

令和元年6月24日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09596

研究課題名(和文) ドライバー遺伝子変異依存肺癌における免疫逃避機構の解明と治療戦略

研究課題名(英文) Clinical significance of immune escape mechanisms in non-small cell lung cancer patients

研究代表者

東 公一 (Koichi, Azuma)

久留米大学・医学部・講師

研究者番号：00368896

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：PD-1/PD-L1などの免疫チェックポイント分子・経路を標的とした免疫チェックポイント阻害薬による治療が各種がん患者に対して臨床応用されている。研究代表者らは、進行/再発非小細胞肺癌患者に対して抗PD-1抗体療法を実施した症例の末梢血を用いて88種の可溶性因子をマルチプレックスアッセイにて測定し、抗PD-1抗体療法の治療効果との関連を探索した。ケモカインの一種であるCXCL2の治療前と6週間後の変化値が奏効率と無増悪生存期間と関係していた抗PD-1抗体療法中の末梢血中CXCL2の動態を測定することにより抗PD-1抗体の治療効果をモニタリングできる可能性を見いだした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

PD-1/PD-L1などの分子・経路を標的とした免疫チェックポイント阻害薬は各種がん患者に対して臨床応用されている。進行/再発非小細胞肺癌患者に対して抗PD-1抗体療法を実施した症例の末梢血を用いて88種の可溶性因子をマルチプレックスアッセイにて測定し、抗PD-1抗体療法の治療効果との関連を探索した。ケモカインの一種であるCXCL2の治療前と6週間後の変化値が奏効率と無増悪生存期間と関係していた抗PD-1抗体療法中の末梢血中CXCL2の動態を測定することにより抗PD-1抗体の治療効果をモニタリングできる可能性を見だし、炎症性サイトカインが免疫逃避機構に関与する可能性も示した。

研究成果の概要(英文)：Although programmed death (PD)-1 immune checkpoint therapies target the immune system, relationship between inflammatory factors and clinical outcome of anti-PD-1 therapy in non-small cell lung cancer (NSCLC) patients is not fully elucidated. Here we attempted to examine association between soluble immune mediators and treatment outcome of PD-1 inhibitors in patients with advanced/recurrent NSCLC receiving anti-PD-1 therapy. The change in the plasma CXCL2 level was also significantly associated with treatment-related AEs. In the validation cohort, however, only the changes in the plasma levels of CXCL2 and MMP2 after treatment were associated with PFS, and these changes were maintained during the course of anti-PD-1 therapy in the patients with better clinical outcomes. Since CXCL2 and MMP2 can be easily measured by minimally invasive blood sampling, they could be useful to predict and monitor clinical outcomes in NSCLC patients with PD-1 inhibitor therapy.

研究分野：肺悪性腫瘍

キーワード：肺癌 CXCL2 PD-1阻害剤 PD-L1 免疫療法 バイオマーカー

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

非小細胞肺癌における上皮成長因子 (EGFR) 遺伝子変異や EML4-ALK 融合遺伝子は Driver oncogene として知られているが、これらに対する分子標的薬は患者予後を改善できるようになってきた。しかし、分子標的薬が一旦奏功した場合でも T790M などのゲートキーパー変異あるいは MET や HER2 の増幅などが原因とされる新たな薬剤耐性を獲得することが知られている (Oxnard, et al. J Clin Oncol 2013)。PD-1/ PD-L1 経路は、がん細胞が細胞傷害性 T 細胞などの攻撃から免れるひとつの免疫逃避機構であるとされ、その機序として制御性 T 細胞の誘導、炎症抑制系サイトカインの産生や免疫抑制性共シグナルの発現が知られている。PD-1/ PD-L1 の発現増強は、悪性黒色腫あるいは非小細胞肺癌などにおける予後不良因子として報告され、PD-1/ PD-L1 経路は治療抵抗性を示す免疫逃避機構のひとつであると推察される (Brahmer, et al. N Engl J Med 2015 & Pardoll, et al. Nat Review 2012)。

### 2. 研究の目的

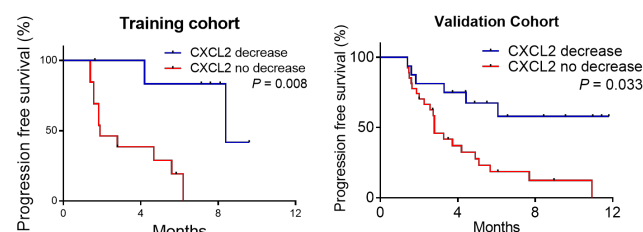
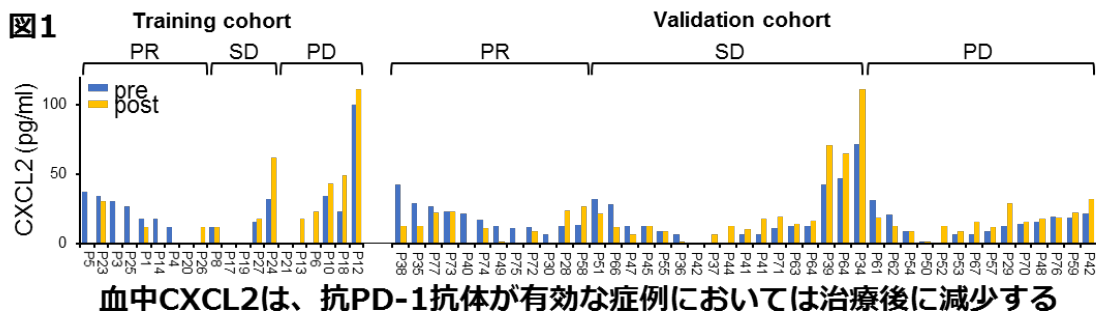
Programmed death-1 (PD-1) / Programmed death ligand-1 (PD-L1) 経路の発現増強は非小細胞肺癌患者の抗腫瘍治療抵抗性を示すとされる。基礎的検討において Driver oncogene (EGFR 遺伝子変異や EML4-ALK 融合遺伝子) と PD-L1 との発現が相関し、治療耐性がん細胞株における PD-L1 の発現増強を確認した。つまり、Driver oncogene 依存性肺癌患者に分子標的治療を使用することで、PD-1/PD-L1 発現の増強あるいは再構築に依存する新たな免疫逃避機構を獲得する可能性が示唆された。本研究では、肺癌患者における分子標的治療前後の免疫動態を明らかにし、免疫逃避機構を明らかにするとともに新たな治療戦略の構築を目的とする。

### 3. 研究の方法

分子標的治療を使用する Driver oncogene 依存性非小細胞肺癌患者 15 名を対象とした前向き観察臨床試験を計画し、4 回 (治療前、4 週間後、24 週後、耐性後) の採血を行った。末梢血 T リンパ球では、それぞれサブセットにおける PD-1、FOXP3 および CTLA-4 を 4-color intracellular flowcytometry で解析したが、有意に変動のあるものはなかった。その結果から、マルチプレックス法にてサイトカインを測定することとなった。PD-1 阻害剤で加療を行った非小細胞肺癌患者 77 名に対して、治療前、治療後の血清を用いて 80 種類の血中サイトカイン (TGF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-6、IL-8 および IL-10 など) をバイオプレックスによるマルチプレックス法で網羅的解析を行う。

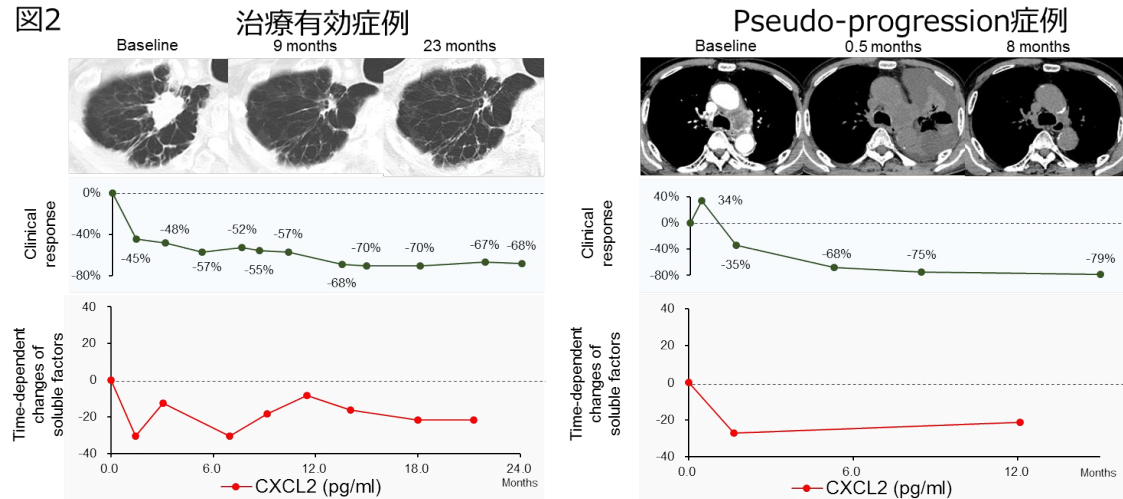
### 4. 研究成果

分子標的治療を使用する Driver oncogene 依存性非小細胞肺癌患者 15 名を対象とした前向き観察臨床試験を計画し、4 回 (治療前、4 週間後、24 週後、耐性後) の採血を行った。末梢血 T リンパ球では、それぞれサブセットにおける PD-1、FOXP3 および CTLA-4 を 4-color intracellular flowcytometry で解析したが、有意に変動のあるものはなかった。その結果から、マルチプレックス法にてサイトカインを測定することとなった。PD-1 阻害剤で加療を行った非小細胞肺癌患者 77 名に対して、治療前、治療後の血清を用いて 80 種類の血中サイトカイン (TGF- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-6、IL-8 および IL-10 など) をバイオプレックスによるマルチプレックス法で網羅的解析を行った結果、CXCL2、MMP2 などの炎症サイトカインが治療とともに変動することを見いだしたことから (論文報告) Driver oncogene 依存性非小細胞肺癌患者においても炎症性サイトカインが変動するものと考えた。



血中CXCL2が治療後に減少した症例は、無増悪生存期間が延長する。

図2



2018年6月までに予定症例数を50例まで追加して、治療前、治療後の血清及び、治療効果無効時の血清15例を集積して約80種類の免疫関連を含む炎症性サイトカインをバイオプレックスによるマルチプレックス法で網羅的解析をおこなった。測定を終え統計解析の結果、数種類のサイトカインが治療効果と関係があることが分かり、肺癌組織も含めて解析している。本研究は、分子標的治療前後の検体を用いており、分子標的阻害剤が、1年前後の奏功を示すために症例集積が遅れたが、2018年6月までには50症例の集積を終え、治療症例も集積することができ、現在論文作成中である。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

Association between soluble immune mediators and tumor responses in patients with non-small cell lung cancer treated with anti-PD-1 inhibitor. Matsuo Norikazu, **Azuma Koichi**, Hattori Satoshi, Ohtake Junya, Kawahara Akihiko, Ishii Hidenobu, Tokito Takaaki, Yamada Kazuhiko, Shibata Yuji, Shimokawaji Tadasuke, Kondo Tetsuro, Kato Terufumi, Saito Haruhiro, Yamada Kouzo, Sasada Tetsuro, Hoshino Tomoaki **International Journal of Cancer** 2018 144; 1170 ~ 1179

〔学会発表〕(計 2 件)

第77回日本癌学会学術総会 2018年 Inflammatory soluble factors as potential biomarkers in non-small cell lung Tetsuro Sasada, Norikazu Matsuo, Junya Ohtake, **Koichi Azuma**  
 第22回日本がん免疫学会総会 2018年 Potential biomarkers in non-small cell lung cancer patients treated with anti-PD-1 inhibitors 松尾 規和、大竹 淳矢、**東 公一**、笹田 哲朗

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称：がん免疫療法の予後予測のためのバイオマーカー

発明者：笹田哲朗、**東 公一**、松尾規和、星野友昭

権利者：笹田哲朗、**東 公一**、松尾規和、星野友昭

種類：特許

番号：2017-237807 (国内)、PCT/JP2018/45465 (国外)

出願年：平成30年

国内外の別：国内、国外

取得状況(計 0 件)

名称：

発明者：

権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
なし  
6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：  
ローマ字氏名：  
所属研究機関名：  
部局名：  
職名：  
研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：松尾 規和  
ローマ字氏名：Norikazu Matsuo

研究協力者氏名：笹田 哲朗、  
ローマ字氏名：Tetsuro Sasada

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。