

令和 2 年 5 月 17 日現在

機関番号：87123

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10593

研究課題名（和文）胃癌における免疫チェックポイント分子発現に着目した新規バイオマーカーの開発

研究課題名（英文）Prognostic impact of immune-related gene expression in preoperative peripheral blood from gastric cancer patients

研究代表者

伊藤 修平（Ito, Shuhei）

公立学校共済組合九州中央病院（臨床研究センター）・臨床研究センター・研究員

研究者番号：10706914

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：【目的】胃癌患者における末梢血中のPD-1、CD8(細胞性免疫に関与) mRNA発現の臨床的意義を検討する。【方法】術前末梢血中のPD-1、CD8遺伝子mRNA発現を定量RT-PCR法にて測定した。【結果】健常人との比較：胃癌患者ではPD-1、CD8がそれぞれ4.2、6.1倍高発現していた(ともに $P < 0.0001$ )。予後：PD-1低発現、CD8低発現が全生存(OS)、無再発生存(DFS)の独立予後不良因子であった。【結語】術前末梢血中のPD-1、CD8発現は抗腫瘍免疫反応を反映しており、PD-1、CD8低発現は予後予測マーカーになることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低侵襲、経時的に測定可能という観点から、近年注目されているリキッドバイオプシーのサンプルとして血液を用い、胃癌症例における免疫関連遺伝子の発現と予後の相関を検討した。胃癌に対しても使用可能となっている免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を予測する上でも、意義のある研究と考える。

研究成果の概要（英文）：The PD-1, PD-L1 and CD8 mRNA levels in preoperative PB reflected the anti-tumour immune response, and the low PD-1 and high PD-L1 mRNA levels in PB were independent poor prognostic markers in GC patients who underwent surgery.

研究分野：消化管外科学

キーワード：PD-1 PD-L1 CD8 免疫関連遺伝子 胃癌 抗腫瘍免疫反応 手術 予後

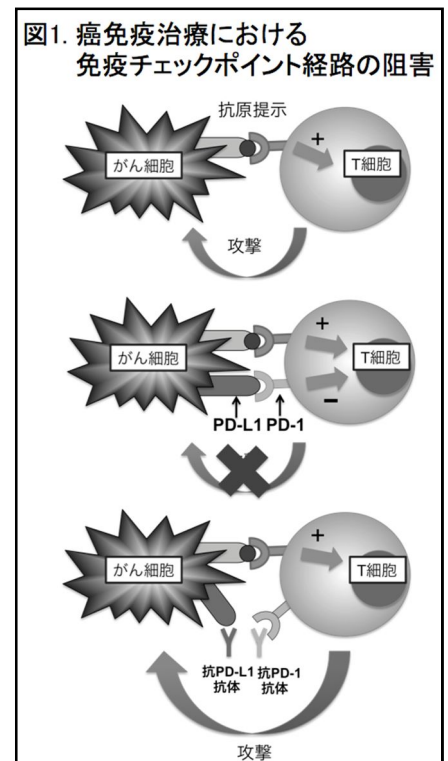
1. 研究開始当初の背景

① 研究の学術的背景

(1) 新規免疫チェックポイント阻害剤の出現

胃癌は、世界的に癌関連死亡の約 10%を占める疾患である。切除不能 stageIV胃癌の生存期間中央値は、無治療の場合は 3 ヶ月 (Pyrhonen S et al. *Br J Cancer* 1995) 化学療法を行った場合でも 13 ヶ月 (Koizumi W et al. *Lancet Oncol* 2008) と極めて予後不良である。これまで主に手術療法、化学療法 (抗がん剤、分子標的薬) の進歩が治療成績の向上に寄与してきたが、長期予後、治療による副作用など、いまだ十分ではなく、新規治療法の開発が極めて重要である。

近年、新たな治療として、免疫チェックポイント分子である PD-1、PD-L1、CTLA-4 などの阻害剤を用いた免疫療法が注目されている。癌に対する宿主の免疫反応 (**抗腫瘍免疫反応**) のメカニズムは、活性化した T 細胞が、癌細胞の抗原を認識することにより癌細胞を攻撃し、癌の増殖を抑制すると考えられている (図 1 上段)。これに対し、癌細胞は、癌細胞表面に PD-L1 を発現し、これが活性化した T 細胞上に発現している PD-1 と結合することにより、T 細胞の働きを抑制し、宿主の免疫を回避していると考えられている (**がんの免疫回避機構**) (図 1 中段)。免疫チェックポイント阻害剤は、免疫チェックポイント分子 (PD-1) や癌細胞に発現するリガンド (PD-L1) を抗体でブロックすることにより、T 細胞の活性化を持続して、抗腫瘍効果を発揮する薬剤である (図 1 下段)。



これまでに、免疫チェックポイント阻害剤を用いて、悪性黒色腫、腎癌、非小細胞肺癌などに対する臨床試験が行われ、これまでの免疫療法にはない有望な治療効果が報告されており (Topalian SL et al. *N Engl J Med* 2012, Brahmer JR et al. *N Engl J Med* 2012) 2011 年 3 月に抗 CTLA 抗体が悪性黒色腫に対し FDA (米国食品医薬品局) の承認を受け、**日本でも、世界初の抗 PD-1 抗体である nivolumab が、2014 年 7 月に悪性黒色腫に対し保険承認された。** 消化器癌においても、膵癌、胃癌、大腸癌に対し、免疫チェックポイント阻害剤の臨床試験が進行しており (Wang J et al. *J Clin Oncol* 2015) 胃癌に対しては、抗 PD-1 抗体 (pembrolizumab) 治療によって、再発、または転移を有する胃癌の 53.1% で標的病変の縮小を認めたと報告されている (Phase Ib 臨床試験) (Muro K et al. *Lancet Oncol* 2016) **現在、本邦では、切除不能な進行、再発胃癌に対し、抗 PD-1 抗体 (nivolumab, pembrolizumab) を用いた第 III 相臨床試験が進行している。** 一方で、**免疫チェックポイント阻害剤は、高額な医療費を必要とするため、治療効果が期待できる症例を選別するためのバイオマーカーの同定が喫緊の課題であるが、依然明らかではない。**

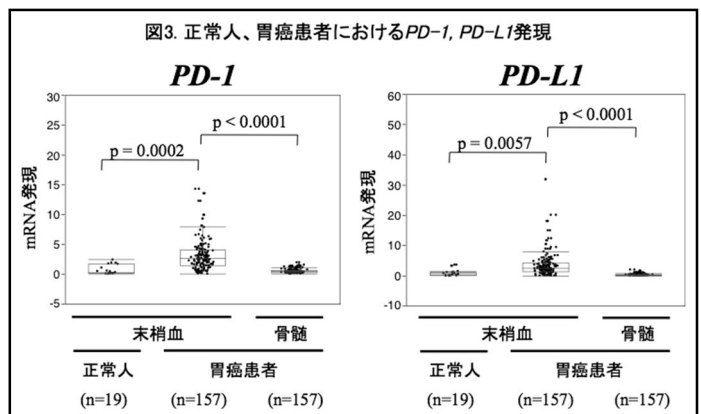
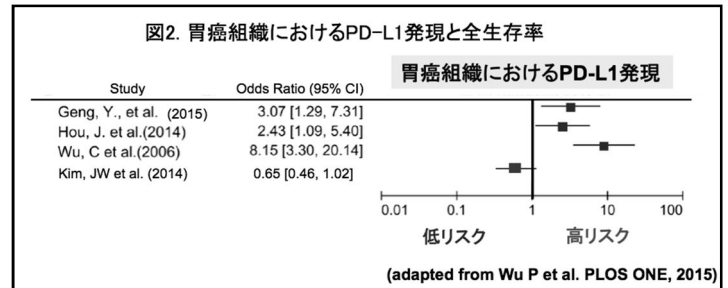
(2) 免疫チェックポイント阻害剤の治療効果予測

免疫チェックポイント分子阻害薬の予後予測マーカーとして、癌細胞の PD-L1 発現が有用であるという報告が散見されるが、胃癌も含めて依然、コンセンサスは得られていない (Wu P et al. *PLoS One* 2015) (図 2)。一方、**治療効果予測マーカーとしても、癌細胞の PD-L1 発現が有用であるという報告を認めるものの、PD-L1 低発現症例にも著効例が存在し、**

一定の見解は得られていない( Patel SP et al. *Mol Cancer Ther* 2015 )。近年、低侵襲で簡便な liquid biopsy サンプルとして注目されている末梢血を用いて、腎癌 ( Alexander W et al. *Cancer Immunol Res* 2014 )、神経膠腫 ( Wei B et al. *Tumour Biol* 2014 )、非小細胞肺癌 ( Zheng H et al. *Oncotarget* 2016 ) 患者の末梢血中の PD-1 発現と腫瘍の進行度、予後との

相関が報告されているが、胃癌に関しては明らかではない。

研究代表者は、これまでの予備実験で、胃癌患者より術前に採取した末梢血、骨髓を用いて、PD-1, PD-L1 mRNA 発現を測定した(図 3)。その結果、末梢血では、胃癌患者は正常人と比較し、PD-1, PD-L1 mRNA が高発現しており、癌抗原に対する抗腫瘍免疫反応と考えられた。また、胃癌患者では、骨髓と比較し、末梢血でより PD-1, PD-L1 mRNA が高く、鋭敏に抗腫瘍免疫反応を示すことが示唆された。また、予後に関しては、末梢血中 PD-1 mRNA の低発現症例で有意に予後不良であり、stage が進行するほど、生存率の差が顕著であった ( 図 4 )。これらの結果から、術前に T 細胞の活性化が低い症例では、抗腫瘍免疫反応の低下に伴う病勢の進行を認め、予後不良であり、stage の進行している症例ほど抗腫瘍免疫反応の低下の影響を強く受けることが示唆された。



## 2 . 研究の目的

胃癌患者における末梢血中の PD-1, CD8(細胞性免疫に関与) mRNA 発現の臨床的意義を検討する。

## 3 . 研究の方法

【対象】胃癌切除例 407 例 ( 治癒切除 345 例、非治癒切除 62 例 )、健康人 23 例。

【方法】術前末梢血中の PD-1、CD8 遺伝子 mRNA 発現を定量 RT-PCR 法にて測定した。

## 4 . 研究成果

【結果】(1)背景因子：平均年齢 61.7±11.8 歳(24 歳-87 歳)、男性/女性 279/128 例。(2)健康人との比較：胃癌患者では PD-1、CD8 がそれぞれ 4.2、6.1 倍高発現していた(ともに P < 0.0001)。また、stage1-4 のいずれの進行度においても、健康人と比較し PD-1、CD8 は有意に高発現していた。(3)術前化学療法との相関：術前化学療法施行群(n=15)では、術前無治療群(n=392)と比較し、PD-1 発現が有意に低下していた(P < 0.01)。(4)術後合併症との相関：術後合併症を認めた群(n=80)では、認めなかった群(n=297)と比較し CD8 発現が低い傾向であった(P=0.0864)。(5)予後：治癒切除症例において PD-1、CD8 低発現群は、それぞれ高発現群と比較し予後不良であった(ともに P < 0.01)。非治癒切除症例では PD-1 低発現群が高発現群と比較し、予後不良であった(P < 0.05)。(5)多変量解析：腫瘍径、リンパ節転移、腹膜播種、遠隔

転移、*PD-1* 低発現、*CD8* 低発現が全生存(OS)、無再発生存(DFS)の独立予後不良因子であった(OS: *PD-1* 低発現, HR 3.55, 95%CI 1.76-8.19,  $P < 0.001$ , *CD8* 低発現, HR 6.55, 95%CI 2.08-40.5,  $P < 0.001$ , DFS: *PD-1* 低発現, HR 2.89, 95%CI 1.51-6.21,  $P < 0.001$ , *CD8* 低発現, HR 3.19, 95%CI 1.32-10.5,  $P < 0.01$ )。【結語】術前末梢血中の *PD-1*、*CD8* 発現は抗腫瘍免疫反応を反映しており、*PD-1*、*CD8* 低発現は予後予測マーカーになることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Shuhei Ito et al	4. 巻 25
2. 論文標題 Prognostic Impact of Immune-Related Gene Expression in Preoperative Peripheral Blood from Gastric Cancer Patients	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ann Surg Oncol	6. 最初と最後の頁 3755, 3763
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） <a href="https://doi.org/10.1245/s10434-018-6739-4">https://doi.org/10.1245/s10434-018-6739-4</a>	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9件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 伊藤修平ほか
2. 発表標題 胃癌における免疫関連遺伝子発現の臨床的意義
3. 学会等名 第119回 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤修平ほか
2. 発表標題 胃癌切除標本のPD-1, PD-L1, CD8遺伝子発現に着目した予後予測マーカーの同定
3. 学会等名 第77回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤修平ほか
2. 発表標題 胃癌切除症例の術前末梢血における免疫関連遺伝子発現に着目したバイオマーカー探索
3. 学会等名 第73回日本消化器外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 伊藤 修平
2. 発表標題 胃癌患者の術前末梢血における免疫チェックポイント遺伝子発現の臨床的意義
3. 学会等名 第117回 日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shuhei Ito
2. 発表標題 Prognostic impact of PD-1, PD-L1 and CD8 genes expression in peripheral blood in gastric cancer
3. 学会等名 ASCO Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤 修平
2. 発表標題 胃癌患者の術前末梢血、骨髄血中の免疫チェックポイント遺伝子発現を用いたバイオマーカー探索
3. 学会等名 第72回 日本消化器外科学会定期学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤 修平
2. 発表標題 胃癌腫瘍組織におけるPD-1, PD-L1, CD8発現の予後予測マーカーとしての意義
3. 学会等名 第26回 日本がん転移学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤 修平
2. 発表標題 胃癌組織における免疫関連遺伝子発現の臨床的意義の検討
3. 学会等名 第76回 日本癌学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shuhei Ito
2. 発表標題 Cancer- and Immune-Related Genes Expression in Peripheral Blood and Bone Marrow in Gastric Cancer
3. 学会等名 Annual Academic Surgical Congress (国際学会)
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>Immune-Related Genes in Gastric Cancer  <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Prognostic+Impact+of+Immune-Related+Gene+Expression+in+Preoperative+Peripheral+Blood+from+Gastric+Cancer+Patients">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Prognostic+Impact+of+Immune-Related+Gene+Expression+in+Preoperative+Peripheral+Blood+from+Gastric+Cancer+Patients</a></p>
--

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	室 圭 (Muro Kei) (10501687)	愛知県がんセンター(研究所)・がん予防研究分野・研究員  (83901)	

## 6. 研究組織 (つづき)

	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	三森 功士  (Mimori Koshi)  (50322748)	九州大学・大学病院・教授    (17102)	
研究 分担者	深川 剛生  (Fukagawa Takeo)  (60313152)	国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医長    (82606)	