

TR 事業研究奨励助成金

研究成果報告書 作成要領

【1】形式・内容

形式：A4版（縦置き；横書き） 20枚以内（図表を含む）

内容：(1) 期間中の研究について

[構成]

- 1) 要旨
- 2) 序
- 3) 実験方法
- 4) 結果
- 5) 考察

(2) 今回の研究成果を、今後の研究にどのように役立てたいと考えているか

【2】提出期限

令和5年4月30日までに提出すること

(注意)

上記研究成果報告書は、研究指導者の承認を得て、公益財団法人がん研究振興財団宛**郵送**にて提出して下さい。

[報告書送付先]

〒104-0031

東京都中央区京橋2-8-8 新京橋ビル5階

公益財団法人がん研究振興財団 HOPE 事業事務局

Tel：03-6228-7297

令和4年度 TR 事業研究奨励助成金

研究成果報告書

2024 年 1 月 4 日 提出

公益財団法人 がん研究振興財団
理事長 堀田 知光 殿

報告者氏名： 高森 信吉

研究課題：アンメットメディカルニーズに応える新規薬剤開発に関する研究
(テーマ) 進行肺癌患者のサルコペニアに対する骨格筋産生サイトカインに

着目した新規治療戦略の開発

研究期間： 自 2022 年 4 月 1 日
至 2023 年 3 月 31 日

研究指導者：氏名 竹中 朋祐

公益財団法人 がん研究振興財団

(1)期間中の研究について

1)要旨

進行中の非小細胞肺癌(NSCLC)患者では、筋肉関連サイトカイン(マイオカイン)の分泌が注目されているが、免疫チェックポイント阻害薬(ICI)の効果との関係は不明である。初回療法としてICIを受けた進行性NSCLC患者の観察研究で、123人の患者から血液サンプルを収集し、15種類のマイオカインをMILLIPLEX® map Human Myokine Panelで測定した。9種類のマイオカインが測定可能であり、FSTL-1とFGF21の2つが単変量解析において、無増悪生存期間(PFS)が有意に関係した。PFSの多変量解析では、9種類のマイオカインの中で、FSTL-1のみが独立した予測因子であった。FSTL-1は、ICI治療を受ける進行NSCLC患者のPFSと有意に関係しており、今後、骨格筋量減少(サルコペニア)の治療標的となる可能性がある。

2)序

本邦における肺がんの罹患数および死亡者数は増加を認めており、2021年の肺がん罹患患者数は約127400人、死亡患者数は約75000人と予測されている。また、患者の高齢化も進んでおり肺癌合同登録委員会第7事業の報告によると、外科切除を受けた患者の約半数は70歳以上であった(Okami J, et al. J Thorac Oncol. 2019)。高齢者に対する治療介入の増加に伴い、併存疾患を有する患者や、サルコペニア、低栄養状態にある患者も増加していると考えられ、サルコペニアは、肺がん患者の約2人に1人に認めるとの報告もある(Baracos, VE, et al. Am J Clin Nutr. 2010)。患者の活動性の低下により、低栄養やサルコペニアを有する割合が高いと想定される。サルコペニアは非小細胞肺癌を含む様々な癌腫で予後に影響を与えると報告されており、(Collins J, et al. BMJ Open. 2014)、非小細胞肺癌とサルコペニアの関連を検討したメタ解析によると、全生存における予後不良因子であることが報告されている(Yang, et al. Chest. 2019)。また、サルコペニアの存在は、非小細胞肺癌切除患者では合併症を増加させるといわれており(Nakamura R, et al. J Thorac Oncol. 2018)、非小細胞肺癌の治療成績向上には、サルコペニアが癌の進展や治療後のアウトカムにどのような機序で影響を与えているかを検討し、治療介入の可能性を検討する必要がある。

マイオカインとは骨格筋から分泌される生理活性物質の総称であり、骨格筋を内分泌臓器の1つとして捉える認識が広まりつつある。これまで数十個のマイオカインが報告されており、腫瘍進展を抑制する働きや、腫瘍微小環境に働きを持つサイトカインの報告もみられる(Shintani Y, et al. J Thorac Oncol. 2019)。マイオカインの一種であるミオスタチンの抑制は、ラパマイシン標的蛋白質(mammalian target of rapamycin:mTOR)やインスリン様成長因子-1(insulin-like growth factor-1:IGF-1)などの細胞増殖系シグナルを活性化し、動物実験では、この経路を阻害することが寿命の延伸に繋がると報告されている(Blagosklonny MV, et al. Oncotarget. 2017)。また、マイオカインの一種であるアイリシンにおいては、COPD患者の血中アイリシン濃度が健常人にくらべて低下していること、また運動により改善することが報告されている(Sugiyama Y, et al. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis. 2017)。骨格筋の減少はマイオカインの分泌に影響を与えていると考えられ、骨格筋量によりマイオカイン分泌が変化する可能性が示唆される。

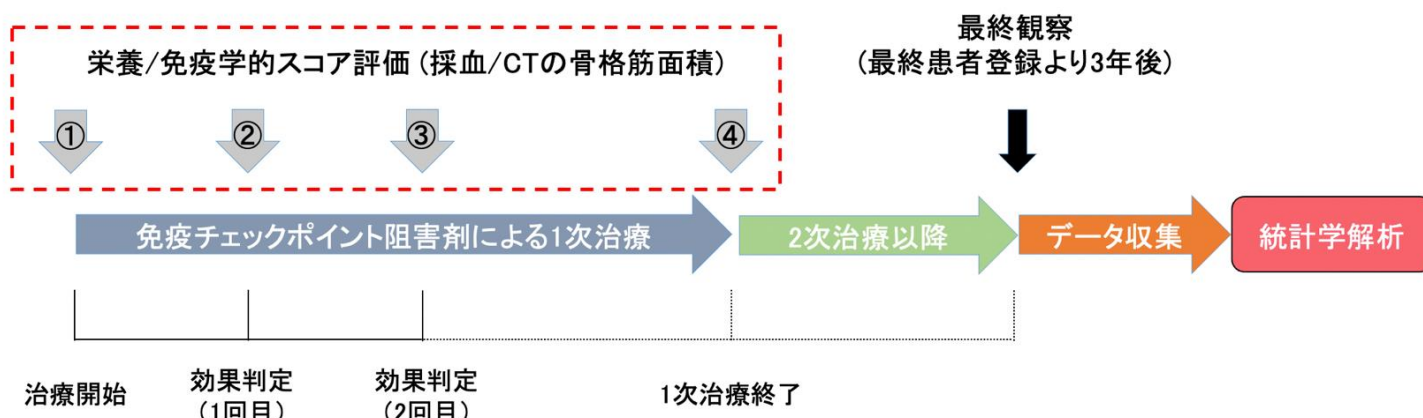
当科においては、以前からサルコペニアの研究を継続してきた。非小細胞肺癌切除例において、術前にサルコペニアを認める患者は、サルコペニアを認めない患者と比較し、有意に肺切除後の予後が悪いという報告を行った(Suzuki Y, et al. Lung Cancer. 2016)。また、術前の骨格筋量と比較し、手術の1年後に骨格筋量が減少している患者は予後不

良との報告を行った(Takamori S, et al. Ann Thorac Surg. 2020)。国内外のサルコペニアの研究により、骨格筋量から産生されるマイオカインが、非小細胞肺癌患者の予後に影響を与える可能性が示唆されている。しかしながら、進行非小細胞肺癌患者において、マイオカインと免疫治療効果の関係を検討した報告はない。

3)実験方法

本研究は、国立病院機構ネットワーク研究である、全国多施設前向き観察研究「根治照射不能な進行非小細胞肺癌患者における免疫チェックポイント阻害剤の効果予測因子としての栄養/免疫学的指標の臨床的意義に関する前向き観察研究(ICI-PREDICT study)」の附随研究として行った(Takamori S, et al. PLoS ONE. 2021)。本研究の適格基準は、以下の通りである。

- ・病理学的(細胞診もしくは組織診)に NSCLC と診断。
- ・根治照射不能な進行 NSCLC。
- ・ICI 単剤もしくは免疫チェックポイント阻害剤を含むレジメンによる治療を 1 次治療として受ける症例。
- ・腫瘍細胞の PD-L1 発現を評価できる患者。



研究の流れは、以下のごとくである。

1. 本研究に同意を得られた患者を登録し、患者の背景因子として、性別、身長、体重、併存疾患、既往歴、合併症、PS(ECOG)、喫煙歴を登録。
2. 血液検体を採取し、一般的な血算、生化学、免疫検査、マイオカインを測定。治療開始前に1回10mlの血液を採取、保存し、フィルジェン株式会社に送付して各種マイオカインを測定する。
3. 各種マイオカインと無増悪生存期間の関係を検討する。

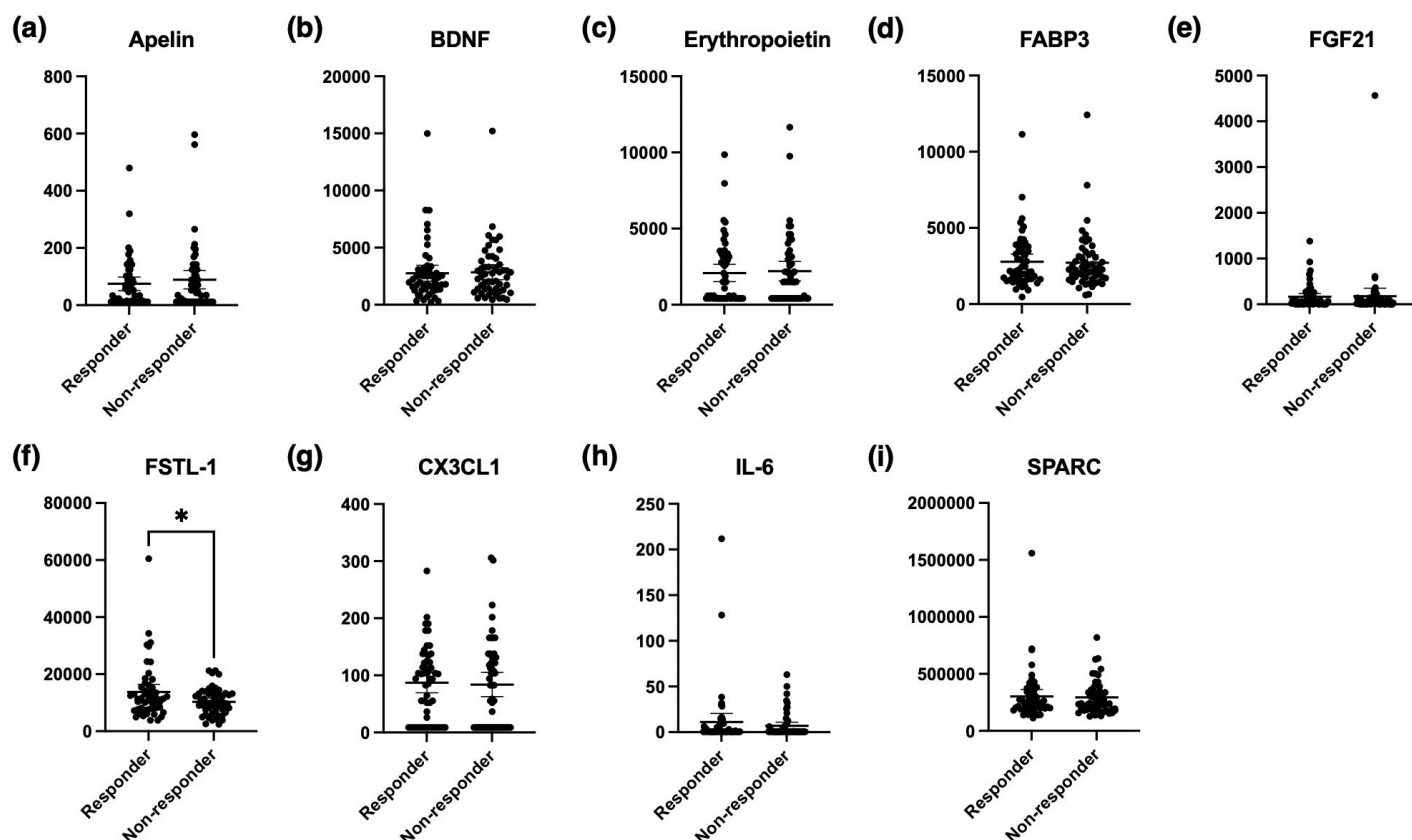
＜マイオカイン測定: 網羅的血清中タンパク質発現解析(Luminex法)＞

マイオカインの測定は、MILLIPLEX® map Human Myokine Panelを用いて網羅的にを行った。Luminex法は蛍光染色されたマイクロビーズを用い、フローサイトメリーの原理により多数のタンパク質発現を同時に測定可能としたプラットフォームである。微量なサンプルでも多くのタンパク質発現が解析できることが特徴で、血液検体を用いる場合は血清40mL程度で50種類以上のタンパク質(サイトカイン、血管新生因子、成長因子関連タンパク)発現を解析可能である。この方法を用いて、代表的なマイオカインを測定した。測定した具体的なマイオカインは、Apelin、Brain-derived neutrophilic factor、Erythropoietin、Fatty acid-binding protein 3、Fibroblast growth factor 21 [FGF21]、Irisin、Follistatin-related protein 1 [FSTL1]、CX3CL1、Interleukin-6、Interleukin-15、Leukemia inhibitory factor、Myostatin、Oncostatin M、Musclin、Secreted protein acidic and rich in cysteineの15種類である。

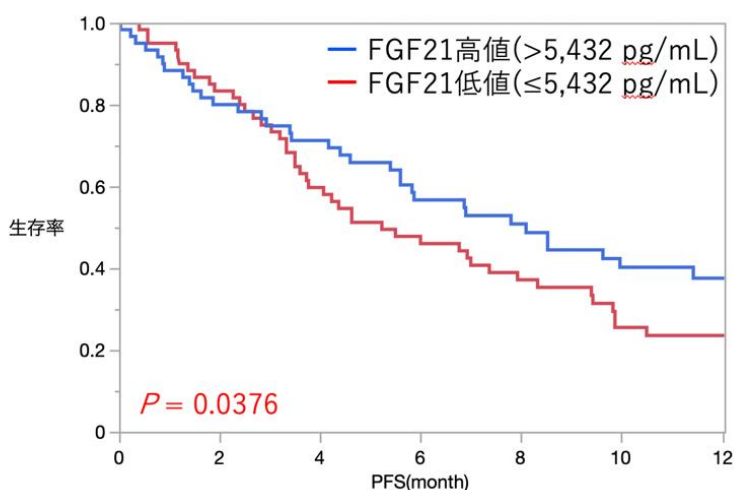
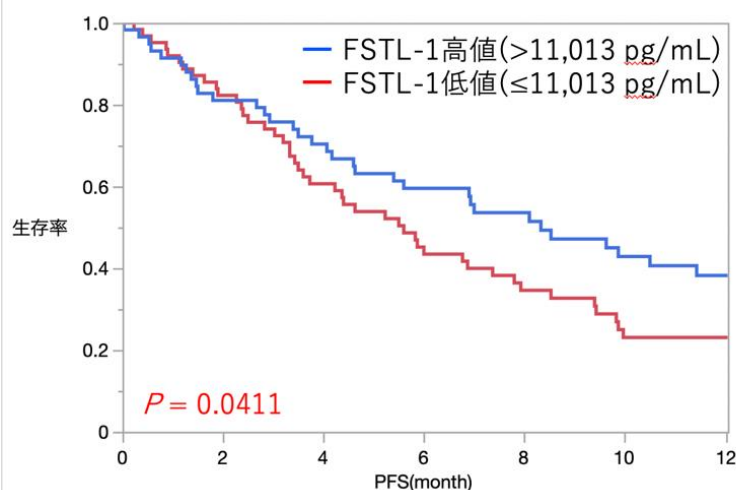
4)結果

本研究は、探索的な研究である事から統計的な例数設計は行わなかったが、年間症例数や同意取得率などを考慮して 100 例を目標に症例集積を行った。その結果、実際には 123 例を集積した。

Irisin、Interleukin-15、Leukemia inhibitory factor、Myostatin、Oncostatin M、Musclin の 6 種類のマイオカインは感度下限以下であったため、残りの 9 種類のマイオカインを解析対象とした。1次治療に奏効が得られた群(Responder 群)と得られなかった群(Non-Responder 群)に分けると、Responder 群では、FSTL-1 が有意に高値であり($P=0.0411$)、その他のマイオカインに有意差を認めなかった(下図参照)。



各中央値をカットオフ値に設定すると、FSTL-1($>11,013$ pg/mL)と FGF21($>54,32$ pg/mL)が高値の患者は、低値の患者よりも無増悪生存期間(PFS)が有意に長かった(それぞれ $P=0.0411$ 、 $P=0.0376$)。

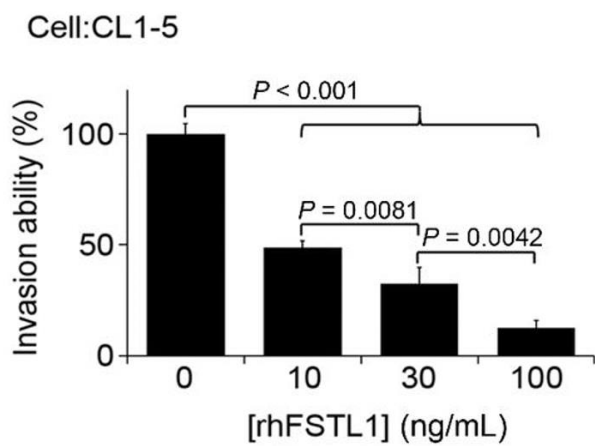
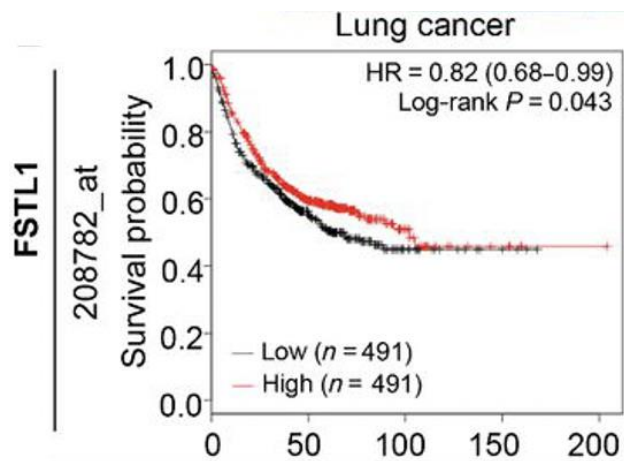


無増悪生存期間の多変量解析では、Performance status ≥ 1 ($P = 0.0008$)、PD-L1 ($P = 0.0018$ 、 $P = 0.5045$)、FSTL-1 ($P = 0.0468$)が独立した予測因子であった。

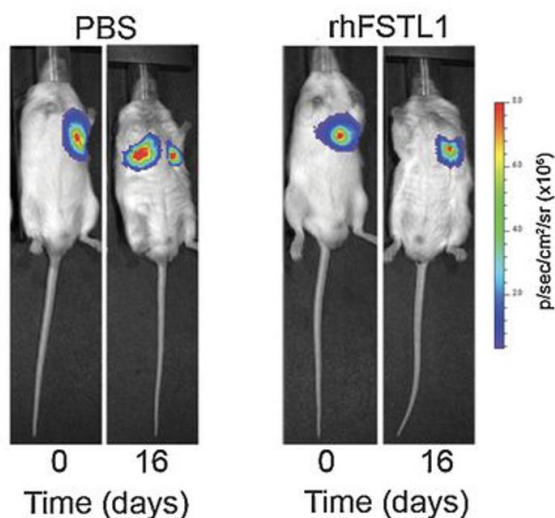
因子		単変量解析	多変量解析
		ハザード比(95%信頼区間), P 値	ハザード比(95%信頼区間), P 値
年齢	連続変数	1.01 (0.99–1.03), 0.5197	
性別	男性	1.04 (0.63–1.72), 0.8702	
	女性 (Ref)		
BMI	連続変数	0.99 (0.93–1.05), 0.7542	
Performance status	≥ 1	1.71 (1.13–2.61), 0.0120	2.08 (1.36–3.20), 0.0008
	0 (Ref)		
喫煙歴	なし	1.32 (0.72–2.42), 0.3766	
	あり (Ref)		
組織型	その他	0.99 (0.65–1.51), 0.9761	
	腺癌 (Ref)		
PD-L1	$\geq 50\%$	0.47 (0.27–0.82), 0.0077	0.41 (0.23–0.72), 0.0018
	1–49%	1.30 (0.80–2.11), 0.2828	1.18 (0.73–1.91), 0.5045
	0% (Ref)		
プレドニン内服	≥ 10 mg	4.05 (1.25–13.18), 0.0200	
	< 10 mg (Ref)		
Apelin	高値	0.72 (0.48–1.10), 0.1297	
	低値 (Ref)		
BDNF	高値	0.96 (0.64–1.46), 0.8654	
	低値 (Ref)		
Erythropoietin	高値	0.78 (0.51–1.19), 0.2445	
	低値 (Ref)		
FABP3	高値	1.11 (0.73–1.68), 0.6262	
	低値 (Ref)		
FGF21	高値	0.63 (0.41–0.96), 0.0319	
	低値 (Ref)		
FSTL-1	高値	0.67 (0.44–1.02), 0.0594	0.64 (0.42–0.99), 0.0468
	低値 (Ref)		
CX3CL1	高値	0.98 (0.65–1.48), 0.9128	
	低値 (Ref)		
IL-6	高値	1.02 (0.66–1.58), 0.9241	
	低値 (Ref)		
SPARC	高値	0.88 (0.58–1.34), 0.5615	
	低値 (Ref)		

5)考察

本研究の結果、骨格筋から産生されるマイオカインの1つである FSTL-1 の高値が、一次治療として ICI を投与された進行非小細胞肺癌患者の良好な臨床転帰と有意に関連することが分かった。FSTL-1 は、肺の器官形成に重要な役割を果たしており、宿主免疫細胞浸潤と相関するマイオカインとして知られている (Chiou J, et al. Cancer Res. 2019)。Chiou らは、FSTL-1 の低下が、非小細胞肺癌患者の不良な臨床転帰と関連する事 (左下図参照)、および FSTL-1 の発現が肺癌細胞の転移能と負の相関を示す事を報告した (右下図参照)。



また、同所性動物モデルにおいて、FSTL-1 を投与する事で肺癌細胞の転移や増悪を効果的に阻止できたと報告されている(下図参照)。我々の結果は、これらの過去の報告の内容を支持する結果であった。



(2)今回の研究成果を今後の研究にどのように役立てたいと考えているか

本研究により、一次治療として ICI を投与される進行非小細胞肺癌患者において、FSTL-1 は有意に無増悪生存期間と関係する事が示唆された。FSTL-1 は、骨格筋から産生されるマイオカインの1つであることから、骨格筋減少(サルコペニア)の患者に対して、FSTL-1 を補充するなど、新たな治療戦略に繋がる可能性がある。ただし、本研究では FSTL-1 と免疫学的な腫瘍微小環境の関係については検討できていないため、今後は手術検体を用いて FSTL-1 が有意に無増悪生存期間と関係した生物学的背景をまず明らかにしたい。