

令和 2 年 6 月 23 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K09626

研究課題名(和文) 抗PD-1抗体による肺障害の免疫学的メカニズムと対応抗原の解明

研究課題名(英文) Elucidation of immunological mechanism of lung injury and corresponding antigen by anti-PD-1 antibody

研究代表者

山口 央 (Yamaguchi, Ou)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：70795913

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：埼玉医科大学国際医療センターで研究課題名「抗PD-1/PD-L1抗体関連肺有害事象の免疫学的メカニズムと対応抗原の解明(UMIN000035125)」として研究申請を行い、2017年12月20日に倫理委員会の承認を得て、研究を開始した。2020年5月現在までに薬剤性肺障害を発症した非小細胞肺癌患者4名の同意を得て、気管支肺胞洗浄液、末梢血単核細胞の保存を行い、得られた検体の解析が進行中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、進行肺癌治療の主流になりつつある免疫チェックポイント阻害薬(抗PD-1/PD-L1抗体)により発症する薬剤性肺障害の機序を解明することである。薬剤性肺障害は死に至る可能性のある副作用である。本研究で得られる結果により、事前に薬剤性肺障害発症を予測することができれば、免疫チェックポイント阻害薬の安全使用に貢献することができる。

研究成果の概要(英文)：A research application was submitted at Saitama Medical University International Medical Center with the research project title "Immunological mechanism and correspondent antigen of anti PD-1/PD-L1 antibody Related LUNG adverse events(UMIN000035125)", and December 20, 2017 The study was started with the approval of the Ethics Committee. Bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells were preserved with the consent of 4 non-small cell lung cancer patients who developed drug-induced lung injury by May 2020. We are proceeding with the analysis of the obtained samples.

研究分野：呼吸器病学

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 抗PD-1抗体 薬剤性肺障害 非小細胞肺癌 ニボルマブ ペムブロリズ  
マブ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) の一つである抗 PD-1/PD-L1 抗体は進行期非小細胞肺癌 (NSCLC) の全生存期間延長を示し標準療法としての地位を確立した。しかし、その作用メカニズムの違いから有害事象プロファイルは従来の細胞傷害性抗がん剤や分子標的治療薬と全く異なっている。PD1-阻害薬による薬剤性肺障害はこれまでの臨床試験の報告では 2~7% に発症するとされており、呼吸不全により死亡に至ることもある。我々は、埼玉医科大学国際医療センターでニボルマブ治療を受けた NSCLC 患者 82 名の CT による詳細な解析結果より、通常の肺炎とはできない肺内異常影出現頻度が約 17% と極めて高いことを見出した。また、興味深いことに肺異常影発症患者の奏効率は非発症患者のそれよりも高い傾向にあった。他にも PD-1 阻害薬による免疫関連有害事象 (irAE) は、発症した患者群の治療効果が発症しなかった患者群より高いとする報告もあるが、機序の解明には至っていない。一方、我々が行った「非小細胞肺癌に対する免疫チェックポイント阻害剤治療のコホート研究 (ICI Cohort Study, UMIN000020719)」により、PBMC 中の CD4<sup>+</sup> Teff cell / 制御性 T 細胞 (Treg) 比が抗 PD-1 抗体の効果を予測するバイオマーカーとなる事を発見した。即ち、末梢血を用いて抗腫瘍免疫効果を担う T 細胞のモニタリングが可能となった。irAE も抗腫瘍効果と似た機序により生じると考えられることから、この CD4 Teff/Treg 比により評価できる可能性が高い。以上のことから PD-1 阻害薬による薬剤性肺障害を発症した進行期非小細胞肺癌患者を対象に気管支肺泡洗浄液と末梢血単核細胞 (PBMC) の解析により肺臓炎に関する責任 T 細胞分画を解明することを目的に本研究を開始した。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、抗 PD-1/PD-L1 抗体により発症した薬剤性肺障害の責任 T 細胞分画を解明し、さらその責任 T 細胞がいかなる抗原を認識しているのかを明確にすることである。最終的には、抗 PD-1/PD-L1 抗体による抗腫瘍効果と irAE を独立して評価可能な免疫学的バイオマーカーを確立する。

### 3. 研究の方法

#### 【デザイン】

通常診療における気管支鏡検査の残余検体を用いた臨床研究である。抗 PD-1/PD-L1 抗体により薬剤性肺障害を発症した NSCLC 患者の同意を得て、気管支鏡検査による検体採取 (経気管支肺生検、気管支肺泡洗浄) と採血による PBMC 採取を行い、リンパ球の解析を行う。

#### 【調査項目】

#### 1. 末梢血リンパ球

解析担当者：埼玉医科大学国際医療センター呼吸器内科 山口 央/各務 博

方法：末梢血単核球のフローサイトメトリー (FCM) 解析を行う。バイオマーカーとしての FCM 解析 (CD4, CD8, CD62L, foxp3, CD25) に加え、T 細胞上の各種免疫チェックポイント分子、ケモカインレセプター (TIM-3, LAG-3, BTLA, CTLA-4, PD-1, CCR4, CXCR3, CCR6, CXCR5 etc.)、骨髄由来抑制細胞 (CD33, CD14, CD11b)、樹状細胞 (CD123, CD11c, HLA-DR) 等の解析を行う。

#### 2. 気管支肺泡洗浄液 (BALF) 検体

液性検体：培養、microbiome 解析

解析担当者：埼玉医科大学微生物学教室 前田卓哉/東京大学 鈴木穰

方法：肺異常影発症部位での気管支洗浄液の一部を凍結保存し、MinION ポータブルシーケンサーを用いて microbiome 検査を行う。

細胞検体

解析担当者：埼玉医科大学国際医療センター呼吸器内科 山口 央/各務 博

末梢血に準じた FCM 解析を行う。残余細胞は液体窒素にて凍結保存する。

#### 3. 経気管支肺生検検体

肺組織免疫組織化学的解析

方法：HE 染色標本の評価と、以下の免疫染色を行う。肺癌細胞上 PD-L1 発現の染色：28-8, 22C3, SP142、腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) として CD3, CD4, CD8, FoxP3, PD-1, CTLA-4 の染色、非リンパ球として樹状細胞 (CD11c)、M2 マクロファージの染色。

肺障害部位浸潤リンパ球解析

肺障害部位の経気管支肺生検で得た組織よりリンパ球を抽出し FCM 解析を行う。回収した細胞は液体窒素にて凍結保存する。

### 4. 研究成果

埼玉医科大学国際医療センターで研究課題名「抗 PD-1/PD/L1 抗体関連肺有害事象の免疫学的メカニズムと対応抗原の解明 (UMIN000035125)」として研究申請を行い、2017 年 12 月 20 日に倫理委員会の承認を得て、研究を開始した。2020 年 5 月現在までに薬剤性肺障害を発症した 4 名 (ペムプロリズマブ 2 名、デュルバルマブ 2 名) の患者の同意を得て、気管支肺泡洗浄液、PBMC の保存を行い、得られた検体の解析を適宜進めている。

#### 【今後の展開】

研究期間は 2021 年 12 月 31 日までとしており、計 10 名を目標に引き続き肺臓炎発症患者の協力を得て検体採取を進める。最終的には肺障害責任 T 細胞レパトアを解明することで、PD-1 阻

害薬による肺障害予測因子を確立する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	各務 博  (Kagamu Hiroshi)  (30418686)	埼玉医科大学・医学部・教授    (32409)	
研究分担者	前田 卓哉  (Maeda Takuya)  (20383763)	埼玉医科大学・医学部・教授    (32409)	
研究分担者	鈴木 穰  (Suzuki Yutaka)  (40323646)	東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授    (12601)	