

令和 3 年 5 月 28 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08616

研究課題名(和文) 食道癌に対する化学+免疫療法の新規併用療法の確立に向けたバイオマーカー探索研究

研究課題名(英文) Biomarker study to establish novel combination therapy with chemo- and immunotherapy for esophageal cancer

研究代表者

牧野 知紀(MAKINO, TOMOKI)

大阪大学・医学系研究科・助教

研究者番号：80528620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：食道癌術前化学療法(NAC)例では術前無治療例より腫瘍PD-L1発現が高く腫瘍浸潤CD8+細胞数はPD-L1陽性例で少なかったことから、NACが腫瘍PD-L1発現を誘導し治療耐性に寄与している可能性が示唆された。また進行例では腫瘍中心部、辺縁部のCD3+/CD8+細胞数(イムノスコア)が多い症例で有意に予後良好であった。またNAC前内視鏡生検標本でCD3+ high群は予後良好であり、NAC奏効例はCD3+/CD8+細胞数が多かった。一方、1次治療(治験)として当院で進行・再発食道癌13例に対し治療+Nivolumabを投与し良好な治療成績を得た。今後、同症例の検体を用いて解析予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では食道癌切除標本および内視鏡生検検体を用いて腫瘍PD-L1発現や腫瘍内浸潤T細胞数(TILs)を中心としたがん免疫微小環境と化学療法との相互作用を明らかにした。また、実臨床においても進行・再発食道癌に対する1次治療(治験)としての治療+Nivolumab治療の有用性を確認しており、今後これらの臨床検体を解析することで治療+Nivolumabの治療効果予測・予後マーカー開発につながる可能性がある。そうならば食道癌の個別化治療の確立に大きく貢献し、最終的に飛躍的な治療成績の向上および医療費軽減につながり社会的意義も甚大と考える。

研究成果の概要(英文)：Tumor PD-L1 expression was higher in esophageal cancer patients with preoperative chemotherapy (NAC) compared with patients without NAC, and the number of tumor-infiltrating CD8+ cells was lower in PD-L1-positive tumors, implying that NAC may induce tumor PD-L1 expression and somehow contribute to treatment resistance. In advanced cases, the prognosis was significantly better in cases with larger number of CD3+/CD8+ cells (immunoscore) infiltrating to the central and marginal areas of the tumor. In addition, the prognosis of the CD3+ high group was better than CD3 low group in pretherapeutic endoscopic biopsies, and the number of CD3+/CD8+ cells was higher in responders to NAC. Meanwhile, as the first-line treatment as a clinical trial, we administered chemotherapy plus Nivolumab to 13 patients with advanced/recurrent esophageal cancer at our hospital, and obtained favorable treatment outcomes. We next plan to analyze clinical samples of these cases.

研究分野：消化器外科

キーワード：食道癌 複合療法 化学療法 免疫療法 バイオマーカー 免疫チェックポイント阻害剤 腫瘍浸潤リンパ球 PD-L1

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、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

食道癌については最近の免疫チェックポイント阻害剤(ICI)の治験にて一定の奏効率が示されているが単剤での奏効率は10-20%と低く、効率的に臨床応用するには新たな治療レジメの確立やバイオマーカー探索が必須である。われわれの先行研究で食道癌に対する化学療法(以下、化療)により腫瘍においてPD-L1 発現が誘導され化療耐性メカニズムとなっていることを見出した。一方で化療により腫瘍において遺伝子変異が誘導され、また化療による細胞死がimmunogenic cell death(ICD)として新たな腫瘍抗原(neo-antigen)となり高機能性細胞障害性T細胞(CTL)が誘導されることで免疫反応をより強化する効果も期待できる。さらに、食道癌で用いられるDTX、5-FU は制御性T細胞(Treg細胞)やMDSC(Myeloid-derived suppressor cells)といった抑制性細胞を減少させるとの報告もある。これらより、食道癌に対して化療とICIを併用することでより高い治療効果が得られ、とくに遺伝子変異が誘導されやすいミスマッチ修復欠損を伴う腫瘍でより効果的である可能性がある。しかしこれまで食道癌において化療とICIを組み合わせた併用療法のエビデンスは皆無であり、その作用機序もいまだ明らかにされていない。

2. 研究の目的

近年、食道癌において術前化学療法(NAC)が広く行われるようになり治療全体における化学療法の役割は大幅に増した。しかしNACによりSurvival benefitを享受するのは奏効例のみであり、全体としての予後改善にはいまだ至っていない。一方でがん免疫療法はICI単剤から化学療法や分子標的薬との併用といった複合免疫療法へシフトしつつあるが、それらの奏効率にも未だ改善の余地があり有用な効果予測マーカーの確立が望まれる。一部の癌種ではPD-L1発現や腫瘍内浸潤T細胞数(TILs)、Microsatellite Instability(MSI)などがICIの効果予測因子になると報告されているが、食道癌でも前述のように化学療法で誘導される腫瘍PD-L1発現などの腫瘍免疫微小環境因子が治療耐性機序となり得ることから、当研究では食道癌において腫瘍PD-L1/2発現、腫瘍内浸潤T細胞数(TILs)などのがん免疫微小環境と化学療法・ICIとの相互作用を検証したうえで、化療+ICIという新規併用療法における抗腫瘍効果およびその腫瘍-宿主免疫応答機序を明らかにし、最終的に臨床応用可能な治療効果予測・予後マーカー開発を目的とする。これが実現すれば食道癌治療のパラダイムシフトおよび個別化治療の確立に大きく貢献し、最終的に飛躍的な治療成績の向上および医療費軽減につながり社会的意義も甚大と考える。

3. 研究の方法

A. 化学療法と免疫関連因子との相互作用の検証

1. 化療前後での腫瘍および腫瘍内浸潤T細胞(TILs)におけるPD-L1/2発現変化と抗腫瘍効果
2. 腫瘍内浸潤T細胞数(TILs)
3. 化療前後での腫瘍のMSI (microsatellite instability)評価

B. 化学療法+抗PD-1抗体療法の臨床効果の検証

切除不能進行食道扁平上皮癌を対象(n=20)としてFP(5FU800mg/m² Day1-5, CDDP80mg/m² Day1)+抗PD-1療法(Nivolumab 240mg/body biweekly)。なお投与方法・減量基準・効果判定法などはONO-4538-50/CA209648 第III試験に基づいて行う。

C. 化学療法+抗PD-1抗体療法の治療効果予測バイオマーカー探索

<特異的アプローチ> 治療前後での内視鏡生検サンプルまたは末梢血における下記の因子と治療効果・予後との相関を検証する。

- 1.腫瘍および腫瘍内浸潤T細胞(TILs)におけるPD-L1/2 発現
- 2.腫瘍内浸潤T細胞数(TILs)
- 3.腫瘍のMSI (microsatellite instability)評価

<網羅的アプローチ> 治療前における治療奏効(n=5)/非奏効(n=5)の2群間で全エクソンシーケンスおよびmiRNA アレイ解析により治療効果に関わる遺伝子変異数や種類を同定する。

- 1.内視鏡生検検体(腫瘍因子)：
- 2.末梢血エクソソーム(腫瘍+ホスト因子)
- 3.末梢血T細胞(ホスト因子)

上記の全エクソンシーケンスとmiRNA発現解析で腫瘍因子とホスト因子で共通する感受性予測バイオマーカーを選定する。その後、独立したサンプルを用いたvalidationを経て最終的に前向き臨床試験へとつなげる。

4. 研究成果

A.食道癌における化療と腫瘍PD-1 発現の相互作用の検証として、食道癌切除標本180例の解析では腫瘍PD-L1・L2 発現を全体の各29.4、48.3%に認め、それぞれの高発現例は低発現例より予後不良であった(各P=0.001, P=0.0237)。この傾向は術前化療(NAC)例のみにみられ、術前無治療例と比較するとNAC 例は腫瘍PD-L1 発現が有意に高く(P=0.0139)、また腫瘍浸潤CD8 陽性細胞数はPD-L1 陽性例では陰性例より少ない傾向にあった(P = 0.0346)。この結果より化療により腫瘍PD-L1 発現が誘導され化療耐性メカニズムとなる可能性が示唆された。また腫瘍浸潤リンパ球(TIL)評価として、食道癌術前無治療切除標本300例における腫瘍中心部、辺縁部のそれぞれでCD3、CD8 陽性細胞数を測定し総合スコア(Immunosocore®)を算出した。全症例ではImmunosocore で予後に差は認めなかったが(Immunosocore high vs low: 77.6 vs 65.8%、p=0.0722)、進行例(stage II-IV)ではImmunosocore high 群で有意に予後良好であり(Immunosocore high vs low: 70.2 vs 54.5%, p=0.0208)、多変量解析においてもImmunosocore は独立予後因子であった[Hazard ratio(HR)=2.07, 95%CI=1.26-3.41, p=0.0043]。続いて別コホートである食道癌に対してNAC 施行した146症例の(治療前)内視鏡生検標本における腫瘍部CD3 陽性細胞数密度を測定しその中央値で2群化し予後・治療効果との相関をみたところ、CD3 high 群はlow 群より有意に予後良好であり(CD3+ high vs low group: 5年全生存63.9 vs 42.9%, p=0.0194)、多変量解析でもCD3 細胞数が独立予後因子となった(HR=1.75, 95%CI=1.12-2.78, p=0.0169)。また治療効果との相関については、responder はnon-responder と比較してCD3 細胞数(responder vs non-responder: 3.8 vs 2.5/μm² × 10⁴, p=0.0106)またはCD8 細胞数(2.1 vs 1.4/μm² × 10⁴, p=0.0729)が多く、多変量解析にて両因子とも治療効果の独立予測因子であることが分かった(CD3+: HR=1.75, 95%CI=1.12-2.78, p=0.0169、CD8+: HR=1.88, 95%CI=0.96-3.68, p=0.0169)。今後はMSI 評価を追加で行う予定としている。

B.化療+ICI 併用療法の臨床効果の検証として、進行・再発食道癌に対する1次治療(CheckMate648 試験)として当院で13例を化療+Nivolumab 群もエントリーし、(試験のため詳細な臨床データは提示できないが)良好な奏効率・予後が得られた。実際、2021年4月9日に発表されたプレスリリース(小野薬品工業株式会社)では化療+Nivolumab 群は化療群と比較し有意に生存(全生存期間、無増悪生存期間)を延長したことが示された。今後、当院で

の同治験エントリー症例における腫瘍組織および末梢血を用いて上記C の各項目について解析予定としている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 野間俊樹、牧野知紀、山崎誠、山下公太郎、田中晃司、西塔拓郎、高橋剛、黒川幸典、江口英利、土岐祐一郎
2. 発表標題 食道扁平上皮癌におけるImmunoscoreを用いた予後予測の検討
3. 学会等名 第74回日本食道学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 野間俊樹、牧野知紀、武岡奉均、山下公太郎、西塔拓郎、田中晃司、高橋剛、黒川幸典、山崎誠、中島清一、森正樹、土岐祐一郎、和田尚
2. 発表標題 M-MDSC(Monocytic-Myeloid Derived Suppressor Cell)の変化に注目した食道癌治療の抗腫瘍効果および予後への影響
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本慧、牧野知紀、佐藤永一、野間俊樹、武岡奉均、山下公太郎、西塔拓郎、田中晃司、高橋剛、黒川幸典、山崎誠、中島清一、森正樹、土岐祐一郎、和田尚
2. 発表標題 多重免疫染色法を用いた食道癌免疫微小環境評価とその臨床病理学的意義
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本慧、牧野知紀、西塔拓郎、山下公太郎、田中晃司、高橋剛、黒川幸典、中島清一、山崎誠、森正樹、土岐祐一郎、和田尚
2. 発表標題 多重免疫染色法を用いた食道癌免疫微小環境評価とその臨床病理学的意義
3. 学会等名 第120回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2020年

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------