

平成 30 年 6 月 22 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19464

研究課題名(和文) 血中腫瘍由来DNAを用いた免疫チェックポイント阻害剤の効果予測バイオマーカー研究

研究課題名(英文) Exploratory biomarker analysis to predict the efficacy of immune checkpoint inhibitors using cell-free DNA

研究代表者

赤松 弘朗 (Akamatsu, Hiroaki)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：10646582

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：免疫チェックポイント阻害剤を投与した患者76例について投与前後の末梢血を採取した。Cell free DNAを抽出して次世代シーケンシングによる体細胞変異の測定を行い、血中循環腫瘍細胞については22c3抗体を用いたPD-L1発現の免疫組織化学染色を行った。29例の解析では全例で腫瘍細胞が検出され、中央値は15個/5mL(範囲1-90個/5mL)であったが、腫瘍組織における発現との相関は認められなかった。治療開始前にPD-L1陽性細胞が50%以上を占める症例では、病勢制御率が有意に高かった($p<0.05$)。以上の結果については2017年度の米国臨床腫瘍学会で報告し、現在論文を作成している。

研究成果の概要(英文)：Blood samples were collected from 76 patients who receive immune-checkpoint inhibitors. We did comprehensive somatic mutation analysis using extracted cell-free DNA by next generation sequencing. Addition to that, circulating tumor cells (CTCs) were analyzed for PD-L1 expression by immunohistochemical staining (22c3 antibody). First analysis was done in the first 29 patients. CTCs were detected in all patients, and median number of CTCs were 15 / 5mL (range 1 to 90 / 5mL). Regarding PD-L1 expression, no correlation was observed between CTCs and tumor tissue. Significantly higher disease control rate was observed when >50% of CTCs were positive for PD-L1. These outcomes described above were reported in American Society of Clinical Oncology 2017, and we are preparing manuscript.

研究分野：腫瘍内科学

キーワード：肺癌 リキッドバイオプシー

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤は進行非小細胞肺癌における新規標準治療となったものの、効果予測に関するバイオマーカーは十分確立していない。癌組織検体における non-synonymous mutation の総量 (mutation burden) は有望視されている効果予測因子の一つである。近年、低侵襲診断の研究開発として末梢血中の腫瘍由来 cell-free DNA (cf DNA) や循環腫瘍細胞 (CTC) が注目されているが免疫チェックポイント阻害剤の効果予測に関する研究はほとんど無い。

2. 研究の目的

免疫チェックポイント阻害剤治療における末梢血 cf DNA を用いた mutation burden 測定や CTC を用いた PD-L1 発現の有用性を検討し、組織検体との相関解析及び臨床的意義の探索を実施することで、非侵襲的效果予測診断実現のための基盤を確立する事。

3. 研究の方法

(1) 末梢血 cf DNA・腫瘍組織を用いた測定系・体制の確立を行うため、当院で免疫チェックポイント阻害剤の投与を受ける予定の進行・再発非小細胞肺癌患者を対象とした前向き観察研究の研究計画を作成し、これに沿って検体採取・保管・DNA抽出・解析の準備を整えた。

(2) cf DNA については、患者から採取した血漿から DNA 抽出を行った後に、Agilent SureSelect システムによる全エクソン純化とその配列解析を行った。測定には次世代シーケンサー NextSeq500 (イルミナ社) を使用した。並行して同一患者の腫瘍組織について、上記と同様の手法を用いて全エクソーム解析を行い、末梢血・腫瘍組織間での mutation burden の異同について検討した。

(3) CTC については、患者から採取した血液 5mL 中の循環腫瘍細胞を篩状の検出系 (日立化成社) を用いて測定した。

(4) 上記 (2) (3) については当院データベースを用いて臨床情報 (年齢・性別・喫煙歴など) との統合を行い、治療効果との相関を検討した。

4. 研究成果

免疫チェックポイント阻害剤を投与した患者 76 例について投与前後の末梢血を採取した。Cell free DNA を抽出して次世代シーケンシングによる体細胞変異の測定を行い、治療前後での変化や効果との相関について検討予定である。血中循環腫瘍細胞については 22c3 抗体を用いた PD-L1 発現の免疫組織化学染色を行った。29 例の解析では全例で腫瘍細胞が検出され、中央値は 15 個/5mL (範囲 1-90 個/5mL) であったが、腫瘍組織における発現との相関は認められなかった。治療開始前に PD-L1 陽性細胞が 50%以上を占める

症例では、病勢制御率が有意に高かった ($p < 0.05$)。以上の結果については 2017 年度の米国臨床腫瘍学会で報告し、現在論文を作成している。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7 件)

1. Sato K, Akamatsu H, Yamamoto N (他 9 人、2 番目、査読あり): Correlation between immune-related adverse events and efficacy in non-small cell lung cancer treated with nivolumab. Lung Cancer 115: 71-74, 2018

2. Iwama E, Akamatsu H, Okamoto I (他 14 人、10 番目、査読あり): Monitoring of somatic mutations in circulating cell-free DNA by digital PCR and next-generation sequencing during afatinib treatment in patients with lung adenocarcinoma positive for EGFR activating mutations. Ann Oncol 28(1): 136-141, 2017

3. Iwata E, Akamatsu H, Okamoto I (他 20 人、13 番目、査読あり): Alectinib for patients with ALK rearrangement-positive non-small cell lung cancer and a poor performance status (Lung Oncology Group in Kyushu 1401). J Thorac Oncol 12(7): 1161-1166, 2017

4. Shibaki R, Akamatsu H, Yamamoto N (他 2 人、2 番目、査読あり): Nivolumab induced radiation recall pneumonitis after two years of radiotherapy. Ann Oncol 28(6): 1404-1405, 2017

5. Yagi S, Akamatsu H, Yamamoto N (他 11 人、3 番目、査読あり): Development of an automated size-based filtration system for isolation of circulating tumor cells in lung cancer patients. PLoS One 12(6): e0179744, 2017

6. Mok TS, Akamatsu H, Papadimitrakopoulou VA; AUR3 Investigators (他 14 人、8 番目、査読あり): Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. N Engl J Med 376(7): 629-640, 2017

7. Akamatsu H, Takahashi T, Yamamoto N (1 番目、査読あり): Prophylactic cranial irradiation in small-cell lung cancer - Authors' reply. Lancet Oncol 18(7): e369, 2017

[学会発表](計 13 件)

1. Akamatsu H, Yamamoto N (他 12 人、1 番目): PD-L1 expression on circulating tumor cells and its comparison with tumor tissues in Japanese lung cancer patients.

AACR 2017, 2017.4.1-5, Washington DC, USA
2. Kambayashi S, Akamatsu H, Yamamoto N (他 6人、5番目): Increased migration ability of osimertinib-resistant EGFR-T790M mutant non-small-cell lung cancer cells. AACR 2017, 2017.4.1-5, Washington DC, USA
3. Koh Y, Akamatsu H, Yamamoto N (他 3人、3番目): Non-invasive identification of tumor cells using near infrared composition imaging system. AACR 2017, 2017.4.1-5, Washington DC, USA
4. Shibaki R, Akamatsu H, Yamamoto N (他 11人、3番目): Predictive impact of PD-L1-expressing circulating tumor cells in NSCLC patients treated with nivolumab. ASCO 2017, 2017.6.2-6, Chicago, USA
5. Otsubo K, Akamatsu H, Yamamoto N (他 6人、2番目): Predictive impact of complete molecular response in plasma: A phase II, liquid biopsy study in EGFR mutated NSCLC patients treated with afatinib (WJOG 8114LTR). ASCO 2017, 2017.6.2-6, Chicago, USA
6. Okamoto I, Akamatsu H, Tamura T (他 8人、10番目): An Open-Label Study on Safety and Tolerability of Rovalpituzumab Tesirine in Japanese Patients with Advanced, Recurrent Small Cell Lung Cancer. ESMO 2017, 2017.9.8-12, Madrid, Spain
7. Kenmotsu H, Akamatsu H, Okamoto I (他 20人、10番目): Alectinib for patients with ALK rearrangement-positive non-small cell lung cancer and a poor performance status. IASLC 18th World Conference on Lung Cancer 2017, 2017.10.15-18, Yokohama, Japan
8. Hayashi H, Akamatsu H, Yamamoto N (他 7人、2番目): Updated results of phase II, liquid biopsy study in EGFR mutated NSCLC patients treated with Afatinib (WJOG 8114LTR). IASLC 18th World Conference on Lung Cancer 2017, 2017.10.15-18, Yokohama, Japan
9. Sato K, Akamatsu H, Yamamoto N (他 9人、2番目): Correlation between immune-related adverse events and efficacy in non-small cell lung cancer treated with nivolumab. IASLC 18th World Conference on Lung Cancer 2017, 2017.10.15-18, Yokohama, Japan
10. Shibaki R, Akamatsu H, Yamamoto N (他 9人、2番目): Is efficacy result in phase 2 trial replicated in phase 3 trial in advanced NSCLC: A meta-analysis. IASLC 18th World Conference on Lung Cancer 2017, 2017.10.15-18, Yokohama, Japan
11. Hayashi H, Akamatsu H, Yamamoto N (他 7人、2番目): Updated results of phase II, liquid biopsy study in EGFR mutated NSCLC patients treated with afatinib (WJOG 8114LTR). IASLC 18th World Conference on

Lung Cancer 2017, 2017.10.15-18, Yokohama, Japan
WCLC 2017.10.15-18, Yokohama, Japan
12. Akamatsu H, Koh Y, Yamamoto N (他 10人、1番目): Sequential tracking of PD-L1 expression on circulating tumor cells in NSCLC patients treated with nivolumab. AACR-NCI-EORTC 2017, 2017.10.26-30, Philadelphia, USA
13. Oyanagi J, Akamatsu H, Yamamoto N (他 7人、3番目): Serial evaluation of multiple serum protein levels in non-small-cell lung cancer patients treated with nivolumab. AACR-NCI-EORTC 2017, 2017.10.26-30, Philadelphia, USA

〔図書〕(計13件)

1. 赤松弘朗, 山本信之: KEYNOTE024 と CHECKMATE026 の明暗. 腫瘍内科 19(5): 572-575, 2017
2. 赤松弘朗, 山本信之: EGFR-TKI の現状と今後の展望. 日本内科学会雑誌 106: 1096-1100, 2017
3. 赤松弘朗, 山本信之: 扁平上皮癌の治療の進歩. 日本臨床 75(7): 1091-1094, 2017
4. 赤松弘朗, 山本信之: 日本臨床腫瘍学会によるがん免疫療法ガイドライン. がん分子標的治療 15(2): 12-14, 2017
5. 赤松弘朗: 免疫療法を含む併用療法 免疫療法と殺細胞性抗がん剤の併用. がん分子標的治療 15(2): 42-45, 2017
6. 赤松弘朗, 山本信之: EBM の手法による肺癌診療ガイドライン(悪性胸膜中皮腫・胸腺腫瘍含む) 2016年版の解説. 日本病院薬剤師会雑誌 53(9): 1097-1100, 2017
7. 赤松弘朗, 山本信之: がん免疫療法ガイドライン. 腫瘍内科 20(2): 149-152, 2017
8. 杉本武哉, 赤松弘朗: 肺がん. 月刊薬事 59(12): 2397-2401, 2017
9. 寺岡俊輔, 赤松弘朗, 山本信之: Clinical Trials 2 PD-L1 陽性非小細胞肺癌におけるペムプロリズマブ治療と化学療法との比較試験 (KEYNOTE-024 試験). がん免疫療法 1(2): 31-33, 2017
10. 赤松弘朗: 現在のLDの治療方針を教えてください. 肺癌診療 Q&A 第3版 258-259, 2017
11. 赤松弘朗: 今後のガイドライン変更の可能性について教えてください. 肺癌診療 Q&A 318-320, 2017

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: E G F R 変異非小細胞肺癌における E G F R チロシンキナーゼ阻害剤の治療奏効性の予測方法
発明者: 洪 泰浩, 山本 信之, 赤松 弘朗
権利者: 公立大学法人和歌山県立医科大学
種類: 特許
番号: PCT/JP2018/18967
出願年月日: 平成30年5月16日

国内外の別：国内・国外

〔その他〕
なし

6．研究組織

(1)研究代表者

赤松 弘朗 (AKAMATSU, Hiroaki)

和歌山県立医科大学・内科学第三講座・講師

研究者番号：10646582