

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：24405

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08572

研究課題名（和文）非小細胞肺癌術後再発における腫瘍微小環境と薬剤の有効性に関する検討

研究課題名（英文）The significance of tumor microenvironment on the efficacy of immune checkpoint inhibitors in postoperative recurrence of non-small cell lung cancer

研究代表者

渡辺 徹也（WATANABE, TETSUYA）

大阪公立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：40735122

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）：非小細胞肺癌における腫瘍免疫微小環境（TME）が免疫チェックポイント阻害薬の有効性に与える意義、ならびに術後再発において手術時と比較したTMEの変化について検討した。抗PD-1抗体の効果予測バイオマーカーとして、腫瘍のPD-L1発現にCD8陽性リンパ球浸潤の評価も加えたTME分類は有用であり、特にPD-L1高発現かつCD8陽性リンパ球高浸潤であるTMEは抗PD-1抗体の治療効果が優れていた。一方で、手術時のTMEと術後再発時のTMEは一致率が低く、術後再発時に免疫チェックポイント阻害薬を用いた治療を行うにあたり、バイオマーカーとして手術時検体を用いて評価を行うのは有用でない可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで非小細胞肺癌術後再発時の治療選択を行う際のバイオマーカー測定は手術時に採取された検体を用いてなされてきた。本研究の結果、免疫チェックポイント阻害薬の有効性には免疫微小環境の測定が有用であり、それは手術時と再発時で異なっている可能性が示唆された。術後再発時の薬物療法を過不足なく患者に提供する「個別化医療」の推進のためにも、今後の日常臨床においても再発病巣における免疫微小環境の評価を積極的に行う必要があることが考えられ、今後の検討課題である。

研究成果の概要（英文）：We investigated the significance of tumor microenvironment (TME) on the efficacy of immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer, and the differences of TME at surgery and TME at postoperative recurrence. The TME classification, which includes PD-L1 expression and CD8-tumor-infiltrating lymphocyte, is a useful biomarker for predicting the efficacy of anti-PD-1 antibodies, and in particular, TME with high PD-L1 expression and high CD8-tumor-infiltrating lymphocyte is associated with superior efficacy of anti-PD-1 antibody therapy. On the other hand, the concordance rate between TME at surgery and TME at postoperative recurrence was low, suggesting that it may not be useful to evaluate TME using archived specimen at surgery as a biomarker for treatment with immune checkpoint inhibitors at postoperative recurrence.

研究分野：呼吸器病学

キーワード：非小細胞肺癌 PD-L1 免疫チェックポイント阻害薬 腫瘍免疫微小環境

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

(1) 本邦において、肺癌の85%を非小細胞肺癌が占めるが、診断時点ですでに遠隔転移を伴う進行期に至ることもしばしばである。進行非小細胞肺癌の標準治療は薬物治療であり、従来は殺細胞性抗癌剤がその中心であったが、2000年代よりEpidermal Growth Factor Receptor (EGFR) 変異やALK融合遺伝子等のドライバー遺伝子変異の発見と、それら遺伝子異常を有する腫瘍に対する分子標的治療の開発が進み、非小細胞肺癌の治療が劇的に進歩した。一方、細胞障害性T細胞(CTL)上に発現するCTLA-4やPD-1などの分子は、CTLがT細胞受容体を介して抗原を認識し、活性化する過程においてその過剰な活性化を制御する機能があり、免疫チェックポイント分子と呼ばれ、これらを標的とする免疫チェックポイント阻害薬(immun checkpoint inhibitor: ICI)が開発された。進行非小細胞肺癌にも治療開発が進められ、抗PD-1抗体であるPembrolizumab、抗PD-L1抗体であるAtezolizumabなどがドライバー遺伝子陰性例には1次治療から単剤または殺細胞性抗癌剤などとの併用で診療において使用できるようになった。

(2) 非小細胞肺癌において、当初は手術療法を受けた患者でも残念ながら後に再発してしまう症例がしばしば経験される。術後再発症例に対しては、可能であれば局所治療が行われることもあるが、その適応でなければ進行期症例と同様に扱われて臨床試験や実地臨床が行われる。例えば、ペムプロリズマブ単剤治療についても臨床試験での結果をふまえて「PD-L1陽性の切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」に対して適応を得ている。しかしながら、適応取得の根拠となったKEYNOTE-024試験やKEYNOTE-042試験において、術後再発症例はエントリーされていない。したがって、厳密には術後再発症例に対する1次治療としての抗PD-1抗体の有効性については不明確なまま実地臨床が行われている。

(3) ICIを用いた治療には様々なレジメンがあり、その治療選択を行うためのバイオマーカーとして実地臨床では腫瘍細胞上のPD-L1発現を測定し、参考としている。実際、腫瘍上のPD-L1発現によって抗PD-1/PD-L1抗体の治療効果・予後はある程度相関するものの、精度は不十分である。抗PD-1/PD-L1抗体の効果を予測・理解する腫瘍微小環境(tumor microenvironment: TME)モデルとして、腫瘍細胞上のPD-L1発現および腫瘍に浸潤するCD8陽性Tリンパ球(CD8+ tumor-infiltrating lymphocyte: TIL)の有無を組み合わせた4つのタイプにTMEを分類する方法が提唱されている。すなわち、Type 1: PD-L1+/CD8-TIL+、Type 2: PD-L1-/CD8-TIL-、Type 3: PD-L1+/CD8-TIL-、Type 4: PD-L1-/CD8-TIL+、の4つのTMEサブタイプに分類され、これらのうちType 1が抗PD-1/PD-L1抗体の効果が発揮されるのに最も理想的なTMEであるとされている。しかし、TMEは動的に変化する可能性が示唆されている。先述の術後再発症例に対して、再発病巣から腫瘍組織を採取することは特別な理由が無ければ行われることはなく、したがって術後再発時にICIを含む治療を検討する際に参考とするバイオマーカーを測定する対象は手術時の摘出検体となることがほとんどであると考えられるが、再発病巣のTMEは手術時のそれとは一致しているのか変化しているのか不明である。

(4) 申請者の所属するグループは、肺癌を中心とした悪性腫瘍における診療を数多く行っており、近年叫ばれている「個別化医療」の進歩に寄与するべく研究を行っており、中でもTMEが薬物治療の効果に与える影響および薬物治療がTMEの変化に与える影響に関する研究に取り組んできた。これまでの研究に倣い、根治的手術治療を受け、その後に再発した非小細胞肺癌症例において手術検体と再発時検体のTMEを測定・比較し、術後再発時にTMEがどのように変化しているかを明らかにする。さらに、実際に1次治療として抗PD-1抗体単剤治療を受けた進行期症例と術後再発症例とで、抗PD-1抗体の治療効果を比較し、術後再発症例に対する抗PD-1抗体の有効性について手術時と再発時のTMEの変化(一致)の観点から考察する。これまでエビデンスの乏しかった術後再発例における最適化医療の検討およびICIの最適使用に貢献できる可能性がある。以上より、非小細胞肺癌術後再発における腫瘍免疫微小環境の変化と免疫チェックポイント阻害薬の有効性に関する研究を提案するに至った。

2. 研究の目的

本研究は、腫瘍の免疫微小環境に作用するICIの効果予測バイオマーカー測定に用いる腫瘍組織検体として、手術時と術後再発時の検体におけるTMEに相似性があるのか否かを明らかにし、術後再発症例における最適な薬物治療の選択について再考するものである。

3. 研究の方法

(1) 1次化学療法として抗PD-1抗体単剤治療を受けた非小細胞肺癌患者を進行期・術後再発例の別に治療成績(奏効率、無増悪生存期間など)についてデータを収集する。すべての症例において、抗PD-1抗体のバイオマーカーであるPD-L1発現の測定に用いた腫瘍組織検体の余剰分を用いてTMEの測定を行う。TMEとしては腫瘍細胞上のPD-L1発現、および腫瘍周囲ないし腫瘍内に浸潤しているCD8陽性リンパ球を対象として免疫染色を用いて評価する。

進行期症例を対象として抗 PD-1 抗体の奏効を予測する TME のカットオフならびに TME 分類を決定する。さらに、分類した TME サブタイプに基づき、抗 PD-1 抗体の無増悪生存期間を評価する。続いて、術後再発症例において、同様に手術時の検体を用いて測定した TME サブタイプに基づき、再発時の抗 PD-1 抗体の無増悪生存期間を評価する。

(2)(1)とは別に、根治的手術を受け、その後に術後再発と診断された非小細胞肺癌症例のうち、再発時病変の腫瘍組織検体が得られた症例の手術時と再発時ペア検体について、同様に TME を測定・比較し、術後再発時に TME サブタイプがどのように変化(一致)しているか解析する。

4. 研究成果

(1) 大阪市立大学医学部附属病院で、2017年1月～2020年12月までに1次化学療法として抗 PD-1 抗体単剤を投与された進行期非小細胞肺癌症例または術後再発症例はそれぞれ45例と15例であり、残存腫瘍組織検体が得られたのはそれぞれ40例と13例であった。これらの症例を対象とし、腫瘍検体より免疫染色にて TME (PD-L1、CD8) の測定を行った。このうち進行期症例を対象とし、抗 PD-1 抗体の奏効を予測するカットオフ値を求めた。PD-L1 発現については既に実地臨床で採用されている PD-L1 Tumor Proportion Score (TPS) が50%以上のものを高発現と定義した。CD8-TIL については ROC 曲線解析を行い、CD8-TIL の密度が 250/mm² 以上を CD8-TIL high と定義した場合、PD-L1 高発現かつ CD8-TIL high である type1 TME では抗 PD-1 抗体の無増悪生存期間がハザード比 0.32 で、non-type1 TME 群に比較して有意に良好であった(図 1A)。Non-type1 TME 群の1年、2年、3年無増悪生存率はそれぞれ 25.3%、15.2%、0%であったのに対し、type1 TME 群ではそれぞれ 72.2%、57.7%、50.5%と長期奏効が認められていた。

一方、術後再発症例における解析では、type1 TME 群と non-type1 TME 群とで無増悪生存期間に有意な差が認められなかった(ハザード比 1.05、図 1B)。Non-type1 TME 群の1年、2年無増悪生存率はそれぞれ 20.0%、20.0%で少ないながらも長期奏効例を認めたのに対し、type1 TME 群ではそれぞれ 33.3%、0%であり、長期奏効例を認めなかった。

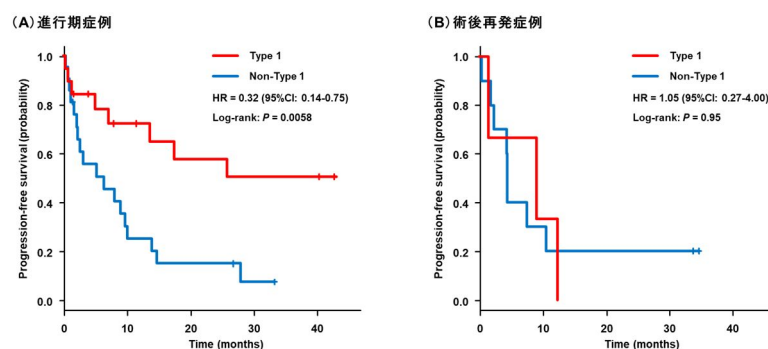


図1

(2) 根治的手術治療を受け、その後に術後再発と診断された非小細胞肺癌症例のうち、再発時病変の腫瘍組織検体が得られ、手術時と再発時のペア検体について、TME を測定できたのは50例であった。手術時検体における PD-L1 発現について、50%以上、50%未満はそれぞれ12例、38例であった。このカテゴリーに基づく場合、再発時に同一 PD-L1 発現割合であったものは44例であり、一致率は88%であった(図 2A)。一方、CD8-TIL 密度は手術時検体と再発時検体とで有意に変化がみられた(図 2B)。PD-L1 発現と CD8-TIL を組み合わせた TME を評価したところ、手術時検体では type1 が9例、type2 が24例、type3 が3例、type4 が14例であった。再発時検体に同一 TME であったものは31例であり、一致率は62%であった。特に、手術時検体が type1 であった症例で再発時検体も type1 であったのは9例中4例(44%)であり、手術時検体が non-type1 であった症例で再発時検体が type1 であったのは41例中2例(4.9%)で認めた(図 2C)。

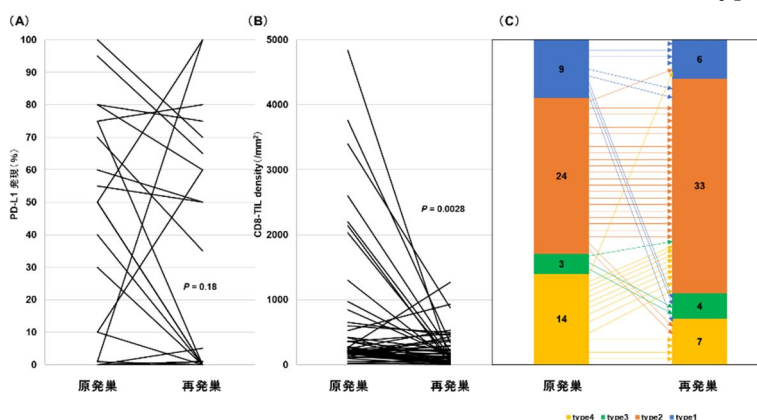


図2

これらの結果より、抗 PD-1 抗体単剤の効果予測バイオマーカーとして腫瘍細胞上の PD-L1 発現だけでなく CD8-TIL の評価も加えた TME は有用であり、特に PD-L1 高発現かつ CD8-TIL high である type1 TME は治療効果が優れていることが確認できたが、手術時の TME と術後再発時の TME では一致率は低く、術後再発時に ICI を用いた治療選択を行うにあたりバイオマーカーとして手術時検体を用いて評価を行うのは有用でない可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Nakai T, Watanabe T, Kaimi Y, Ogawa K, Matsumoto Y, Sawa K, Okamoto A, Sato K, Asai K, Matsumoto Y, Ohsawa M, Kawaguchi T.	4. 巻 22
2. 論文標題 Safety profile and risk factors for bleeding in transbronchial cryobiopsy using a two-scope technique for peripheral pulmonary lesions	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 BMC Pulm Med.	6. 最初と最後の頁 20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12890-021-01817-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Izumi M, Sawa K, Oyanagi J, Noura I, Fukui M, Ogawa K, Matsumoto Y, Tani Y, Suzumura T, Watanabe T, Kaneda H, Mitsuoka S, Asai K, Nishiyama N, Ohsawa M, Yamamoto N, Koh Y, Kawaguchi T.	4. 巻 14
2. 論文標題 Tumor microenvironment disparity in multiple primary lung cancers: Impact of non-intrinsic factors, histological subtypes, and genetic aberrations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Transl Oncol.	6. 最初と最後の頁 101102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tranon.2021.101102. Epub 2021 Apr 27.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Izumi M, Oyanagi J, Sawa K, Fukui M, Ogawa K, Matsumoto Y, Tani Y, Suzumura T, Watanabe T, Kaneda H, Mitsuoka S, Asai K, Ohsawa M, Yamamoto N, Koh Y, Kawaguchi T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Mutational landscape of multiple primary lung cancers and its correlation with non-intrinsic risk factors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 5680
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-021-83609-y.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

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

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