



Title	切除不能肝細胞癌におけるアテゾリズマブ+ベバシズマブ併用療法の治療効果予測因子についての検討 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	細田, 峻一
Description	配架番号 : 2849
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第15915号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92183
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	HOSODA_Shunichi_abstract.pdf, 論文内容の要旨



学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 細田 峻一

学 位 論 文 題 名

切除不能肝細胞癌におけるアテゾリズマブ＋ベバシズマブ併用療法の
治療効果予測因子についての検討

(Study of predictors of response to atezolizumab plus bevacizumab treatment
on unresectable hepatocellular carcinoma)

【背景と目的】2023年の現在、アテゾリズマブ＋ベバシズマブ治療は切除不能肝細胞癌に対する全身化学療法では第一選択薬として使用されている。第Ⅲ相臨床試験であるIMbrave150試験では、アテゾリズマブ＋ベバシズマブがソラフェニブに比べて全生存期間(Overall survival, OS)と無増悪生存期間(Progression-free survival, PFS)を延長できることが明らかになったが、患者の19.6%(71/326例)に進行性病変(Progressive Disease, PD)を認めている。RECIST 1.1(Response Evaluation Criteria in Solid Tumors 1.1)による治療効果で層別化したIMbrave150の解析では、アテゾリズマブ＋ベバシズマブ治療において最良の治療効果判定がPDとなった患者のOS中央値は、奏効した患者のOS中央値よりも短い(6.8カ月)ことが明らかになっている。したがって、切除不能肝細胞癌の治療において、アテゾリズマブ＋ベバシズマブ治療を受けた患者において早期PDに関連する因子を明らかにすることは重要な課題とされる。第一章では、アテゾリズマブ＋ベバシズマブ治療を受けている切除不能肝細胞癌の患者において、治療開始時の臨床因子、遺伝子変異、サイトカインアレイの包括的解析により、早期PDに関連する因子を明らかにすることを目的としている。第二章では第一章で同定されたアテゾリズマブ＋ベバシズマブの早期PD因子である血清CXCL9(C-X-C motif chemokine ligand 9)低値がレンバチニブ治療において奏効が得られやすい要因について検討した。レンバチニブの治療効果と関連するFGFR4(fibroblast growth factor receptor 4)とCXCL9の関係を明らかにするため、基礎的実験を行った。

【対象・材料と方法】

(第一章)2020年10月から2022年1月の期間において北海道大学病院含むNORTE study groupにてアテゾリズマブ＋ベバシズマブ治療を受け、臨床情報を有し、治療開始時の血清が保存された切除不能肝細胞癌患者68例を対象とした。探索研究として68例の中でcell free DNA(cfDNA)が保存されていた早期PD症例4例と非早期PD症例4例で、circulation tumor DNA(ctDNA)の遺伝子変異解析、サイトカインアレイを行い、早期PDと関連する因子を検討した。続いて68例の治療開始時の血清を用いて探索研究で候補となった血中サイトカインをELISA(Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay)にて測定解析し検証を行った。また、追加の検討として2018年4月から2022年5月の期間において北海道大学病院およびJCHO北海道病院にてレンバチニブ治療を受け、臨床情報を有し、治療開始時の血清が保存されていた切除不能肝細胞癌患者84例を対象に、上記解析で明らかになった因子を測定解析し、レンバチニブに対する治療反応を解析した。

(第二章)TCGA(The Cancer Genome Atlas)のヒト肝細胞癌のデータベースを用いてFGFR4、CXCL9の発現の関連を調査した。その後、肝癌細胞株におけるCXCL9とFGFR4

の発現を RT-PCR(Real-time Polymerase Chain Reaction)にて解析した。2 例の肝細胞癌の検体を使用し FGFR4 の免疫染色を行い、CXCL9 との関連を解析した。さらに Huh7 細胞を siRNA(small interfering RNA)にて FGFR4 をノックダウンした際の CXCL9 の発現を検証した。Huh7 細胞をレンバチニブによりを行い、CXCL9 の発現および培養上清の CXCL9 濃度の変化を測定した。最後に 2018 年 4 月から 2022 年 5 月の期間において北海道大学病院にてレンバチニブ治療を受けた切除不能肝細胞癌患者で治療開始時および、開始後 1 週間後の血清が保存されていた 10 例を対象とし血清 CXCL9 を測定し、レンバチニブ治療後の血清 CXCL9 の変化を解析した。

【結果】

(第一章)8 例を対象とした ctDNA の遺伝子変異解析では早期 PD 群と非早期 PD 群で有意に差のある遺伝子変異は認められなかった。一方、サイトカインアレイでは早期 PD 群において CXCL9、CXCL5 が有意に低く、CCL5 が有意に高い結果となった。それらを全体の 68 例のうち、探索研究の 8 例を除く 60 例で検証した結果、早期 PD 群において血清 CXCL9 は有意に低値となる結果となった。カットオフを CXCL9 333pg/ml と設定し、PFS を検証した結果、CXCL9 低値群で有意に短い結果となった。レンバチニブ治療を受けた 84 例の血清 CXCL9 を測定し客観的奏効(Objective Response, OR) (完全奏効 Complete Response, CR+部分奏効 Partial Response, PR)が得られた群と奏効が得られなかった(非 OR)群で比較した結果、OR 群で CXCL9 が低値となる結果となった。また 308pg/ml をカットオフとし OS を検証した結果、CXCL9 低値群で長くなる傾向を認めた。

(第二章)TCGA のデータベースを用いた解析では CXCL9 の発現が低い群で FGFR4 の発現が有意に高いことを認めた。6 種類のヒト肝癌細胞株の FGFR4 と CXCL9 の発現を測定したところ、FGFR4 と CXCL9 に負の相関を認めた。2 例の生検検体を FGFR4 で免疫染色した結果、血清 CXCL9 が低値の検体は、血清 CXCL9 が高値の検体と比較し、高度の FGFR4 の発現を認めた。Huh7 細胞に siRNA を使用し FGFR4 をノックダウンした結果、CXCL9 の発現は上昇することを認めた。Huh7 細胞にレンバチニブ刺激を行うと CXCL9 の発現が上昇し、培養上清中の CXCL9 濃度も上昇することを認めた。レンバチニブ治療を受けた 10 例の患者の血清 CXCL9 を測定し、OR 群 5 例と非 OR 群 5 例で血清 CXCL9 の変化を比較した結果、有意差を認め、OR 群で患者は血清 CXCL9 の上昇が認められた。

【考察】

(第一章)CXCL9 は細胞傷害性 CD8 陽性 T 細胞を腫瘍内に呼び込む重要なケモカインであり、その腫瘍内の発現は ICI 治療の効果予測因子として近年報告されている。本研究では切除不能肝細胞癌のアテゾリズマブ+ベバシズマブ治療において血清 CXCL9 の低値は早期 PD を予測する因子となると考えられた。一方、血清 CXCL9 低値の症例でレンバチニブはより良好な奏効が得られており、レンバチニブは血清 CXCL9 低値の症例においてアテゾリズマブ+ベバシズマブ治療の代替治療となる可能性がある。

(第二章)CXCL9 が低値の症例においてレンバチニブ治療で良好な奏効を認める原因を調査した結果、CXCL9 と FGFR4 が負の関係があることを確認した。FGFR4 のシグナルが CXCL9 の発現を負に調整しており、レンバチニブの効果が得られやすい FGFR4 高発現の症例では血清 CXCL9 が低値となる可能性がある。

【結論】

(第一章)血清 CXCL9 は切除不能肝細胞癌におけるアテゾリズマブ+ベバシズマブ治療において早期 PD を予測する因子となる。

(第二章)FGFR4 高発現の症例では血清 CXCL9 が低値となる可能性があり、血清 CXCL9 の低値の症例においてレンバチニブはアテゾリズマブ+ベバシズマブ治療の代替治療となる可能性がある。