

令和元年6月18日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K16058

研究課題名(和文) Nivolumab治療における投与間隔拡大algorithm開発試験

研究課題名(英文) Development of algorithm to enlarge dose interval with Nivolumab for patients with Non-small cell lung carcinoma

研究代表者

毛利 篤人(mouri, atsuto)

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：20774657

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：非小細胞肺癌に対する免疫チェックポイント阻害薬治療において投与間隔を拡大することは添付文書違反の投与になり特定臨床研究の範疇となるため、免疫チェックポイント阻害薬奏効例の臨床経過と末梢血単核球の経時的的变化を評価した。有害事象による投与中止後に投与再開した群と休薬のまま経過観察とする群との比較において有意な予後の差はみられなかった。わずかな投与回数となっても病変制御が維持されている症例が存在し、末梢血液単核球の状況はCD62L^{low}CD4リンパ球が豊富な状態であった。末梢血単核球表面蛋白の評価により効果維持の要因と一度得られた効果が得られなくなる要因を言及できる可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

肺癌だけでなく多くの癌腫に対して有効性をもたらした免疫チェックポイント阻害薬治療の予後予測については未だ不明である。有害事象などにより投与中止となった場合に有害事象回復後に投薬を再開すべきかどうかについては明確な指針がない。今回の研究にて休薬後の再投与における安全性と有効性を評価することができた。また、経時的な末梢血液検体採取にてリンパ球表面抗原を評価することで、効果維持できているものと、効果不良となる症例の全身的な免疫状態の違いを見出した。解析症例数を増やし免疫チェックポイント阻害薬治療の有効性維持の要因を究明し、投与不要症例や効果不良時の治療シークエンスを開発する。

研究成果の概要(英文)：Because to enlarge dose interval with immune check point inhibitor(ICI) for patients with Non-small cell lung carcinoma is off-label use, our objects were changed to elucidate the prognosis of NSCLC patients who had once responded to anti-PD-1 therapy and discontinued it and to assess peripheral blood mononuclear cell(PBMC) in patients with long-lasting antitumor immunity after PD-1 blockade therapy.

The patients who discontinued nivolumab therapy due to immune-related adverse event(irAE) well responded to the retreatment without irAE exacerbation but the prognostic significant difference was not recognized in comparison with the patients who continued off treatment after irAE cessation.

The patient gathered durable response in spite of a few administration of ICI. CD4+ T cells with down-regulated expression of CD62L (CD62L^{low}) in PBMC were rich in patients persisted to obtain response. Possibility to assess PBMC as predict marker of prognosis was demonstrated.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 治療奏効例 切除不能進行期非小細胞性肺癌 免疫関連有害事象 投与中止 休薬

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

2015年12月に本邦にて非小細胞肺癌に対して適応承認を得た Nivolumab などの免疫チェックポイント阻害薬治療は、非自己と認識される癌細胞抗原に対する自己の免疫機構を調節することで、抗腫瘍効果をもたらす。CTLA-4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen)、PD-1(programmed death 1)などの免疫抑制シグナルを伝達する分子は免疫チェックポイント分子と呼ばれ、自己寛容の維持や、感染時の過剰な免疫応答の抑制に働く。抗 PD-1 抗体はこの PD-1 を阻害し、リガンドとの結合を防ぐことで T 細胞活性を維持し、腫瘍免疫を惹起して抗腫瘍効果を維持するように働く。様々な癌腫において臨床試験が行われており、Nivolumab の投与期間は 2 週間に 1 回の投与とされている。また、有効性が得られた症例が比較的長期的な効果持続期間を保持すると言われているが、一方で、効果が得られている場合は、基本的に継続投与となる。Nivolumab の Phase 試験の拡大コホートにて、奏功が得られた 22 例(129 例中)のうち、有害事象などの理由で継続投与が不可能となった 18 例を観察したところ、投与中断後も長期にわたって有効性を維持できている症例が多く存在すると報告されている。2017 年米国癌学会にて Phase 試験の長期コホートの報告がなされていたが、5 年生存可能であった 16 例はすべて、約 2 年間で投薬が終了されており、うち 12 例はあらゆる治療介入なく奏効が持続していることがわかった。同じ免疫チェックポイント阻害剤に属する抗 CTLA-4 抗体では、進行期悪性黒色腫症例に 4 回投与するのみで 10 年以上の無増悪生存が得られると報告されている。生物学的妥当性として、一度、免疫学的に非自己と判断され、細胞傷害性 T 細胞などにより腫瘍死が生じた場合には、immunogenic cell death として抗原提示細胞に取り込まれる。エフェクター T 細胞の増殖、活性化に寄与することから、免疫学的排除が十分なレベルで始まった場合には PD-1/PD-L1 や CTLA-4 など免疫チェックポイントの阻害を必要としなくなっていることが想定される。しかし、現在、Nivolumab 投与を終了としてよい時期についての証拠付けは皆無である。経時的に免疫学的治療効果を判定できるバイオマーカーを明らかとして、Nivolumab の投与間隔の検討や投与休止を行うためのアルゴリズムを確立することは、世界共通の大きな課題といえる。

我々は、抗腫瘍 T 細胞免疫において、抗腫瘍活性が腫瘍所属リンパ節の CD62L^{low} T 細胞に存在することを示し、MHC class II 抗原陰性腫瘍に対し CD4⁺T エフェクター細胞単独で極めて高い抗腫瘍活性を示すことを証明した。更に、樹状細胞の活性化、プライミング促進により、effector phase での CD8⁺T 細胞機能が増強されることを示した。小細胞肺癌患者末梢血中単核球(PBMC)を解析したところ、遠隔転移を持たない限局型では CD4⁺T エフェクター細胞が健常人に対して増加しており、遠隔転移を有する進展型では CD4⁺T エフェクター細胞は健常人と同レベルであるにも関わらず制御性 T 細胞が増加していることが明らかとなった。PBMC を経時的に解析することにより Nivolumab が奏効し得る免疫状態が保たれているか否か評価可能であると考えた。免疫治療の機序をふまえると、腫瘍抗原の変化もしくは、個体の免疫系統の変化がない限り、再投与することにおいて、抗腫瘍効果を再獲得できることが予測される。一度奏効が得られた症例に注目し、臨床経過や投薬治療の必要性、増悪の機序などを検討することは重要と考えられる。PBMC を定期的に採血することで T 細胞免疫状態を詳細に観察、解析することで、奏効状態維持の免疫学的バイオマーカーについての評価を前向きに探索する。比較的安価で簡便な末梢血リンパ球の FACS 評価を行うことで奏効例に対する免疫チェックポイント阻害剤の投与継続の必要性を評価することは最大の生存期間延長を得るために必要な最小限の治療を患者個別に明らかにすることとなる。Nivolumab の免疫学的機序をふまえ、経時的に測定可能な末梢血中の CD4⁺T 細胞分画を用いて投与中断や休薬後再開の妥当性を開発できる可能性があり、免疫学的バイオマーカーに基づいて科学的に必要最小限の治療負担、コストにより最大の効果を得る理想的な免疫療法の確立に結びつくと考えられる。

2. 研究の目的

初回細胞傷害性抗がん剤治療後に再発、再燃した非小細胞肺癌の標準治療として投与された Nivolumab により腫瘍縮小効果(RECIST CR/PR)が確認されていて、少なくとも 24 週以上 Nivolumab 投与(標準：1 回/2 週間)を継続している症例を対象として、投与間隔を 4 週間に拡大し、治療効果が維持されるか否かについて評価することを目的としたが、投与間隔を拡大することは添付文書違反の投与になり臨床研究法の改訂時期と重なり、特定臨床研究の範疇となった。そこで、免疫チェックポイント阻害薬奏効例の臨床経過と末梢血単核球の経時的变化を評価することとした。

3. 研究の方法

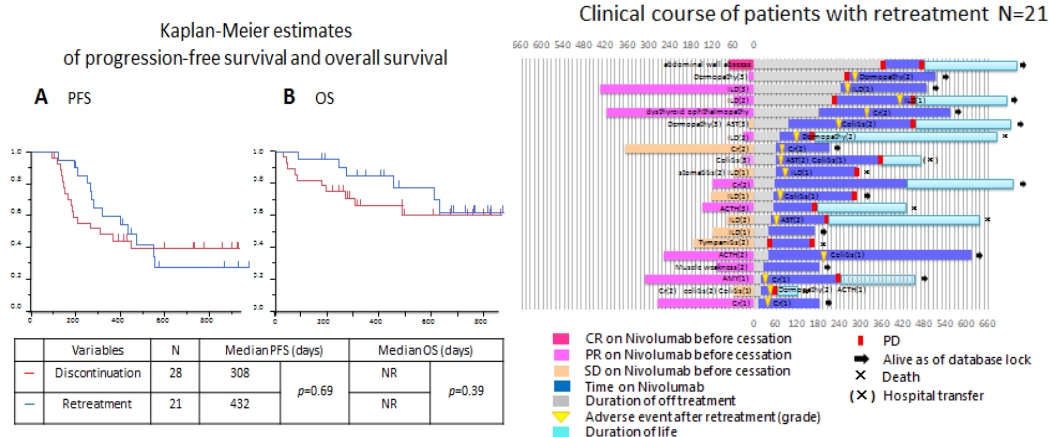
埼玉医科大学国際医療センターにおいて病理学的に非小細胞肺癌と診断された患者で、埼玉医科大学国際医療センターで治療を受ける患者を対象とした。腫瘍縮小効果が得られた症例を後ろ向きに観察し、一度、効果が得られた症例が有害事象などにより投与中止となった場合や効果不良となった場合の予後など臨床経過については後方視的にカルテベースにて評価した。本研究についての十分なインフォームドコンセントを施行の上、文書同意を得られた場合に日常の標準治療における採血検査時に末梢血液検体を追加採取した。BD バキュティナスピッツTM

を用いて末梢血単核球分画を遠心分離し、リンパ球の細胞表面抗原分析を行った。FACS 解析を用いて T 細胞、NK 細胞などの分化・活性化マーカー、MDSC などの免疫担当細胞の評価を行った。

4. 研究成果

当院において 2 次治療以降で Nivolumab を投与した症例の中で、病変制御が得られた症例 (PD:Progressive Disease 以外の症例) を対象として、有害事象などにより投与継続不可能となった場合に有害事象の回復後に投薬を再開した群と休薬を継続した群を比較した。無増悪生存期間や生存割合における有意差はみとめられなかった。(図 1) また、投与中止をもたらした有害事象の内容は肺障害が 30/49 例 61.2%と最も多く、副腎不全 4/49 例 8.2%、肝機能障害 3/49 例 6.1%、腎機能障害 3/49 例 6.1%と続いた。有害事象への対応として、全身性ステロイド投与を 32/49 例 65.3%に使用しており、その内訳は、ステロイドパルス療法 4/32 例 12.5%、プレドニゾロン 1.0mg/kg 1/32 例 3.1%、プレドニゾロン 0.5mg/kg 20 例 62.5%であった。21 例の再投与を行った症例のうち、再び有害事象が発現したものは 15/21 例 71.4%であり、投与中止をもたらした有害事象と同様の有害事象が発症したものが、9 例、異なる有害事象が 6 例であった。再投与による有害事象発現については死亡例は 0/15 例であり、grade3 以上であったものは 1/15 例であった。再投与を行った 21 例の臨床経過を swimprots にて記した。(図 2) 免疫チェックポイント阻害薬治療において有害事象により投与中断となった場合、状態の改善後に薬物治療を再開すべきかどうかについては明確な指針は存在しないが、今回の研究にて休薬後の再投与における臨床的な有効性と安全性が示された。

図 1. 有害事象中止再投与群と休薬群予後 図 2. 有害事象中止後再投与を行った群の臨床経過



わずかな投与回数でも病変制御が維持されている症例が存在し、末梢血液単核球の状況は CD62LlowCD4 リンパ球が豊富な状態であった。免疫チェックポイント阻害薬治療症例を対象にインフォームドコンセントのもと、末梢血単核球の継時的評価を行った CD4+T リンパ球における CD62LlowCD4 リンパ球の割合は長期間 (無増悪生存期間 500 日以上) 奏効例と奏効例、無効例の間に有意な差がみとめられた。奏効に対する ROC 曲線とともに表記した。(図 3) また全生存期間 (OS)、無増悪生存期間 (PFS) といった時間的な効果の指標それぞれに対して相関を示す有意差がみとめられた。(図 3) さらに、経時的な末梢血単核球解析において、CD62LlowCD4 リンパ球の割合は治療効果に応じて減少する傾向にあることがあった。抗腫瘍免疫において negative に働く制御性 T リンパ球を示す Foxp3+CD25+CD4+リンパ球の割合で除した (CD62LlowCD4 リンパ球/Foxp3+CD4+CD25+リンパ球) index 値が最も相関しており、治療経過に応じて奏効を持続する症例と増悪してしまった症例において数値の差がみられた (図 4)。

肺癌だけでなく多くの癌腫に対して有効性をもたらした免疫チェックポイント阻害薬治療の治療経過に応じた免疫学的機序をふまえた指標が示された。経時的な末梢血液検体採取にてリンパ球分画を評価することで、効果維持できている症例と、効果不良となる症例の全身的な免疫状態の違いが見出された。今後も解析症例数を増やし免疫チェックポイント阻害薬治療の有効性維持の要因を究明し、投与不要症例や効果不良時の治療シークエンスを開発する。

図 3.末梢血単核球分画 CD62L low CD4+T リンパ球の割合と治療効果の相関
 CD4+ Tcells with down-regulated expression of CD62L
 (CD62L low) in PBMC

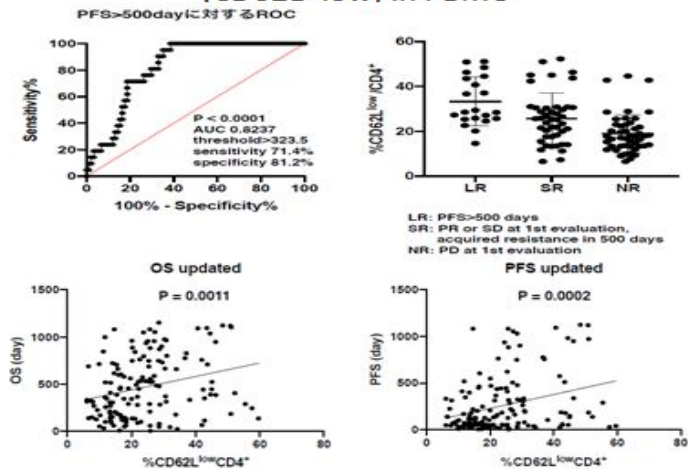
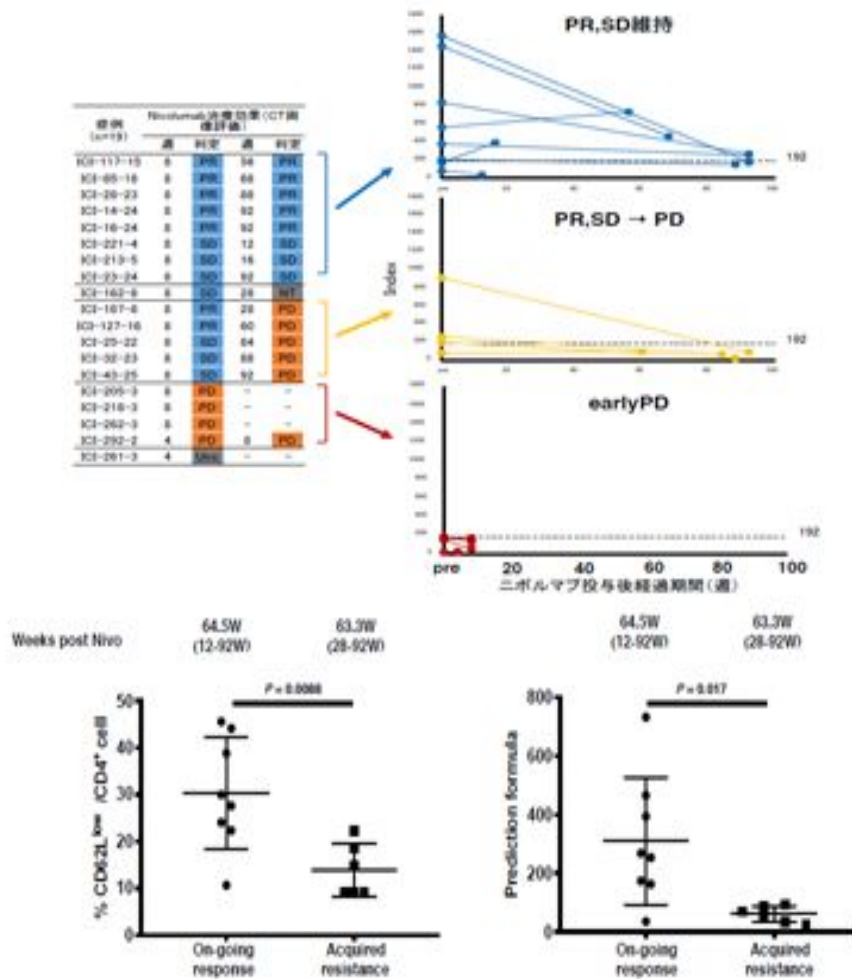


図 4. 奏効状況ごとの末梢血単核球分画 CD62L low CD4+T リンパ球の経時的変化の分析



5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 5 件)

1. Mouri A, Kaira K, Shiono A, Yamaguchi O, Murayama Y, Kobayashi K, Kagamu H. Clinical significance of primary prophylactic pegylated-granulocyte-colony stimulating factor after the administration of ramucirumab plus docetaxel in patients with previously treated non-small cell lung cancer. Thorac Cancer. 2019 Apr;10(4):1005-1008.

2. Yamaguchi O, Kaira K, Hashimoto K, Mouri A, Miura Y, Shiono A, Nishihara F, Murayama Y, Noda SE, Kato S, Kobayashi K, Kagamu H. Radiotherapy is an independent prognostic marker of favorable prognosis in non-small cell lung cancer patients after treatment with the immune checkpoint inhibitor, nivolumab. Thorac Cancer. 2019 Apr;10(4):992-1000.
3. Shiono A, Kaira K, Mouri A, Yamaguchi O, Hashimoto K, Uchida T, Miura Y, Nishihara F, Murayama Y, Kobayashi K, Kagamu H. Improved efficacy of ramucirumab plus docetaxel after nivolumab failure in previously treated non-small cell lung cancer patients. Thorac Cancer. 2019 Apr;10(4):775-781.
4. Yamaguchi O, Kaira K, Mouri A, Shiono A, Hashimoto K, Miura Y, Nishihara F, Murayama Y, Kobayashi K, Kagamu H. Re-challenge of afatinib after 1st generation EGFR-TKI failure in patients with previously treated non-small cell lung cancer harboring EGFR mutation. Cancer Chemother Pharmacol. 2019 Feb 13. doi: 10.1007/s00280-019-03790-w.
5. Mouri A, Yamaguchi O, Miyauchi S, Shiono A, Utsugi H, Nishihara F, Murayama Y, Kagamu H, Kobayashi K. Combination therapy with carboplatin and paclitaxel for small cell lung cancer. Respir Investig. Respir Investig. 2019 Jan;57(1):34-39.

〔学会発表〕(計 3 件)

1. 解良 恭一、毛利 篤人、山口央、橋本康佑、三浦雄、内田貴裕、塩野文子、西原冬実、村山芳武、小林国彦、各務博. CD4+T-cell immunity correlates with long-lasting antitumor immunity after PD-1 blockade therapy. American Society Clinical Oncology Annual Meeting (国際学会) 2019年6月
2. 毛利篤人、山口央、橋本康佑、三浦雄、内田貴裕、塩野文子、西原冬実、村山芳武、解良恭一、小林国彦、各務博. 当院におけるNivolumab投与有効症例における有害事象発症後についての検討. 日本肺癌学会総会 2018年11月
3. 塩野文子、毛利 篤人、山口央、橋本康佑、三浦雄、内田貴裕、西原冬実、村山芳武、小林国彦、解良 恭一、各務博. 当院におけるラムシルマブ使用症例について検討. 日本臨床腫瘍学会 2018年7月

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 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

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：

ローマ字氏名：

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。