

# 論文内容の要旨

申請者氏名 中村 誠二

免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibitors: ICIs) は自身の免疫機能を利用して抗腫瘍作用を発揮するがん治療薬であり、広範ながんに効果を示すことから第4のがん治療法として注目されている。しかし、効果が見込める患者が限定的であること、高額な薬価や重篤な副作用などの理由から、投与前あるいは投与後早期にレスポナーの判別が可能なバイオマーカーの開発が求められている。

がん患者の血液には血中腫瘍 DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) と呼ばれる、腫瘍細胞に由来する遊離 DNA 断片が存在する。これらは半減期が短く、またその量は腫瘍負荷量 (腫瘍サイズ) と一定の相関を示すとされ、加えて ctDNA は血液で簡便に検査可能なため、リアルタイムな癌の病勢および遺伝子変化のモニタリングを可能とする新規バイオマーカーとして期待されている。近年、がん治療時の ctDNA 変化が画像上のがんの変化に先行して起こることが報告されている。この ctDNA 変化をより”早期”に捉え、より早期に治療予後が予測できることが期待される。

そこで本研究では、ICIs であるニボルマブの投与開始後超早期 (1 か月以内) の ctDNA を時系列に測定し、その動態が ICIs の治療予後と関連するかを検証することとした。患者数が多く、ICIs の適用として早くから臨床応用が進んでいる非小細胞肺癌患者を対象として研究を行った。ニボルマブ治療前、治療開始後 4 時間、2 日、8 日、15 日、29 日の 6 つのタイムポイントで採血を行い、血漿遊離 DNA を精製し、得られた血漿遊離 DNA を対象に、高感度 DNA 測定法である Non-overlapping integrated reads sequencing system 法を用いて ctDNA を検出し、治療予後である無増悪生存期間、全生存期間との関連を解析した。

本研究に登録された 30 例のうち、ニボルマブ治療開始後 1 か月の投薬が逸脱なく行われた 21 例を解析対象とした。全 21 例の無増悪生存期間の中央値は 3.5 か月、全生存期間の中央値は 20.9 か月であった、ctDNA が検出された症例の割合は、ニボルマブ治療前、治療開始後 4 時間、2 日、8 日、15 日、29 日でそれぞれ 52.4%、57.1%、60.0%、52.4%、52.4%、45.0%であった。ニボルマブ治療開始後 29 日の ctDNA の有無で層別化すると、無増悪生存期間は ctDNA 陽性群で 1.4 か月、陰性群で 6.5 か月であり、陰性群で有意な延長が認められた。同じく全生存期間についても、ctDNA 陽性群で 12.9 か月、陰性群で 47.9 か月と、陰性群で有意な延長が認められた。2 年生存率は陽性群で 11.1%、陰性群で 63.6%であった。治療 29 日以外のタイムポイントでは ctDNA 検出と治療予後との関連は認められなかった。

以上のことから、非小細胞肺癌患者に対するニボルマブ治療開始 1 か月後の ctDNA 検出は治療予後予測因子である可能性があることが示唆された。

# 論文審査結果の要旨

申請者氏名 中村 誠二

免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibitors: ICIs) はこれまでにない新たな抗がん作用を有し、また、癌腫を問わず高い効果を発揮することから近年注目を集めている。しかし、効果が認められる患者は 5 人に 1 人であり、全ての患者で効果が認められるわけではないこと、また高額な薬価、特殊で重篤な副作用も起こることから、その使用には課題が存在している。また今後、その使用頻度は高まると考えられ、将来的には我が国の医療経済的な課題が生じてくるものと想定される。治療前、あるいは治療開始後早期の段階で ICIs の有効性が期待できる患者を判定できるようなバイオマーカーを見出だすことができれば、その意義は大きい。この課題に対し、申請者は、血中腫瘍 DNA (circulating tumor DNA: ctDNA) に着目した。ctDNA は腫瘍細胞の破壊により血中に放出される遊離 DNA 断片であり、血液で簡便に測定可能なため、がんの病勢をリアルタイムにモニタリングできる。さらに申請者は、画像上で癌が変化するよりも先に ctDNA が変化するという報告に着眼し、ICIs の治療開始早期の段階で ctDNA の変化を評価することで治療効果が予測できるのではないかと考え、本研究を実施した。

ctDNA は血中に極めて微量な量しか存在しないため、その検出方法は極めて重要である。そこで申請者は、申請者の研究グループが開発した分子バーコードを用いた高感度 DNA 検出法である Non-overlapping integrated reads sequencing system 法 (NOIR) を用いて、肺がんを検出対象とした独自の遺伝子パネルを作成し、この NOIR 遺伝子パネルが 0.1% の遺伝子変異 (ctDNA) を検出可能であることを証明した。申請者は、この NOIR 遺伝子パネルを用いて、ICIs の一種であるニボルマブの治療前～治療 1 か月以内の計 6 タイムポイントの肺がん患者の ctDNA を測定した。治療 1 か月以内という早期の採血ポイントで ctDNA 動態を評価し、治療予後との関連を検証した例はなく、学術的に貴重な知見である。申請者は各タイムポイントでの ctDNA 検出の有無や一過性の ctDNA 上昇 (スパイク) の出現と、ニボルマブ治療予後との関連を解析し、治療 1 か月後の ctDNA の検出と無増悪生存期間および全生存期間との間に関連があることを見出した。ctDNA 陰性群では陽性群の 4 倍の生存期間の延長効果が認められることを明らかにした。

以上のように、本論文は、独自に開発した ctDNA 測定系を用いて、ICIs 治療開始後早期である 1 か月の ctDNA 検出が非小細胞肺癌の治療予後予測因子である可能性を明らかにしたもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。