

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 23 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07785

研究課題名(和文) 抗PD-1/PD-L1抗体+細胞障害性抗がん薬併用と遺伝子発現免疫プロファイル

研究課題名(英文) Immune related gene-expression profiling for the combination of chemotherapy and PD-1/PD-L1 inhibition.

研究代表者

林 秀敏 (HAYASHI, Hidetoshi)

近畿大学・医学部・特命准教授

研究者番号：10548621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：研究実施計画書を近畿大学・複数施設にて倫理委員会による審査の承認後、各施設から症例登録・臨床情報収集を行い、自施設含む4施設から計125例の症例登録が得られた。登録症例のうち解析可能な90症例について、生検または手術で得た腫瘍組織検体(FFPE)を収集、当施設にてRNA/DNAを抽出し、nCounter, PanCancer, I0360Panelにて腫瘍免疫関連遺伝子発現の評価を行った。現在も一部解析中で、最終解析対象症例は60例となる見込みである。免疫チェックポイント阻害薬と化学療法の併用療法の奏効がPD-L1の発現および一部の免疫関連遺伝子発現と相関している可能性があることを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗PD-1抗体単剤に関し、遺伝子発現プロファイルによる有効性との関連の検討は近年複数報告されている。また抗PD-1抗体と抗CTLA-4抗体の併用療法に関してTMBの高値がその有効性と関連する事が既知である。現時点では、抗PD-1/PD-L1抗体と細胞障害性抗がん薬の併用療法は免疫染色による腫瘍細胞のPD-L1発現率との関連は結果が報告されており、TMBでも併用療法の有効性を検証する臨床試験のエンドポイントとして設定されており、今後その結果の報告が予想される。だが遺伝子発現プロファイルとの関連に関しては現時点で報告は無く、PD-L1発現率やTMBを補完するものとしても本研究は重要と考えられる。

研究成果の概要(英文)：After approval of the research protocol by the institutional review board at multiple institutions, including Kinki University, registration of cases and collection of clinical information were conducted at each institution, and a total of 125 cases were registered from four institutions.

Tumor tissue samples (FFPE) obtained by biopsy or surgery were collected from 90 of the registered cases, and RNA/DNA was extracted at our institution, and tumor immunity-related gene expression was evaluated using nCounter, PanCancer, and I0360 Panel. Part of the analysis is still in progress, and the final analysis is expected to include 60 patients. We found that response to combination therapy with immune checkpoint inhibitors and chemotherapy correlated with PD-L1 expression and some immune-related gene expression.

研究分野：臨床腫瘍学

キーワード：免疫チェックポイント阻害剤 臨床腫瘍 遺伝子発現 抗PD-1抗体 肺癌

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

NSCLC では、近年の抗 PD-1 抗体 (Nivolumab, Pembrolizumab など) や抗 PD-L1 抗体 (Atezolizumab, Durvalumab など) の開発によりその治療は劇的に変化を遂げている。免疫チェックポイント阻害剤の一つであり NSCLC で保険承認されている PD-1 抗体や PD-L1 抗体は腫瘍細胞が発現する PD-L1 と PD-1 の結合を阻害する事で、腫瘍細胞に対して免疫反応を引き起こされ、抗腫瘍効果を示すとされる。

抗 PD-1/PD-L1 抗体の治療効果として、長期の奏効が特徴的とされるがその割合は進行非小細胞肺癌全体の約 20% に過ぎず、その治療効果を高めることは大きな課題である。抗 PD-1/PD-L1 抗体の治療効果を増強させるために、最も広く検討されているのが PD-1/PD-L1 抗体と他治療との併用療法であり、細胞障害性抗がん薬と PD-1/PD-L1 抗体との併用療法 別の免疫チェックポイント阻害薬、とりわけ抗 CTLA-4 抗体と PD-1/PD-L1 抗体との併用療法、の 2 つに大別される。細胞障害性抗がん薬との併用療法の作用機序として、DAMPs (Damage associated molecular patterns) の放出による樹状細胞の活性化を引き起こす、いわゆる免疫応答誘導性細胞死 (immunogenic cell death: ICD) や、免疫抑制性の因子となる Treg (T regulatory cells) や M2 マクロファージ、MDSC (myeloid-derived suppressor cells) などの活性の抑制が挙げられる。既に細胞障害性抗がん薬と抗 PD-1/PD-L1 抗体の併用療法の有効性を検討した第 III 相試験の結果が複数報告され、NSCLC の一次治療において標準治療とされるプラチナ製剤を併用した細胞障害性抗がん薬に対して抗 PD-1/PD-L1 抗体の追加効果が証明されており、2019 年以降はこの抗 PD-1/PD-L1 抗体と細胞障害性抗がん薬の併用療法は NSCLC の標準治療として幅広く用いられることが予想される。

2. 研究の目的

マイクロアレイや次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を使用した遺伝子発現解析を利用して、新規がん遺伝子の機能解析 (H.Hayashi, K. Nishio, et.al, Oncogene. 2015 Jan 8;34(2):199-208) や、原発不明がんにおける遺伝子発現プロファイルからの原発巣推定アルゴリズムの作成およびその臨床応用 (H.Hayashi, K.Nakagawa, et.al, Journal of Clinical Oncology.) を行ってきた。そうした経験を元に、遺伝子発現や病理所見からの免疫プロファイルによるサブグループ分類を行い、抗 PD-1/PD-L1 抗体単剤に対して、細胞障害性抗がん薬の併用が意義のある集団を同定できるかを明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) 抗 PD-1/PD-L1 抗体およびその細胞障害性抗がん薬の併用療法を受けた NSCLC 臨床検体を使用した遺伝子発現、遺伝子異常の解析を行う
 - ・ NanoString Panel (GX PanCancer Immune Profiling Panel 等) を用いて腫瘍免疫に関連する 770 遺伝子の発現解析を行う。
 - ・ Whole exome sequencing により遺伝子異常を包括的に評価する。
- (2) 肺癌臨床検体を使用して、腫瘍微小環境における免疫関連因子の発現を免疫染色により病理学的に評価する・PD-L1 の腫瘍における発現および CD4、CD8、FOXP3 等の免疫関連因子を病理学的に免疫染色を用いて評価する。
- (3) これらの遺伝子解析、病理学的解析および臨床データを使用したクラスター解析を行い、非小細胞肺癌における免疫プロファイル毎のサブグループ分類を確立する。

4. 研究成果

免疫チェックポイント阻害薬 (抗 PD-1/PD-L1 抗体薬) と殺細胞性抗がん剤の併用療法を行った肺癌症例について、臨床検体を使用した免疫関連の遺伝子発現測定を行い、遺伝子発現情報からの分類を行う (免疫プロファイリング)。また、免疫プロファイリングによる免疫チェックポイント阻害薬と抗 PD-1/PD-L1 抗体薬 + 細胞障害性抗がん薬の併用療法の有効性についての関連を検討する。さらに肺癌等の治療として、免疫チェックポイント阻害薬と細胞障害性抗がん薬併用療法治療が有用 (もしくは無効) と考えられる集団を同定することを目的とする。

上記計画概要を記した研究実施計画書を近畿大学および複数施設にて倫理委員会による審査を行い、承認を得た。倫理委員会による承認を得た後、各施設から候補症例について症例登録および臨床情報収集を行い、最終的に自施設含む 4 施設から計 125 例の症例登録が得られた。

上記登録症例のうち解析可能な検体を有していた 90 症例について、生検または手術で得られた腫瘍組織検体 (FFPE) を収集し、当施設にて RNA/DNA を抽出した。

nCounter, PanCancer/10360Panel を用いて腫瘍免疫関連遺伝子発現の評価を行った。まず抗 PD-1/PD-L1 抗体薬 + 細胞障害性抗がん薬が無効な患者における初期増悪因子について検討した。当初の 36 例の解析では 11 例において 6 か月無増悪生存 (PFS) が達成出来ておらず、その 11 例において有意な更新もしくは抑制されている遺伝子について検討した。パスウェイ解析では予想されたように、Lymphoid compartment や Interferon signaling 関連遺伝子の発現が低下していたが一方で Cell proliferation や TGF- β signaling 関連遺伝子の発現が亢進していた。一方で無効例における発現亢進が予想された Angiogenesis に関しては発現の低下が認められた、Antigen presentation に関しては有意な差を認めなかった。個々の遺伝子について検討すると、6 か月 PFS を達成できなかった症例で有意に増多を示す遺伝子として SLC2A1 (log2fold change 1.74) や PD-L2 (同 1.72) が抽出された。一方で長期奏効の指標として 12 か月 PFS の達成の有無 (12 か月 PFS 達成は 16 例) で検討すると、奏効例では Lymphoid component や Costimulatory signaling 関連遺伝子の更新が認められ、PD-L2 などの遺伝子発現においては 6 か月 PFS 解析時の結果と異なりその差が減弱した (log2fold change 0.792)。6 か月 PFS と 12 か月 PFS を指標とした解析でこの様に発現の多寡が逆転する遺伝子がいくつか認められた。加えて、奏効例では IL-10 (log2fold change 3.20) や CXCL9 (log2fold change 2.58) などの免疫チェックポイント阻害薬単剤で既に発現上昇が報告されている遺伝子に加えて、UBE2T (log2fold change 3.65) や CEACAM (log2fold change 2.65) など過去に免疫チェックポイント阻害薬の有効性と関連の報告が無い遺伝子の発現亢進が認められており、これらの生物学的意義について現在検討中である。

総括として 6 か月 PFS では細胞障害性抗がん薬との関連を示唆する結果である一方、12 か月 PFS では抗 PD-1/PD-L1 抗体薬との関連が予想される遺伝子発現と関連が高く、PD-1/PD-L1 抗体と細胞障害性抗がん薬の併用は相乗ではなく相加効果を示すことが示唆された。今後、過去の抗 PD-1/PD-L1 抗体単剤の報告から、長期奏効が得られることが期待される遺伝子発現背景を有する集団において、遺伝子発現を含むどのような因子が初期増悪を示すか検討する。

現在さらに 30 例の症例を追加解析中であり、最終解析対象症例は 60~70 例となる見込みである。長期奏効および初期増悪の指標を見出し、免疫チェックポイント阻害薬で治療する非小細胞肺癌患者において化学療法を追加すべき集団を同定する。

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	富田 秀太 (TOMIDA Shuta) (10372111)	岡山大学・大学病院・准教授 (15301)	
研究分担者	坂井 和子 (SAKAI Kazuko) (20580559)	近畿大学・医学部・講師 (34419)	
研究分担者	伊藤 彰彦 (ITOU Akihiko) (80273647)	近畿大学・医学部・教授 (34419)	
研究分担者	高濱 隆幸 (TAKAHAMA Takayuki) (90716359)	近畿大学・大学病院・講師 (34419)	
研究分担者	原谷 浩司 (HARATANI Koji) (90760447)	近畿大学・大学病院・助教 (34419)	

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
---------	---------