

平成 30 年度
～令和 2 年度 研究結果の概要

研究課題名 (課題番号) : 石綿関連胸膜疾患における個別化治療とケアの確立 (180101-02)

研究代表者 : 藤本 伸一

1. 研究目的

胸膜中皮腫に対する新たな治療法として、「切除不能悪性胸膜中皮腫に対する初回化学療法としてのシスプラチン、ペメトレキセドおよびニボルマブ併用化学療法の第 II 相試験」を医師主導治験として行う。ニボルマブを含む化学療法における包括的免疫病態の変化を観察し、化学療法の奏功を予測する免疫病態因子の確立を目指す。胸膜中皮腫における代謝産物プロファイルを解析することにより、抗がん剤の効果を予測し、患者を層別化できるバイオマーカーの発見を目指す。また石綿ばく露によるびまん性胸膜肥厚症例の新たな呼吸機能障害の基準として、6 分間歩行テストにおける認定基準を設ける。

2. 研究方法

医師主導治験として、「切除不能悪性胸膜中皮腫に対する初回化学療法としてのシスプラチン、ペメトレキセドおよびニボルマブ併用化学療法の第 II 相試験」を行った。中央判定による奏効率を主要評価項目とし、ニボルマブを含む併用化学療法の有効性と安全性を検討した。切除不能の進行又は転移性の悪性胸膜中皮腫に対し、初回化学療法としてシスプラチン(75 mg/m²)、ペメトレキセド(500 mg/m²)、ニボルマブ(360 mg/body)を 3 週間間隔で、最大 6 コース投与し、以後は中止基準に該当するまでニボルマブによる維持療法を 3 週間ごとに実施した。実施医療機関は、岡山労災病院、岡山大学病院、四国がんセンター、山口宇部医療センターの 4 施設であり、実施可能性を考慮し、症例数は 18 例と設定した。

石綿による悪性胸膜中皮腫における免疫指標を包括的にスコアリングするため、実際にニボルマブによる治療を行う患者からニボルマブ投与前、投与 1 週後、また投与 3 か月後に末梢血を採取し、サイトカイン、単球・CD4 陽性細胞 (Th)・CD8 陽性細胞 (CTL) およびナチュラルキラー細胞 (NK 細胞) の膜表面分子、遺伝子発現を観察した。

悪性胸膜中皮腫細胞株を用い、thymidylate synthase (TYMS) のノックダウン及び、レトロウイルスを用いた TYMS の過剰発現を行い、それらによって薬剤感受性が変化するかどうかを調べた。

胸部単純写真及び CT 検査にてびまん性胸膜肥厚と診断された症例において、呼吸機能検査として、肺機能検査 1 次 (パーセント肺活量や 1 秒量、1 秒率など)・2 次 (PaO₂ や AaDO₂ など) 検査とともに 6 分間歩行試験を行った。6 分間歩行試験では経皮的酸素飽和度 (SpO₂) の最低値や歩行距離などをモニタリングした。

3. 研究成果

「切除不能悪性胸膜中皮腫に対する初回化学療法としてのシスプラチン、ペメトレキセドおよびニボルマブ併用化学療法の第 II 相試験」を施行した。2018 年 1 月より症例登録を開始し、2019 年 5 月までに予定した 18 例の登録を完了した。主要評価項目である Modified RECIST criteria による奏効率 (中央判定) の評価を行ったところ、14 例において部分奏功 (PR) が確認された (奏効率 77.8%)。標的病変の腫瘍径和の変化率を図 1、図 2 に示す。18 例全例で少なくとも 1 ポイント以上において 30%を超える腫瘍径和の減少が認められた。

図 1. 標的病変の腫瘍径和の変化率の spider plot

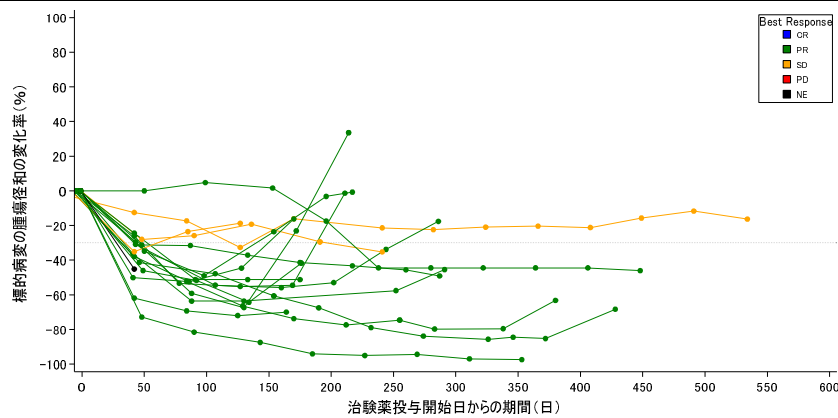
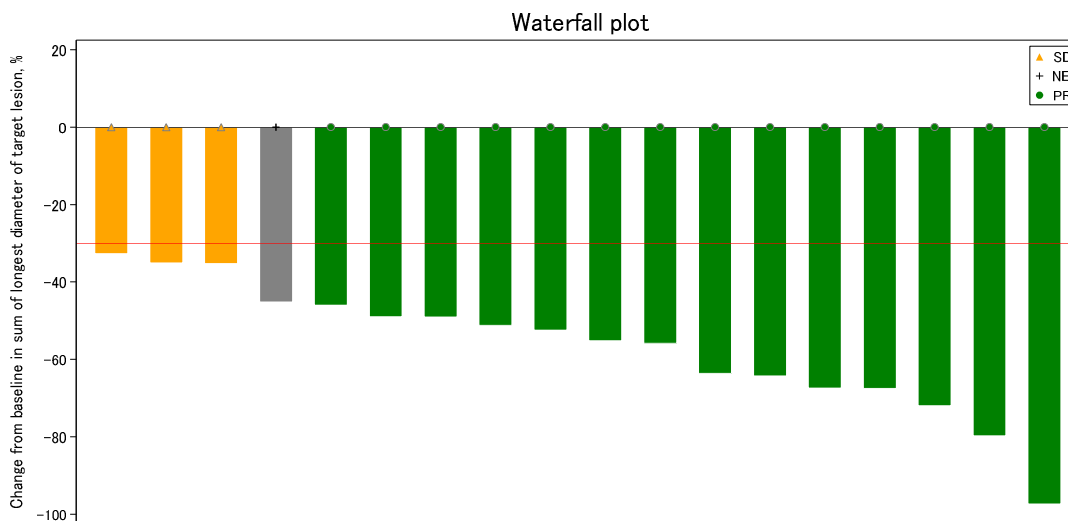


図2. 最良の標的病変の腫瘍径和の変化率の waterfall plot



解析対象の18例全例に有害事象が発現し、主なものは悪心、食欲減退、しゃっくり、便秘、発疹、貧血、倦怠感、好中球数減少、上咽頭炎、不眠症、下痢、発熱、白血球数減少、末梢性ニューロパチーなどであった。有害事象により死亡した症例はなかった。

また実際にニボルマブを投与した悪性胸膜中皮腫患者から供与された末梢血中の免疫担当細胞における免疫指標を解析したところ、細胞表面分子では制御性T細胞の指標であるGITRやCTLA-4発現量の減少が顕著であった。細胞障害性T細胞(CTL)分化誘導の亢進を示す陽性細胞%の増加は見られなかった一方、CTL機能を担うサイトカインであるIFN- γ mRNAは投与3ヶ月後に明瞭な増加を示し、PMA/ionomycinによる刺激後のCTLでは更に強い発現亢進を示した。血漿中サイトカインでは、IFN- γ やIL-17濃度は治療に伴い徐々に増加した。他方、IL-1 β , TNF- α , IP-10はじめ多くの炎症性サイトカイン濃度は治療に伴い著明に低下していた。そこで、症例数を蓄積し、包括的免疫機能解析によりニボルマブ投与前後の免疫動態を比較する共に、治療効果と関連する免疫学的特徴を探索した。(表1)。

表1. 患者検体一覧

施設	患者ID	治療効果
岡山労災病院	MOP-1	SD
岡山労災病院	MOP-2	SD
四国がんセンター	MOP-3	PD
岡山労災病院	MOP-4	SD
岡山労災病院	MOP-5	SD
岡山労災病院	MOP-6	PD
岡山労災病院	MOP-7	PR
四国がんセンター	MOP-8	PD

ニボルマブ治療効果の内訳は、部分奏効 (PR) 1 名、病状安定 (SD) 4 名、増悪 (PD) 3 名であった。そこで、8 名を SD+PR 群 5 名と PD 群 3 名に分け群間で各指標の値およびその動態を比較すると共に、特に治療効果 PR を示す 1 名における免疫学的特徴の抽出を試みた。その結果、細胞表面分子、細胞内 mRNA レベル血中サイトカイン濃度の何れについても、安定 (SD) + 奏功 (PR) 群と病勢進行 (PD) 群の群間比較、および両群における治療前後の変化の特徴を捉えることは出来なかったものの、治療効果 PR を示した 1 例 (MOP-7) については、他と比べて異なる特徴を見いだすことができた。Th 上の CD25% と CTLA-4% および CTL 上の HLA-DR%、加えて刺激後 NK 中の IFN- γ mRNA レベルが継続して高い傾向であることが明らかとなった。(図 3)。

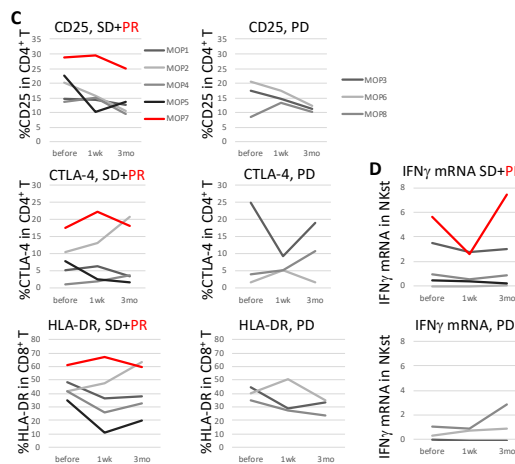


図 3. PR を示す MOP-7 における特徴のまとめ

胸膜中皮腫細胞株を用いた実験では、ペメトレキセド感受性株である MSTO-211H 細胞、耐性株 NCI-H2452 細胞を用いてそれぞれの培養条件で代謝産物を抽出し、メタボローム解析を行ったところ、117 代謝産物の定量値が得られ、感受性株と耐性株で特徴的に違う代謝産物を示した。さらに、悪性胸膜中皮腫の治療に用いられるペメトレキセドの標的分子としてピリミジン合成経路の thymidylate synthase (TYMS) に着目し、細胞株を用いて解析した。MSTO-211H 細胞株と TCC-MESO-2 細胞株いずれにおいてもコントロールと比較して、ペメトレキセド処理によって細胞増殖が抑制されたが、ペメトレキセドにチミジンを加えて処理した場合は、薬効が大きく消失していた。この結果は、ペメトレキセドがピリミジン合成経路を阻害することにより、悪性胸膜中皮腫の細胞増殖を抑制していることを示唆している。また MSTO-211H 細胞株と TCC-MESO-2 細胞株のそれぞれを親株とした 2 種の耐性化株を樹立したところ、いずれの耐性株においても TYMS の発現量が統計的に優位な増加を示していた。TYMS の発現量の増加がペメトレキセド耐性に繋がる一因ではないかと考えられた。

2 種のペメトレキセド耐性化株のセルライゼートを作成し、ウェスタンブロットを行ったところ、いずれの細胞株でも親株に比べてペメトレキセド耐性化株の方が TYMS の発現が増加していた (図 4)。次に、TYMS の発現が増加しているペメトレキセド耐性化株を用いて、siRNA を用いて TYMS をノックダウンしたところ、薬剤耐性が有意に減少していた (図 5)。これらのことから悪性胸膜中皮腫における薬剤耐性化は TYMS が関わっていることが示唆された。

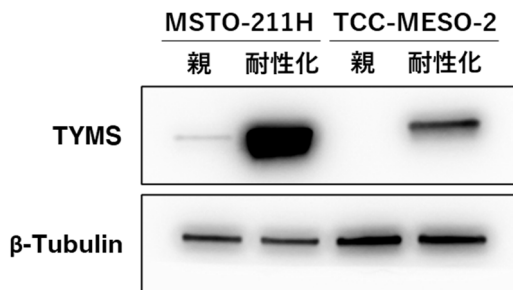


図4. 薬剤耐性化によるタンパク質発現の変化

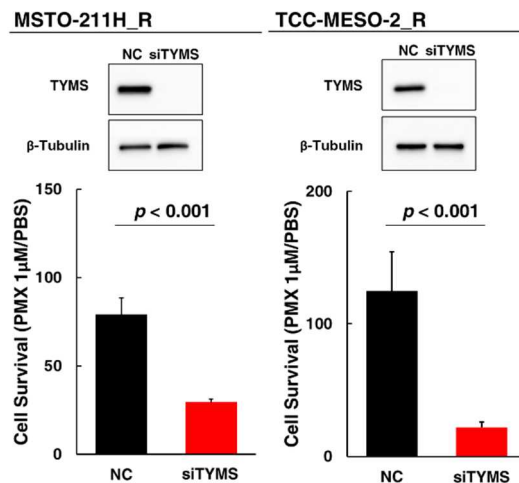


図5. TYMS の KD による薬剤耐性の変化

石綿ばく露によるびまん性胸膜肥厚に関する研究では、研究期間中に 12 名から研究参加同意を得た。12 名全員が男性であり、検査時年齢の中央値は 76.5 歳 (67~87 歳) であった。12 名中 10 名が %VC < 60% で呼吸機能障害の基準を満たしていた。SpO₂ について、検査中の最低値は 86.2% (95%信頼区間 82-90%) であった。総歩行距離/予測値は 77.3% (95%信頼区間 63-91%) であった。また、P-ADL によるアンケート調査では、「階段」(24 点満点中, 20.8 点)、「屋外歩行」(20 点満点中, 17.5 点) の項目で、他の項目と比較して点数が低かった。

4. 結論

切除不能悪性胸膜中皮腫に対する初回化学療法としてのシスプラチン、ペメトレキセドおよびニボルマブ併用化学療法の第 2 相試験」を医師主導治験として実施した。本試験は、シスプラチン、ペメトレキセドおよびニボルマブ併用化学療法の有用性と安全性を強く示唆するものであった。

悪性中皮腫症例へのニボルマブ投与前後の包括的免疫動態解析を行った。ニボルマブに奏功した症例では、NK の IFN- γ 産生誘導能が高く、活性化 CTL が多く、Treg 細胞が多いことが確認された。中皮腫細胞株を用いた検討により、TYMS 遺伝子の発現誘導がペメトレキセドに対する耐性化の一因である可能性が考えられた。

石綿ばく露によるびまん性胸膜肥厚症例に対し 6 分間歩行検査を行ったところ、経皮的酸素飽和度は著しく低下していた。また階段昇降、屋外歩行などの労作に支障をきたしていた。

5. 今後の展望

シスプラチン、ペメトレキセドおよびニボルマブの併用療法は、胸膜中皮腫におけるあらたな治療選択肢となる可能性がある。

石綿ばく露労働者に発症したびまん性胸膜肥厚における著しい呼吸機能障害の基準値において、6 分間歩行試験における経皮的酸素飽和度の最低値が 90% 以下あるいは総歩行距離/予測値の 90% 以下であることを労災認定基準の一つとして提唱する。