

研 究 報 告 書
令和 2 年度 : A 課題

2022 年 5 月 31 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 がん研有明病院 乳腺内科

住 所 東京都江東区有明 3-8-31

研究者氏名 小 林 隆 之



(研究課題)

ヒトにおける CDK4/6 阻害剤のオフターゲット効果としての抗腫瘍免疫活性化能の評価と新規免疫療法の開発

令和 3 年 3 月 1 日付助成金交付のあった標記 A 課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【研究背景と目的】

乳癌の約70%はエストロゲン受容体(Estrogen receptor; ER)陽性であり内分泌療法は最も重要な治療である。細胞周期制御の破綻は癌の特徴の一つであり、これをターゲットとするCDK4/6阻害剤が開発され、ER陽性再発乳癌において内分泌療法にCDK4/6阻害剤を上乗せする事による生存期間の延長が認められ現在の標準治療となっている。

ER陽性乳癌における免疫療法の効果は低く、遺伝子変異量(tumor mutation burden)が少ないとされているが、いくつかの研究グループにより、マウスモデルにおいてCDK4/6阻害剤が抗腫瘍免疫を活性化し、CDK4/6阻害剤への免疫療法(抗PD-1/PD-L1抗体)の相乗効果が報告されている。しかし、いまだヒトにおいてCDK4/6阻害剤と抗腫瘍免疫応答との明確な関連は報告されていない。

本研究では「ヒトにおけるCDK4/6阻害剤の抗腫瘍効果の一部はオフターゲット効果として抗腫瘍免疫応答を介している」との仮説たて、CDK4/6阻害剤が使用された患者における全身的および局所的な免疫状態を解析し、ER陽性乳癌患者におけるCDK4/6阻害剤併用複合免疫療法開発の一助となることを目的とした。

【研究方法】

CDK4/6阻害剤を使用する患者を対象とした前向き臨床研究を行い、以下検討項目を実施する。

- ① CDK4/6阻害剤投与開始前、および開始後に経時的に末梢血を採取・保存し、フローサイトメトリーによる末梢血中免疫細胞分画の経時的解析。
- ② CDK4/6阻害剤投与開始以前に採取された乳癌組織を用い多重免疫組織化学染色法による腫瘍組織内免疫細胞浸潤の定量的解析。

【研究結果】

本研究実施のための研究計画書「乳癌患者の標準治療前後における患者免疫病態の解析」は2021年9月に院内研究倫理審査委員会にて承認され、同年10月より患者登録が開始された。2022年3月末時点で計9名が登録された。

症例集積状況



*当初年間15例の症例集積を見込んでいたが研究開始が遅れたため、年度末での登録症例数が予定のマイルストーンに到達しなかった。症例集積の速度は順調であり引き続き症例集積を継続する。

多重免疫組織化学染色法による腫瘍組織内免疫細胞浸潤の定量的解析
染色基本パネル（8色抗体セット）を決定し、これに用いる各抗体の至適染色条件を検討し、賦活化・抗体濃度を決定した。

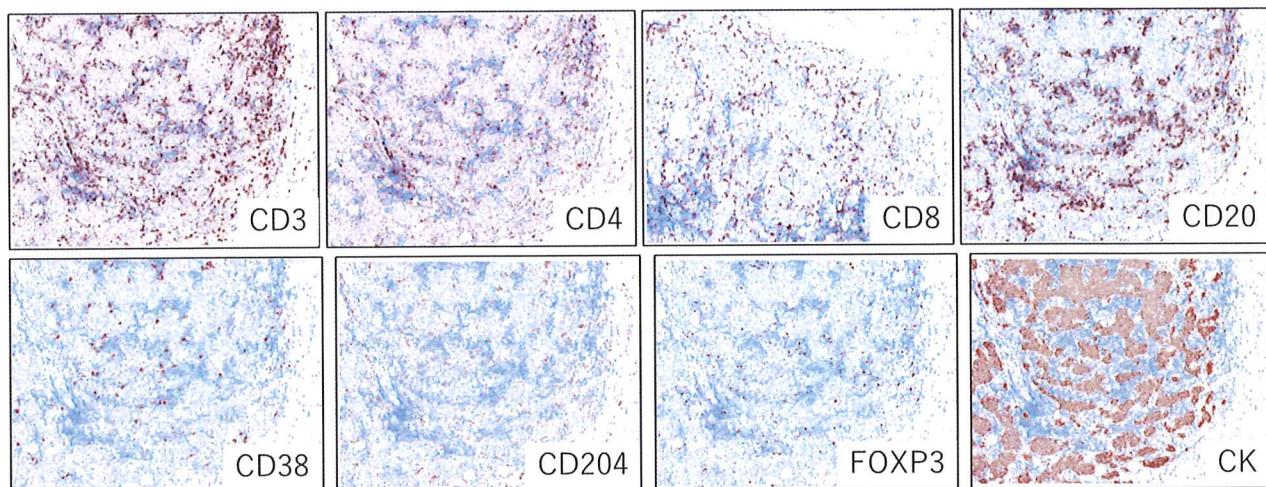
・解析機器

PhenolImager HT Vectra Polaris

・染色パネル

CD3、CD4、CD8、CD20、CD38、CD204、Foxp3、CK

・染色例



フローサイトメトリーによる末梢血中免疫細胞分画解析

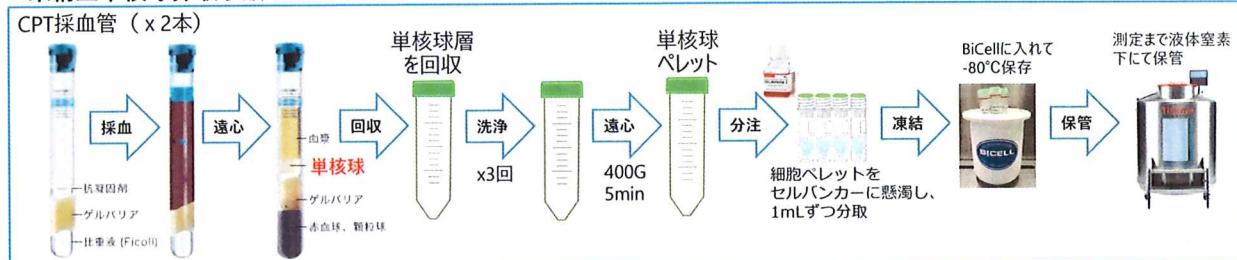
染色基本パネル（27色抗体セット）を決定し、健常人末梢血単核球を用いてバリデーション（抗体濃度、蛍光強度、蛍光補正などの検討）を行った。

・解析機器

BD FACSymphony™ A3 フローサイトメーター

・検体処理

<末梢血単核球採取手順>

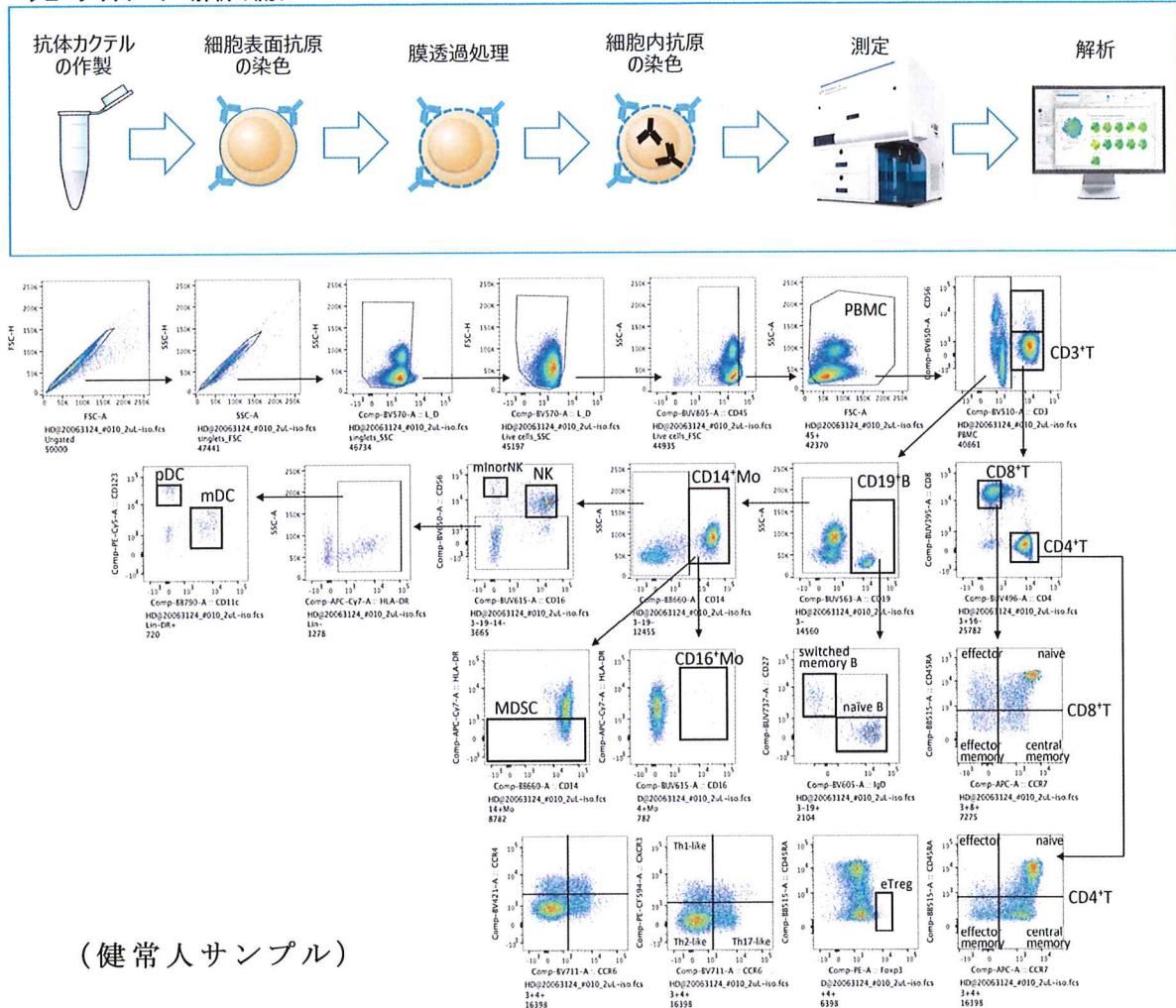


・解析表面マーカー

CD3、CD4、CD8、CD11c、CD14、CD16、CD19、CD27、CD28、CD38、CD45、CD45RA、CD56、CD86、CD123、CCR4、CCR6、CCR7、CXCR3、IgD、CTLA-4、PD-1、PD-L1、Foxp3、Ki67、HLA-DR、Live/Dead

・末梢血を用いた免疫細胞分画解析

<フローサイトメーター解析の流れ>



【今後の展望】

がん免疫療法の開発により多くの癌種において予後改善がみられている。本研究により、CDK4/6 阻害剤の抗腫瘍効果が、細胞周期制御以外の機序、つまり抗腫瘍免疫応答の活性化により起こっていることが証明出来れば、今後 ER 陽性乳癌における CDK4/6 阻害剤 + 免疫療法剤による複合免疫療法の一助となる可能性がある。

腫瘍免疫研究において、局所における癌微小環境内の免疫応答の詳細な研究により様々なことが明らかとなってきているが、一般臨床においては局所癌組織検体の採取は困難なことが多く、また経時的な採取はさらに難しい。本研究では、癌組織内の局所免疫状態と、末梢血中免疫細胞解析による全身的免疫状態を比較検討し、末梢血での抗腫瘍免疫状態を評価することの可能性を検討する。このようなアプローチは今後の一般臨床への応用が期待される所である。当初の予定より半年遅れて研究が開始となつたが、症例集積は順調に進んでいる。また解析方法に関する validation は終了している。本研究は 2 年間で 30 例の登録を見込んでおり、15 例目が登録された段階で中間解析を実施する予定である。

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に心より感謝申し上げます。