

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

## I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業  
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) 免疫チェックポイント阻害剤反応性を考慮したがん免疫微小環境とそれを反映する血液因子の解析による免疫制御分子の同定と制御法の開発  
(英語) Identification of diagnostic and therapeutic targets through analyses of samples from patients treated with immune-checkpoint inhibitors and development of their modulation strategies
- 研究開発担当者 (日本語) 学校法人慶應義塾 慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所  
細胞情報研究部門 教授 河上 裕
- 所属 役職 氏名： (英語) Keio University School of Medicine・Institute for Advanced Medical Research, Division of Cellular Signaling・Professor・Yutaka Kawakami
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

本研究では、悪性黒色腫と肺がんの抗 PD-1 抗体治療における治療効果予測バイオマーカーと治療標的の同定、さらにその制御法の検討を目標とし、臨床検体を用いた解析を行った。

本研究実施のために必要な臨床検体を収集・保存するために、悪性黒色腫と肺がん患者で抗 PD-1 抗体治療症例において、多施設共同臨床研究を計画し、倫理審査委員会の承認が得られた計画から、主に血液検体の収集を開始し、70 症例以上を収集、保存し、可能な症例では治療効果の判定を行った。また、未治療腫瘍組織の解析のために、肺がんと悪性黒色腫の手術症例 100 例以上を収集、保存した。

新規のバイオマーカー解析技術の開発のために、血液中の各種エクソソームの濃縮・分離技術を開発・評価し、悪性黒色腫や肺がん、少量の血液を用いて血液全エクソソームやがん細胞由来エクソソームの測定評価が可能であることを明らかにした。血液中の循環がん細胞の測定評価では、異なる循環がん細胞解析回収装置を、ヒトがん細胞を用いて検討したが、回収効率や回収量は十分でなく、本研究における採血量で、他の測定項目と同時に循環がん細胞を測定するには課題があることが判明した。

臨床検体を用いた診断・治療標的の同定のために、悪性黒色腫の抗 PD-1 抗体治療症例ですでに治療効果が判定された症例において、末梢血中サイトカイン・ケモカインを測定したところ、治療前値で 2 種類、治療 7 週後の変化で 2 種類の分子で、PR 症例と PD 症例で差が認められ、今後の症例数を増やした解析により、予後予測バイオマーカーとなる可能性を

検証予定である。肺がんでは各種免疫細胞の免疫染色法と網羅的遺伝子解析法を用いて、肺扁平上皮がん・腺がん、喫煙・非喫煙で特徴的な免疫状態が検出され、これらは、抗 PD-1 抗体などの免疫療法の予後予測バイオマーカーとなる可能性が示唆された。

In this study, to identify biomarkers and therapeutic targets for melanoma and lung cancer patients who are treated with anti-PD-1 Ab, we have collected and evaluated various clinical samples.

To collect and preserve clinical samples to accomplish this study, we have planned various collaborative studies with multiple departments and institutions. After approval by ethics committees in each institution, we began to collect clinical samples, mainly blood samples, and so far collected and preserved more than 70 samples from patients with melanoma or lung cancers. We have evaluated responses to anti-PD-1 Ab therapy in some patients. In addition to the clinical samples from patients treated with anti-PD-1 Ab, we obtained surgery excised tumor samples from patients with lung cancer or melanoma before other cancer therapies to evaluate immunopathology of tumor tissues.

To develop new measuring methods for biomarker identification, we have attempted to set up new enrichment and separation techniques for various exosomes in peripheral blood. We have developed evaluation methods for total and cancer cell derived exosomes from a small amount of blood of patients with melanoma and lung cancer. To evaluate circulating tumor cells (CTCs), we have evaluated multiple machines to measure CTCs. However, we found some difficulties to reliably measure CTCs from a limited amount of blood available in this study.

To identify targets using clinical samples for development of new diagnostic and therapeutic strategies, we measured multiple cytokines and chemokines in peripheral blood of melanoma patients who were treated with anti-PD-1 Ab and their clinical responses have already been determined, and found that 2 cytokines and chemokines at pretreatment and other 2 cytokines and chemokines at 7 weeks after the therapy were different between responders (PR) and non-responder (PD), indicating that they are possible biomarkers to predict clinical outcome following anti-PD-1 Ab therapy. We plan to confirm these factors by evaluating more samples in the future. We have evaluated immune-status of tumor tissues obtained from patients with lung cancer using immunohistochemical and gene expression analyses, and found some cells and molecules responsible for the differential immune-microenvironments in non-small cell lung adenocarcinomas and squamous cancers with or without smoking habit, indicating that they are possible candidates for biomarkers predicting responses to immunotherapies including anti-PD-1 Ab therapy.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 8件）

1. Kinoshita T, Muramatsu R, Fujita T, Nagumo H, Sakurai T, Noji S, Takahata E, Yaguchi T, Tsukamoto N, Kudo-Saito C, Hayashi Y, Kamiyama I, Ohtsuka T, Asamura H, Kawakami Y. Prognostic value of tumor-infiltrating lymphocytes differs depending on histological type and smoking habit in completely resected non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 27(11):2117-2123,2016
2. Hayashi H, Chiba Y, Sakai K, Fujita T, Yoshioka H, Sakai D, Kitagawa C, Naito T, Takeda K, Okamoto I, Mitsudomi T, Kawakami Y, Nishio K, Nakamura S, Yamamoto N, Nakagawa K, A randomized phase II study comparing nivolumab with carboplatin-pemetrexed for patients with EGFR mutation-positive nonsquamous non-small cell lung cancer who acquire resistance to tyrosine kinase inhibitors not due to a secondary T790M mutation: rationale and protocol design for the WJOG8515L study, *Clinical Lung Cancer*, in press
3. Yaguchi T, and Kawakami Y. Cancer-induced heterogeneous immunosuppressive tumor microenvironments and their personalized modulation. *Int. Immunol.*28(8):393-399,2016
4. Fukuda K, Funakoshi T, Sakurai T, Nakamura Y, Mori M, Tanese K, Tanikawa A, Taguchi J, Fujita T, Okamoto M, Amagai M, Kawakami Y. Peptide-pulsed dendritic cell vaccine in combination with carboplatin and paclitaxel chemotherapy for stage IV melanoma. *Melanoma Research.*2017 [Epub ahead of print]
5. Inozume T, Yaguchi T, Furuta J, Harada K, Kawakami Y, Shimada S. Melanoma cells control anti-melanoma CTL Responses via interaction between TIGIT and CD155 in the effector phase. *J Invest Dermatol.* 136(1):255-63,2016
6. Mori M, Funakoshi T, Kameyama K, Kawakami Y, Sato E, Nakayama E, Amagai M, Tanese K. Lack of XAGE-1b and NY-ESO-1 in metastatic lymph nodes may predict the potential survival of stage III melanoma patients. *J Dermatol.* 2017 [Epub ahead of print]
7. Xu Z, Shioda S, Jinushi M, Kawakami Y, Ohtaki H, Wang S, Zhao X, Liu Y, Zhou D, Guo Y. Role of the autonomic nervous system in the tumor micro-environment and its therapeutic potential. *Curr Pharm Des.* 2016 [Epub ahead of print]
8. Kawakami Y, Popivanova B, Nuchsupha S, Hayakawa T, Nakamura K, Nagumo H, Katano I, Kinoshita t, Tsubota k, Kamijuku h, Kawamura N, Miyazaki J, Satomi R, Sugiyama J, Nishio H, Noji S, Kudo-Saito C, Tsukamoto N, Sakurai T, Fujita T, Yaguchi T. Personalized Cancer Immunotherapy: Immune Biomarkers and Combination Immunotherapy. in "Immunotherapy of Cancer: An Innovative Treatment Comes of Age" Eds: Yoshiyuki Yamaguchi, Springer Japan. 349-358,2016

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

国際学会

1. Kawakami Yutaka, Cancer Immunology and Immunotherapy, Current Trends in Immunology (Tokyo), 2017/2/18, 招待, Oral
2. Kawakami Yutaka, Immune-checkpoint blockade and beyond - Understanding and modulation of human tumor immune-environments, NUS-KEIO joint scientific symposium, National University of Singapore(Singapore), 2017/1/11, 招待, Oral
3. Kawakami Yutaka, Looking for the right biomarker for immune checkpoint therapy in cancer. , ESMO ASIA 2017, Suntec Singapore Convention & Exhibition Centre, Singapore, 2016/11/19, 招待, Oral
4. Kawakami Yutaka, Recent Progress of Cancer Immunology and Immunotherapy: Towards Personalized Combination Immunotherapy., International Symposium on Translational Medicine, Samsung Medical Center, Seoul, South Korea, 2016/11/18, 招待, Oral

5. Kawakami Yutaka, Current Progress and Future Perspectives in Cancer Immunotherapy: Development of Personalized Combination Immunotherapy. The 5<sup>th</sup> JCA-AACR Joint Conference, (Chiba) 7/15/2016, 招待, Oral
6. Kawakami Yutaka, Candidates for new biomarkers in the immune-checkpoint blockade, Asian Scientific Input Engagement, 2016/11/3, Kyoto, 招待, Oral
7. Kawakami Yutaka, Individual differences of cancer immune-environments and their modulation for immunotherapy, TOC/MDA joint conference “Cancer Immunology and Immunotherapy: Recent Progress and Future Perspectives” Tokyo, 2016/5/14, 招待, Oral

#### 国内学会

1. 河上裕 新たな時代を迎えたがん免疫療法 現状と展望 第 16 回日本再生医療学会 2017/3/9, 招待, Oral
2. 河上裕, なぜ複合的がん免疫療法なのか-多彩なアプローチと可能性-, シンポジウム がん免疫療法 2017 年度 -複合化と個別化の科学基盤とレギュレーション-, 東京大学 伊藤謝恩ホール (東京都文京区), 2017/2/23, 招待, Oral
3. Kawakami Yutaka, Recent Progress of immunotherapies for melanoma - Immune-checkpoint blockade, T cell Based adoptive cell therapy and beyond-, The 41st Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, Sendai International Center (Sendai city, Miyagi), 2016/12/11, 招待, Oral
4. Kawakami Yutaka, Current Progress and Future Perspectives in Cancer Immunotherapy - Immune-checkpoint blockade, T-Cell based adoptive cell therapy and beyond -, 第 45 回日本免疫学会総会・学術集会, 沖縄コンベンションセンター、ラグーナ ガーデンホテル (沖縄県宜野湾市), 2016/12/7, 招待, Oral
5. 河上裕 新たな時代を迎えてがん免疫療法 -ヒト腫瘍免疫病態の理解とがん免疫療法開発への展望-, 第 14 回日本乳癌学会近畿地方会, 2016/12/3, 招待, Oral
6. Kawakami Yutaka, Update of immune-checkpoint blockade therapy for cancer: Biomarkers and combination therapy, 第 1 回日本肉腫学会、京都平安ホテル、2016/12/2, 招待, Oral
7. 河上裕, 新たな時代を迎えたがん免疫療法~Immune-checkpoint blockade and beyond~, Sapporo NSCLC Immuno-Oncology Seminar, 札幌プリンスホテル国際館パミール 3F「大沼」(北海道札幌市), 2016/10/14, 招待, Oral
8. Kawakami Yutaka, Heterogeneity of tumor immune-microenvironment and personalized immune-modulation, BioJapan 2016/10/14, Tokyo, 招待, Oral
9. 坪田欣也、谷口智憲、香川昌紀、加藤大貴、守井賢二、木下智成、早川妙香、中村謙太、後藤浩、河上裕, スタチン系製剤は制御性 T 細胞と樹状細胞の制御を介し抗腫瘍 T 細胞を増強することで抗 PD1 抗体治療効果を増大させる, 第 75 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2016/10/8, poster
10. 河上裕、藤田知信、谷口智憲, 症例ごとの免疫状態評価に基づいた個別化がん免疫療法, 第 75 回日本癌学会学術総会, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市), 2016/10/7, 招待, Oral
11. 河上裕, がん微小環境の免疫病態とその制御, 創薬薬理フォーラム 第 24 回シンポジウム, 日本薬学会 永井記念館 ホール (東京都渋谷区), 2016/9/28, 招待, Oral
12. 河上裕, ヒト免疫病態の理解とその臨床応用を目指して, 第 44 回日本臨床免疫学会総会, 京王プラザホテル (東京都新宿区), 2016/9/9, 招待, Oral
13. 河上裕、早川妙香、坪田欣也、中村謙太、里見良輔、木下智成、Boryana Popivanova, Sunthamala Nuchsupha, Mohammad Abu Sayem, 谷口智憲, Development of personalized combination cancer immunotherapy., 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市), 2016/7/30, 招待, Oral
14. 河上裕、木下智成、Boryana Popivanova, Sunthamala Nuchsupha, Mohammad Abu Sayem, 杉山重里、西尾浩、谷口智憲、藤田知信, Identification of biomarkers for immune-checkpoint blockade., 第 14 回日本臨床腫瘍学会学術集会, 神戸国際会議場 (兵庫県神戸市), 2016/7/29, 招待, Oral
15. 藤田知信、野路しのぶ、南雲春菜、岡本正人、桜井敏晴、中面哲也、松枝智子、伊東恭悟、竹之内寛子、裕彰一、岡正朗、河上裕, がん免疫療法の血液バイオマーカー, 第 20 回日本がん免疫学会総会, 大阪国際交流センター (大阪府大阪市), 2016/7/29, 招待, Oral

16. 南雲春菜、藤田知信、桜井敏晴、野路しのぶ、松枝智子、七條茂樹、笹田哲朗、伊東恭悟、河上裕、治療開始前血中 Soluble IL2R  $\alpha$  はがん免疫療法のバイオマーカーになる, 第 20 回日本がん免疫学会総会, 大阪国際交流センター (大阪府大阪市), 2016/7/29, Oral
17. 坪田欣也、谷口智憲、香川昌紀、小倉大、加藤大貴、守井賢二、木下智成、早川妙香、中村謙太、河上裕、スタチン系製剤はがん微小環境に作用し抗腫瘍免疫応答を増強する, 第 20 回日本がん免疫学会総会, 大阪国際交流センター (大阪府大阪市), 2016/7/29, Oral
18. 河上裕 腫瘍免疫学の進歩と新たな時代を迎えたがん免疫療法, 第 52 回日本肝癌研究会, 東京虎ノ門ヒルズフォーラム 2016/7/1, 招待, Oral
19. 河上裕 新たな時代を迎えてがん免疫療法 Cancer Immunotherapy-Comes of Ages-, 第 40 回日本リンパ学会総会、東京大学 伊藤謝恩ホール (東京都文京区), 2016/6/25, 招待, Oral
20. 河上裕 新たな時代を迎えてがん免疫療法 Immune checkpoint blockade and beyond, 第 20 回日本がん分子標的治療学会、別府国際コンベンションセンター, 2016/6/1, 招待, Oral
21. 河上裕 新たな時代を迎えたがん免疫療法 Cancer Immunotherapy Comes of Age 第 57 回日本臨床細胞学会集会 パシフィコ横浜 2016/5/29, 招待, Oral

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 第 14 回 ONCOLO Meets Cancer Experts (OMCE) 「がんに対する免疫療法最前線」, 河上裕、ジーニアスセミナールーム (東京都千代田区), 2/24/2017、国内
2. 第 14 回肺がん医療向上委員会「免疫チェックポイント阻害剤の研究：最近の動向と課題」, 河上裕、文藝春秋新館 (東京都千代田区)、1/30/2017、国内
3. 免疫のシゴト ～免疫療法を正しく理解するために知っておきたいこと～ メディカルアドバイザー 河上裕 2016/11/12、がん情報サイト「オンコロ」

### (4) 特許出願

公開対象なし