパク質の解析を行った結果、奏効例6例にのみ特定の抗原タンパク質を認めた。これらの抗原タンパク質が発現している患者はニボルマブが奏効する可能性があり、これらがニボルマブの効果予測因子となる可能性が考えられた。

研究成果の概要(英文)：There were 25 cases of case registration. The median age was 68 years, 19 males and 6 females. Tissue types were 16 adenocarcinomas, 7 squamous cell carcinomas and 2 large cell carcinomas. Stage classification was 3 cases in stage III, 19 cases in stage IV and 3 cases after surgery. There were 21 cases of smoking history. Response was obtained in 6 of 25 patients treated with nivolumab and the response rate was 24.0%, median progression-free survival was 107 days. Analysis of antigen protein by Immune Complexome Analysis on 25 subjects revealed specific antigenic proteins only in 6 responding cases. Patients expressing these antigenic proteins may have a response to nivolumab, which may be a predictive factor for the effect of nivolumab.

研究分野：呼吸器腫瘍学

キーワード：肺がん 免疫チェックポイント阻害剤 抗PD-1抗体 ニボルマブ 効果予測因子 イムノコンプレキソーム法

1. 研究開始当初の背景

近年、がん治療の分野において免疫チェックポイント阻害剤が臨床応用されるようになってきている。肺がんにおいては免疫チェックポイント阻害剤である抗 PD-1 抗体 (ニボルマブ) が保険適応となる見通しで、それにより肺がん患者の予後が大きく改善することが期待されている。

T 細胞が、がん細胞を攻撃する際に、がん細胞側が PD-L1 や PD-L2 といったリガンドを発現し、T 細胞表面の PD-1 と結合することで、免疫寛容状態を作り出し抗腫瘍免疫応答から逃れることがわかっている。ニボルマブはこの PD-1 に対する抗体で、これを阻害することで抗腫瘍免疫応答の抑制を抑制し抗腫瘍効果を示す。実際、肺がん患者に対して行われた臨床試験ではニボルマブを投与された約 2 割の患者で腫瘍の縮小効果が認められている。しかし、効果が期待できるのは 2 割程度の患者で、どういった患者に効果があって、どういった患者には効果がないのか、いわゆる効果予測因子については現在のところ明らかにされていない。

最近、DNA 複製の際に生じた誤った塩基対合 (ミスマッチ) を発見し修復する機構 (ミスマッチ修復) が欠損している患者では抗 PD-1 抗体への感受性が高いことが報告されている。また、肺がんの中でも喫煙が原因となって起こる扁平上皮がんも抗 PD-1 抗体への感受性が高いといわれている。このことはミスマッチ修復の欠損、または喫煙により遺伝子に傷が起こり、それにより異常なタンパク質の発現が起こり、がん組織においてはそれらが抗原タンパク質として発現し、そのことが高い免疫原性を引き起こし抗 PD-1 抗体への感受性が高まっている可能性がある。研究代表者は、がん組織に発現している抗原タンパク質の違いが抗 PD-1 抗体への感受性の違いで、このことが効果予測因子となりうるのではないかと考えた。

イムノコンプレキソーム解析法は ProteinG 固定化磁気ビーズを用い、血清中の免疫複合体を捕集する方法で、捕集した免疫複合体から抗原タンパク質を同定することで、実際に免疫応答を起こしているタンパク質を同定することができる。この方法を用い、がん組織に発現している抗原タンパク質を同定することが可能である。

実際、研究代表者のグループでは、これまでに肺がん、大腸がん、悪性リンパ腫の患者計 53 名の血清から、イムノコンプレキソーム解析法を用いて抗原タンパク質の解析を行い、ゲルソリンなどの肺がん患者に特異性の高い抗原タンパク質を検出している。

2. 研究の目的

抗 PD-1 抗体であるニボルマブは T 細胞表面にある抑制性の免疫チェックポイントである PD-1 を阻害することで抗腫瘍免疫応答を増強し高い抗腫瘍効果を示す。肺がんに対し保険適応となる見通しであるが、効果予測因子が見つかっていない。イムノコンプレキソーム解析法は患者の血清から免疫複合体を捕集し抗原タンパク質を同定する方法である。イムノコンプレキソーム解析法を用いてニボルマブを投与する患者の免疫複合体を解析することでその効果予測因子を同定できると考える。そこで、(1)ニボルマブ投与予定の肺がん患者の血清から免疫複合体を捕集し抗原タンパク質を同定する、(2)抗原タンパク質と治療効果について解析する。(3)前記(1)(2)よりニボルマブの効果予測因子を明らかにすることを本研究の目的とする。

当該分野における本研究の学術的な特色・独創的な点及び予想される結果と意義

がん治療の創薬において、効果予測因子は重要な要素の一つであり、そのことが個別化治療へとつながる。免疫チェックポイント阻害剤は今後、がん患者の予後を大きく改善さ

せる可能性がある新たな薬剤であるが、抗 PD-1 抗体の効果予測因子に関して、現在のところ確立されたものはない。イムノコンプレキソーム解析法は、実際に免疫複合体を形成している抗原そのものを捕集し解析することができるため、抗 PD-1 抗体への感受性を規定していると考えられる抗原タンパク質を同定できる可能性がある。この方法を用いた予後予測因子の報告は現在のところなく臨床的に非常に興味深い研究と考えられる。

また、本研究で効果予測因子が明らかになることで、効果が期待できる患者へは積極的に抗 PD-1 抗体を使うとともに、効果が期待できない患者に対しては抗 PD-1 抗体以外の治療薬を選択するということが可能となり、個別化治療へとつながることになる。

また、一般的に抗体薬は高価であるため、効果予測因子が明らかになり効果が期待できない患者へむやみに投与されることがなくなれば、医療費の削減といった社会的な利益へもつながる。

3. 研究の方法

ニボルマブ投与予定の肺がん患者から文書による同意を得る。そしてこれらの患者からニボルマブ開始前の血清を採取し、イムノコンプレキソーム解析法を用いて免疫複合体を捕集し、抗原タンパク質の同定を行う。また、それらとニボルマブの治療効果とを合わせて解析しニボルマブの効果予測因子の同定を行う。

【研究の対象】

(1)当院の肺がん患者でニボルマブによる治療を受ける予定の症例。

(2)本研究についての説明を十分に理解し、文書によって参加の同意が得られる症例。

【症例数および研究期間】

症例数は 20 例で研究期間は 2 年間とする。

【抗原タンパク質解析】

ニボルマブ投与前に血清の採取を行う。

ProteinG 固定化磁気ビーズを用いて、血清 (10 μ L) から免疫複合体を捕集し、ジチオスレイトール及びヨードアセトアミドにより還元アルキル化を行った後、トリプシンで消化。ペプチドの LC-MS/MS 分析とデータベース検索を行い、抗原タンパク質を同定する。

【ニボルマブの治療効果との相関解析】

抗原タンパク質の解析結果と、ニボルマブの奏効率、無増悪生存期間および全生存期間との関係を解析する。

【患者の臨床情報の収集】

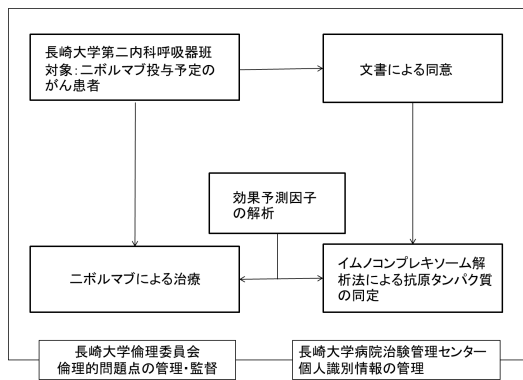
基本情報(性別、年齢、喫煙歴、PS など)、臨床病期、前治療、有害事象、奏効率、生存期間 (Progression-free survival, Overall survival)、再発後の治療の有無、再発後の治療の効果等の臨床情報をカルテから収集する。

【統計解析】

抗原タンパク質の発現とニボルマブの治療効果について相関解析を行う。生存期間 (Progression-free survival, Overall survival) については単変量解析および Kaplan-Meier 法による生存率曲線を描き、Log-rank 検定を行う。多変量解析はCox 比例ハザードモデルを用いて評価する。

・本研究を遂行する上での具体的な工夫

イムノコンプレキソーム解析法は実際に免疫応答を起こしているタンパク質を同定することができ、この方法を用いることでがん組織に発現している抗原タンパク質を同定することが可能である。



4. 研究成果

研究開始当初、単施設で 20 例の症例数を予定していたが、栃木県立がんセンターの協力も得ることが可能となりプロトコルの改訂を行い 25 例の症例登録を得ることができた。登録症例の内訳は年齢は 54～80 歳、年齢中央値は 68 歳、性別は男性が 19 例、女性が 6 例と男性が多かった。組織型は腺癌 16 例、扁平上皮癌 7 例、大細胞癌 2 例であった。また、病期分類は Ⅲ期 3 例、Ⅳ期 19 例、術後再発 3 例、PS (performance status) は 1 が 24 例、2 が 1 例で、21 例に喫煙歴があった。

【患者背景】

年齢 (中央値)	54-80歳 (68歳)
性別 男性/女性	19/6
病理組織型 腺癌/扁平上皮癌/大細胞癌	16/7/2
病期分類 Ⅲ/Ⅳ/術後再発	3/19/3
PS 0/1/2	0/24/1
喫煙歴 あり/なし	21/4

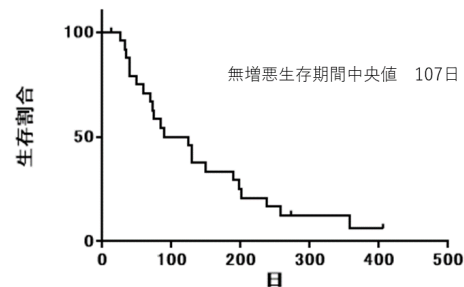
また、登録症例におけるニボルマブの効果に関しては、25 例中 6 例で部分奏効 (PR: partial response)、12 例で安定 (SD: stable

disease)、6 例で進行 (PD: progressive disease)、評価不能 (NE: not evaluable) 1 例で、奏効率 (治療が奏功した割合) は 24.0% であった。また、無増悪生存期間の中央値は 107 日であった。これらの結果はこれまでの報告と同様の結果であった。

【奏効率】

CR	PR	SD	PD	NE	RR (%)
0	6	12	6	1	24.0%

無増悪生存期間



25 例についてイムノコンプレキソーム法で抗原タンパク質の解析を行った結果、ニボルマブ奏効例 (部分奏効 6 例) にのみにある特定の抗原タンパク質を認めた。また、これらの抗原タンパク質はニボルマブ非奏効例 (安定 12 例、進行 6 例、評価不能 1 例) では検出されなかった。これらの抗原タンパク質が発現している患者はニボルマブが奏効する可能性がありこれらがニボルマブの効果予測因子となる可能性が考えられた。現在、症例を追加しこれらの結果の検証研究を行っている。検証研究で効果予測因子として有用と判断されれば、これらの抗原タンパク質をバイオマーカーとした前向き臨床試験を計画

する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 0件)

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

6. 研究組織

(1) 研究代表者

池田 喬哉(IKEDA, Takaya)

長崎大学・病院(医学系)・助教

研究者番号: 00773871

(2) 研究協力者

大山 要(OHYAMA, Kaname)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・

准教授

研究者番号: 50437860

中村 洋一(NAKAMURA, Yoichi)

栃木県立がんセンター・呼吸器内科・医長

研究者番号: 20432974