

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：32409

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K18625

研究課題名（和文）多重免疫染色解析システムを用いたがん免疫療法の治療効果予測モデル構築

研究課題名（英文）Construction of a model for predicting the therapeutic effect of cancer immunotherapy using a multiplex immunochemistry analysis system.

研究代表者

中山 貴之（Nakayama, Takayuki）

埼玉医科大学・医学部・助教

研究者番号：10727225

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究において、多重免疫組織染色解析システムによる検討からは腎細胞癌症例におけるニボルマブ・イピリムマブ併用療法の治療効果予測因子は同定されなかった。臨床データの解析から、好中球/リンパ球比（NLR）、リンパ球/単球比（LMR）、血小板/リンパ球比（PLR）、C反応性蛋白（CRP）は、いずれも治療開始時点での治療効果予測因子となり、さらに、CRPは治療開始後の治療効果予測に有用であることが見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

進行腎細胞癌の治療戦略において免疫チェックポイント阻害薬は中心的な役割を担っている。しかし、治療効果を予測・反映する因子は確立していない。本研究結果は進行腎細胞癌の治療開始前または治療開始早期の治療効果予測に有用と考えられる。治療効果が予測できれば、個々の患者の状態にあわせた適切な治療選択をすることができる。

研究成果の概要（英文）：In this study, no predictors of treatment response to nivolumab-ipilimumab combination therapy in renal cell carcinoma patients were identified from the multiplex immunohistochemistry analysis system. Analysis of clinical data revealed that the neutrophil/lymphocyte ratio (NLR), lymphocyte/monocyte ratio (LMR), platelet/lymphocyte ratio (PLR), and C-reactive protein (CRP) were all predictive of response at the start of treatment. Furthermore CRP was found to be useful in predicting response after treatment initiation.

研究分野：泌尿器癌

キーワード：腎細胞癌 免疫チェックポイント阻害薬 バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

進行腎細胞癌における免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を予測するバイオマーカーは確立されていない。PD-L1 (programmed cell death-1 ligand-1)や腫瘍浸潤リンパ球が有力なバイオマーカーの候補として検討されているが、統一された見解が得られていない。その原因として、従来の免疫組織染色では、評価者の主観性が排除できない、複数のマーカーを同時に解析できない、などが考えられる。本研究では、多重免疫組織染色解析システムを用いて、従来の免疫組織染色に内在する問題の解決を試みる。この多重免疫組織染色解析システムは、7色まで染色可能な多重蛍光免疫組織染色標本の撮影画像を、画像解析ソフトを用いて評価する。画像解析ソフトでは、コンピューターをトレーニングさせることにより、領域の自動判別(例: 癌実質と間質)、各マーカー陽性細胞数、1細胞ごとのマーカーの発現強度などを自動的に算出できる。トレーニングしたプログラムは、他の標本にも使用できるので、同じ抗体の組み合わせで染色した標本は、すべて同じ条件での解析が可能となる。つまり、この多重免疫組織染色解析システムの利点として、評価プログラムを確立すれば、評価者の主観性を排除できる、1細胞中の複数のマーカーの発現をひとつの標本で確認できる、ことなどが考えられる。すなわち、前述した免疫組織染色の問題(評価者の主観が入る可能性がある、各免疫細胞中のマーカー発現評価が難しい)を克服できる可能性がある。本研究では、このシステムを用いて、腎細胞癌組織検体を客観的に評価し、臨床データと比較検討することにより、本システムの臨床的有用性を検討した。

2. 研究の目的

本研究は、多重免疫組織染色解析システムを用いて、腎細胞癌組織の腫瘍微小環境を評価し、臨床データと併せて、治療成績と比較検討することで、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測因子を同定し、その因子を用いて免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測モデルを構築することを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 多重免疫組織染色解析システム

埼玉医科大学総合医療センターにて進行腎細胞癌の診断にて、ニボルマブ・イピリムマブ併用療法を施行した19例を解析対象とした。19例のうち、16例のニボルマブ・イピリムマブ併用療法開始前手術検体もしくは生検検体に多重免疫組織染色解析システムを用いて、腫瘍内の各細胞密度(観察視野内の腫瘍内細胞数/腫瘍面積)を算出した。各細胞密度(CD3⁺CD4⁺細胞、CD3⁺CD8⁺細胞、CD204⁺細胞 [M2 マクロファージ]、CD4⁺Foxp3^{high}細胞 [制御性T細胞]、CD4⁺CTLA4⁺細胞、CD8⁺CTLA4⁺細胞、CD4⁺Ki67⁺細胞、CD8⁺Ki67⁺細胞)および腫瘍におけるPD-L1陽性率、CD204⁺細胞におけるPD-L1陽性率、腫瘍におけるKi67陽性率を、それぞれカットオフ値を設定したうえで2群に分け、2群間の無増悪生存期間(PFS)、全生存期間(OS)を比較した。CD4⁺Foxp3^{high}細胞およびCD4⁺CTLA4⁺細胞は、それぞれ陽性細胞が存在すれば陽性群、存在しなければ陰性群とした。その他は、カットオフ値を中央値とした。

(2) 臨床データの解析

臨床データは、炎症性マーカーである好中球/リンパ球比(NLR)、リンパ球/単球比(LMR)、血小板/リンパ球比(PLR)、C反応性蛋白(CRP)に注目し、解析を行った。最良総合効果により奏効

群 (CR、PR、Long SD)と非奏効群 (Short SD、PD)に分け、治療開始前、治療開始 3 週間後、6 週間後の血液検査結果を比較した。SD は SD を維持した期間により、Short SD (6 ヶ月未満)、Long SD (6 ヶ月以上)に分けて解析した。

4 . 研究成果

(1) 治療成績

観察期間中央値は 22 ヶ月、最良総合効果は CR 1 例 (5%)、PR 10 例 (53%)、Long SD 4 例 (21%)、Short SD 1 例 (5%)、PD 3 例 (16%)であった。観察期間中に 9 例 (47%)が増悪、5 例 (26%)が死亡 (全て原病死)した。

(2) 多重免疫組織染色解析システムによる解析

因子ごとに 2 群に分け、PFS、OS を比較したが、全ての因子で統計学的な有意差を認めなかった。

(3) 臨床データの解析

治療開始前では奏効群は非奏効群に比較して、NLR、PLR、CRP は有意に低値であり (それぞれ、 $P = 0.006$ 、 $P = 0.037$ 、 $P < 0.001$)、LMR は有意に高値であった ($P = 0.023$)。治療開始 3 週時点では、NLR、CRP は有意に低値 (それぞれ、 $P = 0.001$ 、 $P = 0.012$)であり、LMR は有意に高値 ($P = 0.016$)であったが、PLR には有意差は認めなかった ($P = 0.102$)。さらに治療開始 6 週時点では CRP は有意に低値であったが ($P = 0.033$)、NLR、LMR、PLR に有意差を認めなかった (それぞれ、 $P = 0.957$ 、 $P = 0.140$ 、 $P = 0.972$)。

(4) 本研究の総括

多重免疫組織染色解析システムによる検討からはニボルマブ・イピリムマブ併用療法の治療効果予測因子は同定されなかった。その理由として、解析症例数が少なかった可能性、観察期間が短かった可能性が挙げられる。臨床データの解析から、NLR、LMR、PLR、CRP は、いずれも治療開始時点での治療効果予測因子となり、さらに、CRP は治療開始後の治療効果予測に有用であることが見出された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 中山 貴之、香川 誠、立花 康次郎、竹下 英毅、矢野 晶大、岡田 洋平、諸角 誠人、川上 理 |
| 2. 発表標題 進行性腎細胞癌に対するニボルマブ・イピリムマブ併用療法の治療効果を予測する炎症性マーカーの検討 |
| 3. 学会等名 第109回日本泌尿器学会総会、2021年12月9日 |
| 4. 発表年 2021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 |
|---------|---------|
|---------|---------|