

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：32409

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2023

課題番号：19K09294

研究課題名(和文) 肺癌における免疫チェックポイント阻害剤耐性メカニズムの解明

研究課題名(英文) Elucidation of immune checkpoint inhibitor resistance mechanism in lung cancer

研究代表者

市来 嘉伸 (Ichiki, Yoshinobu)

埼玉医科大学・医学部・講師

研究者番号：80419837

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)：末梢血単核細胞(PBMC)および肺癌組織における免疫関連分子発現と免疫チェックポイント阻害剤(ICI)単剤療法の効果との関連を前向きに解析した。ICI単剤療法進行非小細胞肺癌の21人の患者を対象とした。腺癌/扁平上皮癌：11/10人、抗PD-1抗体/PD-L1抗体：18/3人。臨床効果はCR/PR/SD/PD:1/7/10/3人。無増悪生存期間(PFS)における多変量解析にて、投与後のPBMC中のCD103+ CD39+CD8+細胞の変化が独立した予後因子となった。投与後のCD103+CD39 + CD8 +細胞の増加は、ICIの有効性を予測するバイオマーカーとなり得る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

免疫チェックポイント阻害剤(ICI)単剤投与肺癌症例の肺癌組織や末梢血リンパ球を解析し、ICIの効果、耐性予測因子の検討を行なった。ICI投与前にCD103+リンパ球が腫瘍内に浸潤しているような症例は、ICIに反応し、末梢血中にCD103+ CD39+CD8+細胞が増え、臨床効果も高くなると考えられた。さらなる解析が必要であるが、CD103+ CD39+CD8+細胞をバイオマーカーとして用いることで、ICI治療の正しい患者選択やより効果的な治療法の確立が実現出来る可能性がある。より効果的で安全な免疫療法を実現するのみならず、高額な免疫療法を真の個別化治療に導くことで医療費削減も期待できる。

研究成果の概要(英文)：We prospectively analyzed the relationship between immune-related molecule expression in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) and lung cancer tissues and the efficacy of Immune checkpoint inhibitor (ICI). Twenty-one patients with advanced non-small cell lung cancer who received ICI monotherapy were included. Changes in the expression of immune-related molecules in PBMCs before and after ICI administration were analyzed by flow cytometry. Immune-related molecule expression in cancer cells and tumor-infiltrating immune cells in lung cancer tissues was confirmed by immunostaining. The outcomes were CR/PR/SD/PD:1/7/10/3. In multivariate analysis of progression-free survival (PFS), the changes of CD103+ CD39+ CD8+ cells in PBMC after treatment was an independent prognostic factor. The changes in CD103+ CD39 + CD8 + cells after treatment may be a biomarker predicting the efficacy of ICIs.

研究分野：呼吸器外科

キーワード：肺癌 癌免疫 免疫チェックポイント阻害剤 手術 CTL 細胞性免疫 免疫療法 T細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、癌免疫療法の臨床開発、抗 CTLA-4 抗体や抗 PD-1 抗体といった免疫チェックポイント阻害剤が開発、承認された。これらの薬剤は殺細胞性抗癌剤や分子標的薬に抵抗性を示す進行肺癌においても治療効果を発揮し、全生存期間の延長をもたらす優れた治療法である。しかしながら、免疫チェックポイント阻害剤の克服すべき課題も多く存在する。第1に、免疫チェックポイント阻害剤の奏効率は、単剤では約 20%-40%程度であり、過半数の症例では有効性は認められていない。第2に、約 10%の症例で Grade3 以上の有害事象が認められている。第3に、薬価が高く、医療財政におよぼす影響が大きい。我々も、今までに肺癌症例 50 例以上に免疫チェックポイント阻害剤を投与してきたが、効果が見られた後に耐性を獲得する症例を多く経験してきた。そこで、我々は免疫チェックポイント阻害剤を投与した肺癌症例の肺癌組織および末梢血リンパ球を採取し、細胞性免疫応答に関連の深い MHC class I 分子および共刺激分子・免疫制御分子発現の変化が、免疫チェックポイント阻害剤の効果や耐性メカニズムにどのように関与しているか解析することとした。

2. 研究の目的

実地臨床で肺癌に対して免疫チェックポイント阻害剤(を投与した症例において、免疫チェックポイント阻害剤投与前後で、肺癌組織を採取し、MHC class I 分子の発現に変化が認められるか、さらに免疫チェックポイント阻害剤の効果、耐性獲得との関連が認められるか解析する。免疫チェックポイント阻害剤治療前後の肺癌の生検組織や手術検体について、免疫制御性分子である PD-L1, PD-L2, Galectin 9 と促進性の分子である ICOS-L, LIGHT, OX40, 41BBL, CD40 の発現を、免疫染色を用いて解析し、発現の程度と経時的な変化を確認する。得られたプロファイルと治療効果および耐性獲得との関連を調べる。免疫チェックポイント阻害剤の耐性メカニズム解明につながり、正しい患者選択やより効果的な治療法の確立が実現出来る可能性があると考えた。

3. 研究の方法

2019~2020 年に免疫チェックポイント阻害剤を投与する肺癌症例の末梢血リンパ球や血清より、免疫制御分子である PD-1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, TIGIT、免疫促進分子である CD28, ICOS, HVEN, OX40, 41BB, CD40L1 などの分子発現を、flow cytometry を用いて調べた。また、2 年間症例で約 21 例の集積を行った(前向き研究)。

免疫チェックポイント阻害剤治療前後の肺癌の生検組織や手術検体について、HLA class I 及び class II 分子と免疫制御性分子である PD-L1, PD-L2, Galectin 9 と促進性の分子とある ICOS-L, LIGHT, OX40, 41BBL, CD40 などの発現を、免疫染色を用いて解析し、発現の程度と経時的な変化を確認した。さらに、いずれにも抑制性及び促進性いずれにも関与しうる CD80, CD86 の発現、経時的変化も免疫染色を用いて解析した。

患者カルテより効果と耐性獲得を調べ、各分子発現が免疫チェックポイント阻害剤治療とどのような関連があるか解析した。

本研究に同意をされた患者から免疫チェックポイント阻害剤投与前と投与後 1, 2 ヶ月に本研究用として約 20ml の血液を診療用に採血する際に追加して採取した。採取した血液より、末梢血リンパ球を分離した。その後、免疫制御分子である PD-1, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA, TIGIT、免疫促進分子である CD28, ICOS, HVEN, OX40, 41BB, CD40L1 などの分子発現を flow cytometry を用いて調べた。また、肺癌切除検体や生検検体の一部を採取し、免疫染色を行った。HLA class I 及び class II 分子と免疫制御性分子である PD-L1, PD-L2, Galectin 9 と促進性の分子とある ICOS-L, LIGHT, OX40, 41BBL, CD40 などの発現を、免疫染色を用いて解析し、発現の程度と経時的な変化を確認した。診療記録をもとに、免疫チェックポイント阻害剤の効果、耐性の情報を収集する。免疫促進分子及び抑制分子発現と効果及び耐性との関連を、統計学的に解析し、効果予測因子を明らかにした。

また、確認事項として、腫瘍内にリンパ球浸潤を認めるかを確認する。診断に用いられた腫瘍の生検組織、細胞もしくは切除組織の一部を用いて、免疫染色にて CD3, CD4, CD8, CD20, CD103 分子などの発現を確認した。

予後を解析するために、生存率は Kaplan-Meier 法を用いて計算した。Cox 回帰分析、比例ハザード分析、多変量解析などを行い、算出した。

4. 研究成果

末梢血単核細胞(PBMC)と肺癌組織における免疫関連分子発現と ICI 単剤療法の効果との関連を前向きに解析した。

ICI 単剤療法を受けた進行非小細胞肺癌の 21 人の患者を対象とした。ICI の投与前後の PBMC における免疫関連分子の発現の変化をフローサイトメトリーにて解析した。ICI 投与前の癌細胞の

MHC クラス I および PD-L1 発現、および肺癌組織における腫瘍浸潤免疫細胞の PD-L1、CD8、CD103 発現を、免疫染色にて確認した。11 人の腺癌と 10 人の扁平上皮癌の症例を含む 21 人の患者を対象とした。抗 PD-1 抗体 (n = 18) および抗 PD-L1 抗体 (n = 3) を投与した。臨床効果は、CR:1 例、PR:7 例、SD:10 例、PD:3 例であった。PBMC で発現する免疫関連分子の中で、投与後の CD103+ CD39+ CD8+T 細胞の変化は臨床効果と密接に相関していた。無増悪生存期間 (PFS) における単変量解析では、投与後の CD103+ CD39+ CD8+細胞の変化が有意な予後因子として同定され、投与後の CD103+ CD39+CD8+細胞の変化とプリンクマン指数は PFS における多変量解析にて独立した予後因子となった。投与後の CD103+CD39 + CD8 +細胞の変化は、ICI の有効性を予測するバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 2件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Ichiki Y, Taguchi R, Yanagihara A, Umesaki T, Nitanda H, Sakaguchi H, Ishida H.	4. 巻 15
2. 論文標題 Prognostic significance of lymph node dissection for lung cancer surgery: a narrative review.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 J Thorac Dis.	6. 最初と最後の頁 2253-2260
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/jtd-22-1527	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 該当する
1. 著者名 Ichiki Y, Fukuyama T, Ueno M, Kanasaki Y, Goto H, Takahash M, Mikami S, Kobayashi N, Nakanishi K, Hayashi S, Ishida T.	4. 巻 11
2. 論文標題 Immune profile analysis of peripheral blood and tumors of lung cancer patients treated with immune checkpoint inhibitors.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Transl Lung Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 2192-2207
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21037/tlcr-22-421.	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 該当する
1. 著者名 Ichiki Y, Fukuyama T, Nakanishi K	4. 巻 6
2. 論文標題 Is epithelioid hemangioendothelioma a cold tumor for immune check point inhibitors? : A case report.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Clinic in Surgery.	6. 最初と最後の頁 3264
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Ichiki Y, Ueno M, Yanagi S, Kanasaki Y, Goto H, Fukuyama T, Mikami S, MD Nakanishi K, Ishida T.	4. 巻 10
2. 論文標題 An analysis of the immunological tumor microenvironment of primary tumors and regional lymph nodes in squamous cell lung cancer.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Transl Lung Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 3520-3537
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Ichiki Y, Fukuyama T, Omiya H, Ueno M, Yanagi S, Kanasaki Y, Goto H, Mikami S, Yamazaki S, Nakanishi K, Ishida T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Relationship between Kita-Kyushu Lung Cancer antigen-1 (KK-LC-1) expression and prognosis of cases with lung squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Transl Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 5212-5221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 Ichiki, Y, Goto H, Fukuyama T, Nakanishi K.	4. 巻 8
2. 論文標題 Should lung-sparing surgery be the standard procedure for malignant pleural mesothelioma?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 J Clin Med	6. 最初と最後の頁 2153
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm 9072153, 2020.	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 Ichiki Y, Shigematsu Y, Baba T, Shiota H, Fukuyama T, Nagata Y, So T, Yasuda M, Takenoyama M, Yasumoto K	4. 巻 111
2. 論文標題 Development of adoptive immunotherapy with KK-LC-1 specific TCR transduced T cells against lung cancer cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 4021-4030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14612.	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 Ichiki Y, Fukuyama T, Nakanishi K	4. 巻 9
2. 論文標題 The prospect of combination therapy with immune checkpoint inhibitors and chemotherapy for squamous cell carcinoma of the lung.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Trans Lung Cancer Res	6. 最初と最後の頁 811-815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/tlcr.2020.01.14.	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 Yoshinobu Ichiki	4. 巻 11
2. 論文標題 Development of adoptive immunotherapy with KK-LC-1 specific TCR transduced T cells against lung cancer cells.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14612.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshinobu Ichiki	4. 巻 9
2. 論文標題 Should lung-sparing surgery be the standard procedure for malignant pleural mesothelioma?	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm9072153.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshinobu Ichiki	4. 巻 9
2. 論文標題 The prospect of combination therapy with immune checkpoint inhibitors and chemotherapy for squamous cell carcinoma of the lung.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Translational Lung Cancer Research	6. 最初と最後の頁 811-815
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yoshinobu Ichiki	4. 巻 11
2. 論文標題 Recent topics of lung neuroendocrine tumors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Thorac Dis.	6. 最初と最後の頁 E133-E134.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/jtd.2019.08.40.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 市来嘉伸、金咲芳郎、後藤英典、中西浩三、上野万里、三上修治、石田 剛
2. 発表標題 肺扁平上皮癌切除症例におけるCD103陽性リンパ球浸潤の検討
3. 学会等名 第62回日本呼吸器学会学術講演会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市来嘉伸、上野万里、金咲芳郎、後藤英典、中西浩三、高橋麻衣、林 伸一、三上修治、石田 剛
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤投与症例における臨床病理学的検討
3. 学会等名 第39回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 市来嘉伸、後藤英典、中西浩三、上野万里、石田 剛
2. 発表標題 肺扁平上皮癌における原発巣と所属リンパ節の免疫学的腫瘍微小環境に関する解析
3. 学会等名 第38回日本呼吸器外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 市来嘉伸、上野万里、金咲芳郎、後藤英典、中西浩三、高橋麻衣、林 伸一、三上修治、石田 剛
2. 発表標題 免疫チェックポイント阻害剤の効果予測因子についての検討
3. 学会等名 第62回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 市来嘉伸、後藤英典、中西浩三、上野万里、石田 剛
2. 発表標題 扁平上皮癌切除症例における腫瘍内浸潤リンパ球に着目した臨床病理学的検討
3. 学会等名 第61回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

research_map 市来嘉伸 https://researchmap.jp/y-ichiki
--

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	田中 文啓 (Tanaka Fumihiro) (10283673)	産業医科大学・医学部・教授 (37116)	
研究分担者	米田 和恵 (Yoneda Kazue) (80724806)	産業医科大学・医学部・講師 (37116)	

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