

令和 6 年 6 月 1 日現在

機関番号：32665

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08190

研究課題名(和文) 肺がんにおけるがん抗原特異的自己抗体の同定

研究課題名(英文) Identification of cancer antigen-specific autoantibodies in lung cancer

研究代表者

清水 哲男 (SHIMIZU, Tetsuo)

日本大学・医学部・准教授

研究者番号：00339326

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,300,000円

研究成果の概要(和文)：がん免疫療法を行った進行肺癌患者の治療前と治療後の血清を採取し、プロテインアレイを用いて網羅的に患者血清中の自己抗体を検出した。がん免疫療法が奏効した患者群(奏効群)と奏効しなかった患者群(非奏効群)で自己抗体の発現変動を解析した。プロテインアレイの解析結果より、がん免疫療法の治療効果予測となる自己抗体を十数個選定した。ELISAを用いてこれらの自己抗体を定量的に測定し、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測因子として血清抗p53抗体が同定された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、肺癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測因子は肺癌組織におけるPD-L1発現が多く用いられている。PD-L1の測定には肺癌組織が必要であり、組織採取には気管支鏡検査が必要となる。気管支鏡検査は侵襲が大きいため、繰り返しの測定は困難である。がん微小環境における免疫応答は病勢や治療により修飾され経時的に変動する。そのため治療効果予測にはリアルタイムに測定できるバイオマーカーが必要になる。血清抗p53抗体は血液検査で測定でき、低侵襲かつリアルタイムにがん免疫療法の治療効果予測することが可能になり、今までよりもより最適な治療を選択でき進行肺癌患者の予後の改善に寄与すると考える。

研究成果の概要(英文)：We collected serum samples from advanced lung cancer patients treated with cancer immunotherapy before and after treatment, and detected autoantibodies in patient serum comprehensively using protein arrays. We analysed the expression of autoantibodies in the group of patients who responded to cancer immunotherapy (response group) and the group of patients who did not respond to cancer immunotherapy (non-response group). More than a dozen autoantibodies were selected from the results of protein array analysis as predictors of therapeutic efficacy of cancer immunotherapy; these autoantibodies were quantitatively measured using ELISA, and serum anti-p53 antibodies were identified as predictors of therapeutic efficacy of immune checkpoint inhibitors.

研究分野：肺癌

キーワード：肺癌 血清抗p53抗体 がん免疫療法 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

肺癌は予後不良な疾患であり治療の個別化が必須である。がん免疫療法は肺癌治療において中心的役割を担っているが治療効果が得られるのは一部の患者に限られ、低侵襲で測定できる治療効果予測可能なバイオマーカーが求められている。癌患者血清中には様々な自己抗体が検出され、その中でもがん抗原特異的自己抗体は抗腫瘍免疫応答を負に制御していることが示唆されるが、がん免疫療法において 1)がん抗原特異的自己抗体が抗腫瘍効果に及ぼす影響、2)治療によるがん抗原特異的自己抗体の産生変化、3)自己抗体産生と副作用との関連性、については明らかにされていない。

### 2. 研究の目的

これまでに我々は肺癌患者の血清検体を用いて、がん免疫療法の治療効果予測や副作用の出現に関わる新規自己抗体の探索を行い、プロテインアレイを用いて肺癌患者血清中の自己抗体を網羅的に測定した結果を得ている。本研究では、この結果をもとにがん免疫療法の治療効果を予測することが可能ながん抗原特異的自己抗体の同定を行う。また、免疫チェックポイント阻害薬の副作用発現と自己抗体の関係についても解析する。

### 3. 研究の方法

#### (1) Phase I (自己抗体のプロファイル解析と候補の選定)

プロテインアレイ(HuProt™ Human Proteome Microarray v3.1)は20,000以上のタンパク質を固着化(ヒトプロテオームの約80%を網羅)し、これを用いて患者血清中の自己抗体を網羅的に検出する。これまで我々は、対象患者を治療効果で奏効群(抗腫瘍効果で完全奏効もしくは部分奏効、不変であった患者)と非奏効群(増悪した患者)に分け、免疫チェックポイント阻害薬投与前の血液検体を用いて自己抗体発現を比較検討している(全20例)。その結果、非奏効群においてがん抗原の中でも XAGE や MAGE といったがん精巣抗原に対する特異的自己抗体の発現が亢進していることを発見した。プロテインアレイの結果から治療効果予測の候補となるがん精巣抗原特異的自己抗体を十数程度選定している。

#### (2) Phase II (ELISAによる自己抗体定量法の確立)

解析の対象とする自己抗体の候補について、これら自己抗体の血中濃度を定量化するために独自に自己抗体測定のための ELISA を製作する。候補となる自己抗原のヒスチジン Tag を付加したリコンビナント蛋白を購入し、ELISA プレートに固着化する。それぞれの自己抗原の固着化に最適な濃度、ブロッキング方法、血清希釈率等の最適化の検討を行う。また、自己抗体の定量は Tag に対する抗体を用いて検量を行う。

#### (3) Phase III (治療効果予測可能な自己抗体の検証)

Phase II で確立した ELISA により自己抗体を定量し、がん免疫療法の治療効果(奏効率、無増悪生存期間、全生存期間)との関係について検討する。ROC 曲線を作成し、がん免疫療法の治療効果予測の最適な自己抗体を同定する。

### 4. 研究成果

#### (1) 血清自己抗体における治療効果予測因子の同定

免疫チェックポイント阻害薬を投与した進行肺癌患者の治療前と治療後の血清を採取し、プロテインアレイを用いて網羅的に患者血清中の自己抗体を検出した。この自己抗体の中からがん抗原特異的自己抗体を抽出し、がん免疫療法が奏効した患者群(奏効群)と奏効しなかった患者群(非奏効群)でがん抗原特異的自己抗体の発現変動を解析した。また、治療前と治療後においても発現変動が見られないか検討した。2群間で発現上昇もしくは発現低下した自己抗体を抽出し統計学的検定を行ない、階層型クラスタリング解析、GO 解析(GO slim)、Pathway 解析を行なった。以上の統計学的解析から、がん免疫療法の治療効果予測となるバイオマーカーの候補となるがん抗原特異的自己抗体を十数個選定した。さらに、がん免疫療法の副作用(免疫関連有害事象)について、中等度以上の有害事象が発生した患者群(irAE 群)とそれ以外の患者群(non-irAE 群)で患者血清中の自己抗体の発現変動を比較し、がん免疫療法の副作用(免疫関連有害事象)予測となるバイオマーカーの候補となる自己抗体を十数個選定した。がん免疫療法の治療効果と副作用予測となるバイオマーカー候補の自己抗体に対して、これら自己抗体の血液中濃度を定量的に測定するため自己抗体測定の ELISA を制作した。治療効果予測となるバイオマーカー候補の中で、血清抗 p53 抗体が肺癌に対するがん免疫療法の治療効果に最も影響していた。

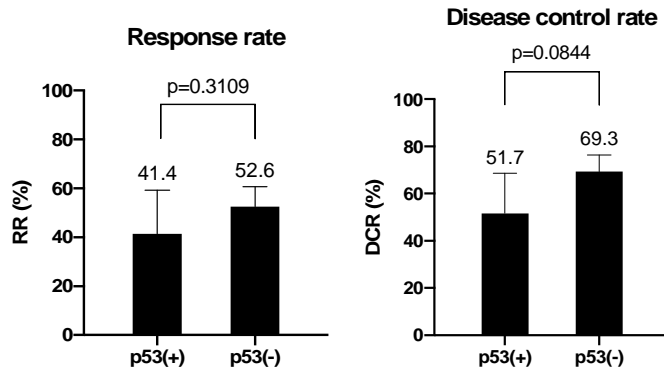
#### (2) 進行肺癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の治療効果と血清抗 p53 抗体の関係

## 方法

2018年11月から2023年3月までに当院で免疫チェックポイント阻害薬を投与した進行肺癌298例。免疫チェックポイント阻害薬(ICI)の投与前と投与後の患者血清を用いて、血清抗p53抗体価をELISAで測定し、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果(奏効度、無増悪生存期間、全生存期間)と血清抗p53抗体価の関係について検討した。

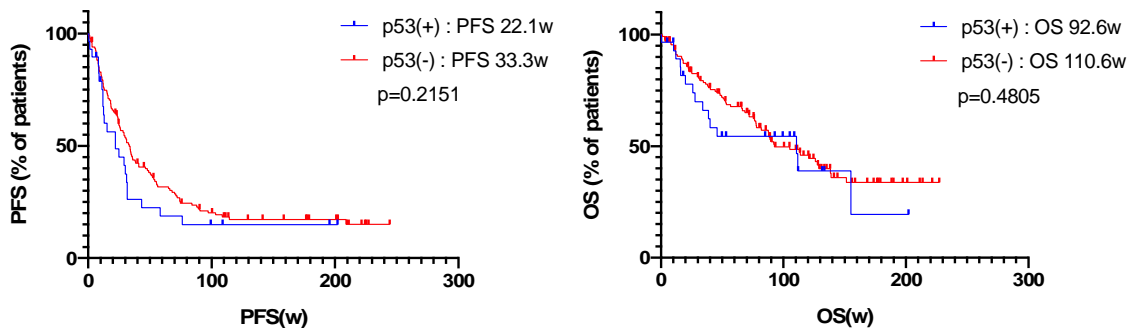
### ICIの奏効率とp53抗体の関係

血清抗p53抗体価の正常上限をカットオフ値として、免疫チェックポイント阻害薬の投与前の血清抗p53抗体価でp53抗体陽性群とp53抗体陰性群に分けた。p53抗体陽性群はp53抗体陰性群に比べ、奏効率(RR)、病勢コントロール率(DCR)ともに低い傾向を認めた。



### ICIの生存期間とp53抗体の関係

p53抗体陽性群はp53抗体陰性群に比べ、無増悪生存期間(PFS)、全生存期間(OS)とも短縮する傾向を認めた。



## 考察

治療前の血清抗p53抗体価は患者背景因子との相関は認めなかった。抗p53抗体陽性群は陰性群に比べ、奏効率や病勢コントロール率は低く、無増悪生存期間や全生存期間は短縮する傾向があり、治療前の血清抗p53抗体価は免疫チェックポイント阻害薬の治療効果に影響している可能性が示唆された。

また、治療前に比べ治療後の血清抗p53抗体価が低下した群では、低下しなかった群に比べ免疫チェックポイント阻害薬の治療効果が高かった。治療後に血清抗p53抗体価が低下した群は免疫チェックポイント阻害薬に細胞傷害性抗癌剤を併用した割合が高く、細胞傷害性抗癌剤が血清抗p53抗体価の低下に影響した可能性が示唆された。

以上より、血清抗p53抗体は免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測に有用であると考えられる。

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 清水哲男
2. 発表標題 進行肺癌に対する免疫チェックポイント阻害薬の治療効果と血清抗p53抗体の関係
3. 学会等名 第64回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2023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
研究分担者	中川 喜子 (NAKAGAWA Yoshiiko) (10839228)	日本大学・医学部・助教  (32665)	
研究分担者	権 寧博 (GON Yasuhiro) (80339316)	日本大学・医学部・教授  (32665)	

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
---------	---------