

令和 4 年 6 月 28 日現在

機関番号：37111

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2021

課題番号：18K15331

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害剤の効果予測、治療選択に有用なバイオマーカーの同定

研究課題名（英文）Identification of biomarkers which is useful for predicting the efficacy and treatment selection of immune checkpoint inhibitors

研究代表者

山田 哲平（Yamada, Teppei）

福岡大学・医学部・講師

研究者番号：20772718

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：近年、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）による免疫療法の治療効果は世界に大きなインパクトを与え、殺細胞性抗がん剤との併用も既に臨床の現場に登場しており、がん薬物療法のキードラッグとなりつつある。しかし、ICIは薬剤費が高額であることや、効果予測可能な鋭敏なバイオマーカーが存在しないこと、重篤な免疫関連有害事象（irAE）のリスクが存在することなど早急に解決が必要な問題点も少なくない。

本研究課題を進めるための6つの関連プロジェクトにおいて、様々ながん腫における腫瘍微小環境（TME）の評価や、末梢血中における免疫細胞の評価と治療成績との関連を検証することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

次項に示す6つのプロジェクトの研究成果により、免疫チェックポイント阻害剤（ICI）による効果予測に有用なバイオマーカーの同定や、治療の有効性を高める治療戦略の選定、薬剤感受性の改善、薬剤耐性獲得への対策につながる研究を促進させるための重要な情報を提供できたと考えられ、これらの研究成果をさらに発展させることで国家の医療費の削減やICI治療を受ける患者さんのリスク軽減に直接寄与できる結果を得ることが可能になると考える。

研究成果の概要（英文）：In recent years, the therapeutic effects of immune checkpoint inhibitors (ICIs) have made a significant impact on the world, and their combination with chemotherapy has already appeared in clinical practice and is becoming a key drug for cancer pharmacotherapy. However, ICIs have some problems that need to be resolved urgently, including high drug costs, lack of sensitive biomarkers that can predict efficacy, and the risk of serious immune-related adverse events (irAEs).

In six related projects to advance this research agenda, we were able to evaluate the tumor microenvironment (TME) in tumor tissue and immune cells in the peripheral blood in patients with various carcinomas. And also, we could evaluate the association between these results and therapeutic outcomes.

研究分野：がん免疫治療

キーワード：免疫チェックポイント阻害剤 がん免疫療法 腫瘍免疫 腫瘍微小環境 バイオマーカー

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

転移性メラノーマおよび進行・再発の非小細胞肺癌における抗 programmed death 1 (PD-1) 抗体薬や抗 cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA-4) 抗体薬などの免疫チェックポイント阻害剤による免疫療法による治療効果は世界に大きなインパクトをもたらし、ついに消化器癌においても日本国内で2017年9月より、がん化学療法後に増悪した治癒切除不能な進行・再発の胃癌に対して抗 PD-1 抗体薬の使用が承認された。免疫チェックポイント阻害薬は極めて高価であるにも関わらず現時点では治療効果を鋭敏に予測するバイオマーカーは見出されておらず、また、長期的には自己免疫疾患などの未知の副作用の出現の可能性も否定できない薬剤でもある。今後、適応拡大も進み同薬剤の使用が国内の臨床医療に普及するにあたり、患者への不必要な投与や国内における膨れ上がる医療費の問題を再認識しなければならない。

### 2. 研究の目的

免疫チェックポイント阻害剤が有効である症例、あるいはまったく効果のない症例の絞り込み、すなわちバイオマーカーによる効果予測ができるかどうかの本薬剤の今後の展望に極めて重要な鍵を握っている。本研究課題では、HLA クラス I 抗原のプロセッシング機構 (antigen processing machinery; APM) に関わる分子が免疫チェックポイント阻害剤である抗 PD-1 抗体薬の効果予測、治療選択に有用なバイオマーカーになるか検証し、免疫チェックポイント阻害剤による治療の有効性を高める治療戦略の選定や薬剤感受性の改善、耐性獲得への対策につながる研究を促進させるための重要な情報を提供することを目的とする。

### 3. 研究の方法

本研究では、腫瘍組織検体における HLA クラス I 抗原の APM に関わる分子の蛋白レベルでの発現の程度、またヘテロジェナイティの程度などを正確に評価するため、同分子各々に対する特異的モノクローナル抗体を使用して免疫組織化学 (IHC) 染色を行い、予後や治療の奏効率を含めた臨床病理学的データとの関係を統計学的に検討する。

### 4. 研究成果

本研究課題を進めるにあたり下記6つのプロジェクトを完結させた。

- (1) Defective HLA class I antigen processing machinery. *Cancer Immunol Immunother.* 67: 999-1009, 2018

これまでに、HLA クラス I 抗原のプロセッシング機構 (APM) に関わる分子の発現異常は、悪性疾患における予後不良因子であるという報告は多数存在する。また、HLA クラス I 抗原のプロセッシング機構 (APM) に関わる分子の発現の低下、欠損は、T 細胞による腫瘍細胞の認識に悪影響を及ぼすため、細胞の悪性化に関与している可能性もある。さらに、免疫チェックポイント阻害剤を用いた免疫療法の抵抗性に関与している可能性もある。我々は、各々のがん腫に関して、HLA クラス I APM に関わる分子の発現異常について組織学的に検討され、2017年までに英論文として報告された文献を Pubmed で全て検索し、まとめて総説英論文として報告した。HLA クラス I 重鎖の欠損頻度に関しては、最小は腎臓癌で 35.8%、最大は甲状腺癌で 87.9%であった。

- (2) Role of Tumor Associated Macrophages in the Clinical Course of Pancreatic Neuroendocrine Tumors (PanNETs). *Clin Cancer Res.* 25: 2644-2655, 2019.

外科的に切除された膵神経内分泌腫瘍 (PanNET) 組織を用いて、マクロファージ、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞の腫瘍組織への浸潤、ならびに腫瘍細胞表面の HLA クラス I、PD-L1、および B7-H3 の発現について免疫組織化学染色で腫瘍微小環境を評価し、無病生存期間 (DFS) および疾患特異的生存期間 (DSS) との相関を検討した。PD-L1 と B7-H3 は、それぞれ 53% と 78% の PanNETs で発現していた。HLA クラス I は、約 70% の PanNETs で欠損していた。HLA-A の発現は、PD-L1 陰性腫瘍の良好な DSS と相関していた。腫瘍関連マクロファージ (TAM) の浸潤、WHO グレード、T ステージおよびリンパ節転移陽性は、DFS の独立予測因子であった。TAM の浸潤は、WHO グレード 1 および 2 の患者における DSS の唯一の独立予測因子であった。したがって、この TAM の浸潤は、PanNET における最も有益な予後バイオマーカーである可能性があり、また、PanNET 患者の免疫療法のターゲットとしても有用である可能性がある。

- (3) Potential Role of HLA Class I Antigens in the Glycolytic Metabolism and Motility of Melanoma Cells. *Cancers*. 11:1249, 2019.

ヒト白血球抗原 (HLA) は、免疫監視に重要な役割を果たすだけでなく、細胞間のコミュニケーションに関わる数多くの非免疫的機能を有している。HLA クラス I および HLA クラス II 特異的モノクローナル抗体 (mAb) のヒトメラノーマ細胞の代謝への影響をスクリーニングした結果、HLA クラス I 抗原、特に HLA-B および C 遺伝子座の遺伝子産物が、メラノーマ細胞の代謝を調節することによって、メラノーマ細胞の運動性に関与していることが示唆された。

- (4) A fast, simple, and cost-effective method of expanding patient-derived xenograft mouse models of pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Transl Med* 18: 255, 2020.

患者由来異種移植 (PDX) マウスは、腫瘍の不均一性、腫瘍微小環境などが保たれた元の悪性腫瘍の特徴を再現する優れたマウスモデルとして認識されてきたが、PDX マウスモデルの課題は、腫瘍の増殖に多大な時間がかかり、腫瘍の採取率が低下し、コストが高くなることであった。今回我々は、2種類の患者由来の PDAC PDX 組織 (凍結) と 14 匹の SCID マウスを使用し、20 週間で 200 匹のマウスに移植するのに十分な PDX 組織を作製する方法を開発することが出来た。また、腫瘍微小環境の形態は、皮下 PDX モデルと同所性 PDX モデルのいずれの継代においても元の患者の腫瘍微小環境を反映していることを確認できた。免疫チェックポイント阻害剤による治療によって変化する腫瘍微小環境の変化の評価に有用である可能性がある。

- (5) Changes in Immunological Status in Patients with Metastatic Colorectal Cancer Treated with First-line Chemoimmunotherapy. *Anticancer research* 40: 4763-4771, 2020.

殺細胞性抗癌剤と免疫療法を組み合わせた化学免疫療法は、様々な悪性疾患に対する有望な治療法である。我々は、当院にて 1 次治療として  $\alpha$   $\beta$  T 細胞療法を用いた化学免疫療法を受けた転移性大腸がん (mCRC) 患者における有効性や安全性、同患者血中の免疫細胞の変化に関して評価を行った。完全寛解 (CR) 群では、単球数の有意な減少と、リンパ球/単球比の変化の割合の増加を認めた。 $\alpha$   $\beta$  T 細胞療法を用いた化学免疫療法は、mCRC に対して有用な治療法の 1 つである可能性が示唆された。

- (6) Tumor Microenvironment Immune Response in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Patients Treated With Neoadjuvant Therapy. *J Natl Cancer Inst.* 113:182-191, 2021.

局所進行膵癌 (PDAC) に対するダウンステージ目的の術前補助療法 (化学療法もしくは化学放射線療法) を施行された患者の腫瘍組織を用いて、ヒト白血球抗原 (HLA) クラス I、II の発現と種々の免疫細胞の腫瘍浸潤の程度を免疫組織化学染色で評価し、腫瘍微小環境と治療成績との関連を詳細に検討した。術前補助療法は腫瘍細胞表面の HLA-A 欠損の改善、腫瘍組織における CD8 陽性 T 細胞浸潤の増加、制御性 T 細胞および M2 マクロファージ浸潤の減少を引き起こしており、腫瘍免疫応答の増強が生存率の改善に寄与していると考えられる。また、同術前補助療法は免疫チェックポイント阻害剤との併用に適している可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 5件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Michelakos Theodoros, Cai Lei, Villani Vincenzo, Sabbatino Francesco, Kontos Filippos, Fernandez-del Castillo Carlos, Yamada Teppei, Neyaz Azfar, Taylor Martin S, Deshpande Vikram, Kurokawa Tomohiro, Ting David T, Warshaw Andrew L, Lillemoe Keith D, Ferrone Soldano, Ferrone Cristina R	4. 巻 113
2. 論文標題 Tumor Microenvironment Immune Response in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma Patients Treated With Neoadjuvant Therapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 JNCI: Journal of the National Cancer Institute	6. 最初と最後の頁 182 ~ 191
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jnci/djaa073	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 該当する

1. 著者名 Liu Zhenyang, Ahn Michael Ho-Young, Kurokawa Tomohiro, Ly Amy, Zhang Gong, Wang Fuyou, Yamada Teppei, Sadagopan Ananthan, Cheng Jane, Ferrone Cristina R., Liss Andrew S., Honselmann Kim C., Wojtkiewicz Gregory R., Ferrone Soldano, Wang Xinhui	4. 巻 18
2. 論文標題 A fast, simple, and cost-effective method of expanding patient-derived xenograft mouse models of pancreatic ductal adenocarcinoma	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 255
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12967-020-02414-9	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 該当する

1. 著者名 Teppei Yamada, Yoichiro Yoshida, Toshiki Maeda, Gumpei Yoshimatsu, Naoya Aisu, Kanefumi Yamashita, Akira Komono, Ryuji Kajitani, Yoshiko Matsumoto, Hideki Nagano, Keiko Naito, Kosei Yasumoto, Rishu Takimoto, Takashi Kamigaki, Shigenori Goto, Fumihiro Yoshimura, Naoaki Sakata, Shohta Kodama, Suguru Hasegawa	4. 巻 40
2. 論文標題 Changes in Immunological Status in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Treated With First-line Chemoimmunotherapy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4763 ~ 4771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.14478	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 Cai L, Michelakos T, Deshpande V, Arora KS, Yamada T, Ting DT, Taylor MS, Fernandez-Del Castillo C, Warshaw AL, Lillemoe KD, Ferrone S, Ferrone CR	4. 巻 25
2. 論文標題 Role of Tumor Associated Macrophages in the Clinical Course of Pancreatic Neuroendocrine Tumors (PanNETs).	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Clin Cancer Res.	6. 最初と最後の頁 2644-2655
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/1078-0432.CCR-18-1401	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 該当する

1. 著者名 Silvia Peppicelli, Jessica Ruzzolini, Elena Andreucci, Francesca Bianchini, Filippos Kontos, Teppei Yamada, Soldano Ferrone and Lido Calorini	4. 巻 11
2. 論文標題 Potential Role of HLA Class I Antigens in the Glycolytic Metabolism and Motility of Melanoma Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 1249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cancers11091249	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 該当する

1. 著者名 Lei Cai, Theodoros Michelakos, Teppei Yamada, Song Fan, Xinhui Wang, Joseph H. Schwab, Cristina R. Ferrone, Soldano Ferrone	4. 巻 67
2. 論文標題 Defective HLA class I antigen processing machinery in cancer	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Immunol Immunother.	6. 最初と最後の頁 999-1009
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00262-018-2131-2.	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 該当する

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 山田 哲平、吉村 文博、野 陽介、田中 敬太、島岡 秀樹、榎 研二、吉田 陽一郎、長谷川 傑
2. 発表標題 当院での切除不能進行・再発胃癌に対するNivolumab療法の現状
3. 学会等名 第17回 日本免疫治療学会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田 哲平、吉村 文博、野 陽介、田中 敬太、島岡 秀樹、榎 研二、吉田 陽一郎、長谷川 傑
2. 発表標題 当院における切除不能進行・再発胃癌に対するNivolumab療法を使用した治療戦略
3. 学会等名 第75回 日本消化器外科学会定期学術総会 要望演題
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山田 哲平、吉村 文博、瀧畑 圭佑、山内 皓介、平野 陽介、田中 敬太、島岡 秀樹、榎 研二、吉田 陽一郎、長谷川 傑
2. 発表標題 当院における切除不能進行・再発胃癌に対するNivolumab療法と今後の展望
3. 学会等名 第45回 日本外科系連合学会学術州会 シンポジウム
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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

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		
	米国	Department of Surgery	Massachusetts General Hospital