

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K17329

研究課題名(和文) 進行期乳房外パジェット病における治療効果予測のバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Biomarkers exploration that predicts treatment response in advanced extramammary Paget's disease

研究代表者

平井 郁子(Hirai, Ikuko)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：00594590

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：乳房外パジェット病と有棘細胞癌において、抗PD-1抗体療法前と治療8-9週後の血清を用いがんに関連する247種の分子についてELISA法で評価した。EMPD2例(PR1例、PD1例)のうちPR例ではVCAM-1が増加、IgG、tubulinが減少し、PD例ではtestosterone、IGF-II、MMP-2、IgGが増加した。IgGはPR例で減少、PD例で増加し、SCC7例(PR3例、PD4例)においても同様の傾向がみられた。血清可溶性CD163について、SCC4例においてPR1例で不変、PD3例で増加を示し、抗PD-1抗体療法のバイオマーカーとなる可能性が考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでその希少性ゆえに十分に解析されていない進行期乳房外パジェット病の免疫状態および抗PD-1抗体治療を含む全身化学療法下における治療毎の反応性を適切に表現するバイオマーカーを明らかとすることを目的とし、治療前後の血清を用いた抗体マイクロアレイ(ELISA)を行い、腫瘍免疫の促進および抑制に関連する分子の動態解析をし、臨床効果と比較検討した。抗PD-1抗体療法を実施した症例のうち血清を解析できたのは2例のみであったため、有棘細胞癌においても同様の解析を実施した。少ない症例数のためさらなる症例集積が必要ではあるが、バイオマーカーとなる可能性のある分子を評価することできた点で学術的意義がある。

研究成果の概要(英文)：To explore the biomarker of anti-PD1 therapy for metastatic non-melanoma skin cancer including extramammary Paget's disease (EMPD), we evaluated cancer-related molecules by ELISA (Cancer BioMarker Antibody Array) using pre and post-treatment peripheral blood. The two EMPD cases (1 PR, 1 PD) showed increased VCAM-1 and decreased IgG and tubulin in the PR case, and increased testosterone, IGF-II, MMP-2 and IgG in the PD case. IgG was decreased in the PR case and increased in the PD case, and the same tendency was observed in patients with cutaneous squamous cell carcinoma (cSCC) cases (3 PR and 4 PD). The analysis of serum soluble CD163 in four cSCC patients (1 PR and 3 PD) showed that unchanged in the PR case and increased in all PD cases, suggesting that it may be a biomarker for anti-PD-1 antibody therapy, and further analysis is needed to collect more cases.

研究分野：Dermatology

キーワード：乳房外パジェット病 有棘細胞癌 抗PD-1抗体 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

本研究の対象となる乳房外パジェット病は非メラノーマ上皮系皮膚悪性腫瘍に含まれ、陰部や肛門、腋窩に好発する上皮内腺癌で、進行すると治療抵抗性で死に至る疾患である。高齢者に好発し、発症頻度は10万人あたり0.6人と低いながらも本邦において近年特に増加傾向にある。進行例や遠隔転移例や術後再発例などは一般的に予後不良であるにも関わらず、化学療法の有用性に関しては、その希少性ゆえに施行の有無による生存率の差異を比較したランダム化比較試験は存在せず、進行期乳房外パジェット病に対して承認されている薬剤はない。

新規治療開発として、Programmed death-1(PD-1)を標的とした治療が注目されている。PD-1は活性化および疲弊したT細胞やTreg、B細胞、NK細胞、樹状細胞などに発現する免疫チェックポイントで、PD-1リガンド経路は免疫抑制性補助シグナルであり、担がん時には宿主のがんに対する免疫寛容を誘導する。これらの経路を標的とした抗体療法(抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体)は既にメラノーマをはじめとして複数の悪性腫瘍においてその有効性が証明されている。このように免疫チェックポイント阻害薬の開発が進むなか、各治療効果を予測するバイオマーカーの重要性が増しており、将来的にはバイオマーカーによって各々の治療薬が有効な患者を選択できるようになることが求められる。抗PD-1抗体の効果予測因子として、がん細胞のDNA突然変異数(total mutation burden, TMB)やそれに由来する高免疫原性の腫瘍特異的変異ペプチド抗原(ネオ抗原)の数などがあげられる。非メラノーマ上皮系皮膚悪性腫瘍のうち、有棘細胞癌におけるTMBはメラノーマを上回る値であることが報告されており、乳房外パジェット病におけるTMBについては、一部の症例において有棘細胞癌と同等の値を示すことが報告されている。一方で、乳房外パジェット病に対してPD-1を標的とした治療法は国内外ともに承認されていない。このような現状を解決するために、申請者の研究協力者である船越は、乳房外パジェット病を対象に含む非メラノーマ上皮系皮膚悪性腫瘍への抗PD-1抗体(Nivolumab)療法の第II相試験を計画し、2019年8月より国内多施設共同医師主導治験として開始している。抗PD-1抗体療法の効果を予測するバイオマーカー候補については、これまで他がん腫における研究から、腫瘍細胞ないし腫瘍組織における免疫担当細胞上のPD-L1、T細胞上のPD-1発現や、CD8+T細胞、Th1細胞、Treg、MDSC、TAMの浸潤数などが報告されている。また、遺伝子関連では前述のTMBのほか、マイクロサテライト不安定性(MSI)、PD-L1遺伝子(3'-UTR)、Wnt/カテニンシグナルやIFN- γ 、STING-type I IFN、MAPK、PI3K経路の遺伝子変異などの報告があるが、免疫療法を含む進行期乳房外パジェット病に対する全身療法下の抗腫瘍免疫応答の動態解析(免疫モニタリング)については十分に検討されていない。

2. 研究の目的

本研究は、これまでその希少性ゆえに十分に解析されていない進行期の乳房外パジェット病の免疫状態、および抗PD-1抗体治療を含む全身化学療法下における治療毎の反応性を適切に表現するバイオマーカーを明らかとすることを目的とする。治療前後の患者さんの血清を用いた抗体マイクロアレイ(ELISA)行い、免疫細胞のmigrationに関わるサイトカインや、がん抗原など腫瘍免疫の促進および抑制に関連するタンパクを解析することで、個々の患者の全身的な免疫状態の変化をモニタリングする。さらに、臨床効果などの臨床データと比較検討し、バイオマーカーの候補となる分子を同定する。また、抗PD-1抗体療法の治験において本疾患の症例集積が満たなかった場合は、治験に参加したその他の非メラノーマ上皮系皮膚悪性腫瘍症例において、同様の解析を行う。

3. 研究の方法

全身の免疫状態の変化を解析するために、治療前および開始8週後の末梢血を回収し、プロテインアレイを実施した。抗体マイクロアレイキット(Cancer BioMarker Antibody Array, Full Moon Biosystems)を使用して、血清中の抗腫瘍免疫活性の促進あるいは抑制に働く各種サイトカイン及び関連性を示すタンパク質(可溶性CD抗原、炎症性タンパクなど)等の既知のcancer marker 247種の分子についてELISA法で解析した。具体的には、血清より抽出しビオチン化したタンパク質を三次元ポリマースライドの抗体アレイとインキュベーションし、蛍光標識したストレプトアビジンにて検出し、画像定量化ソフトウェアで分析した。

4. 研究成果

本研究では進行期乳房外パジェット病に対する免疫チェックポイント阻害薬を含む化学療法の免疫モニタリングを実施する計画であった。殺細胞性抗がん剤治療(S-1/DTX療法3例、FP療法2例、DTX単剤療法1例)を実施した6例において治療前および治療開始8-9週後の末梢血を回収し、プロテインアレイを実施した。抗体マイクロアレイキットを用いた解析では、治療奏効4例の一部には治療前後でVEGFR1, androgen receptor, angiopoietin-1 receptor (Tie-2)のsignalが増加する傾向にあり、一方でMMP-2, 10, testosteroneは減少する傾向がみられた。抗PD-1抗体(nivolumab)療法治療前後の解析について、乳房外パジェット病症例で治験に参加し、血清を回収できた症例は2例(部分奏効1例、進行1例)のみであったため、同療法を受けた有棘細胞癌症例(部分奏効3例、進行4例、安定1例)に関しても解析をおこなった。乳房外パジェット病全2例の治療前後において、奏効例ではVCAM-1, IGFBP-3, IGF-1が増加し、AFP, IgG, testosterone, tubulinの減少がみられた。一方、病勢進行例では、testosterone, IGF-

II, IgG, MMP-2が増加し、albuminが減少した。IgGに関しては治療前後において奏効例で減少し、進行例では増加しており、これは殺細胞性抗がん剤療法をしたEMPD症例(部分奏効4例、進行2例)および、抗PD-1抗体療法をした有棘細胞癌症例(部分奏効3例、進行4例)の治療前後の血清においても同様の傾向がみられた。抗体マイクロアレイキットで調べた範囲ではこの他の因子で、奏効例、進行例で相関傾向を示すものはなかった。いずれの疾患も症例数が少なく、今後の集積が望まれる。さらに、メラノーマにおける抗PD-1抗体のバイオマーカーとして報告されている可溶性CD163(ELISA)についても解析した。有棘細胞癌症例(部分奏効1例、安定2例、進行3例)の抗PD-1抗体療法前後の血清において、部分奏効例では不変であったが、それ以外の症例では増加を示し、可溶性CD163はSCCにおいても本治療のバイオマーカーとなる可能性が考えられた。乳房外パジェット病における可溶性CD163の動態解析については今後の症例の集積にあわせて実施する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------