

Nat Med. 著者の論文;PMC 2022 年 2 月 6 日に入手可能。

最終編集版として以下の通り公表された:

[Nat Med.2021 Mar;27\(3\):504-514.](#)

オンライン公開 2021 年 2 月 18 日。doi:10.1038/s41591-020-01224-2

PMCID:PMC8818318

NIHMSID:NIHMS1761424

PMID:33603241

## 1 手術可能な非小細胞肺癌におけるネオアジュバント療法としてのニボルマブまたはニボルマブ+イピリムマブ:ランダム化第 II 相 NEOSTAR 試験

Tina Cascone,1,\*William N.William,Jr,115 Annikka Weissferdt,2,3 Cheuk H.Leung,4 Heather Y.Lin,4 Apar Pataer,3 マーナ C.B.ゴドイ、5 Brett W.Carter,5 Lorenzo Federico,6 Alexandre Reuben,1 Md Abdul Wadud Khan,7 Shitoshi Dejima,816 アレハンドロ・フランシスコ-Cruz,8 Edwin R.Parra,8 ルイーザ M.ソリス、8 Junya Fujimoto,8 Hai T.Tran,1 ネダカルホル、2 Frank V.Fossella,1 Frank E.Mott,1 Anne S.ツアオ、1 Jonathan M.Kurie,1 Mehmet アルタン、1 Charles Lu,1 Bonnie S.Glisson,1 Lauren Averett Byers,1 Yasir Y.Elamin,1 Reza J.メフラン、3 David C.Rice,3 Garrett L.Walsh,3 Wayne L.Hofstetter,3 Jack A.Roth,3 Mara B.Antonoff,3 Humam Kadara,8 Cara Haymaker,8 Chantale Bernatchez,6.8 ナディム J.Ajami,9 Robert R.Jenq,91011 Padmanee Sharma,1213 ジェームズ・P・アリソン、13 Andrew Futreal,9 Jennifer A.wargo,7 Ignacio I.Wistuba,1,8 Stephen G.Swisher,3 J.李運慶、4 Don L.Gibbons,1 アラエー。Vaporciyan,3 ヨハネス 5 世。Heymach,11417 and Boris Sepesi 317 Skoulidis Blumenschein Ferdinandos  
著者情報著作権および使用許諾情報免責事項

この記事の最終編集版は Nat Med から入手できる。

公開された論文を引用している PMC の他の記事を参照すること。

## 2 関連データ

[補足資料](#)

[データ利用可能性に関する声明](#)

[以下にアクセスする:](#)

### 3 抄録

---

イピリムマブは転移性非小細胞肺癌(NSCLC)においてニボルマブと併用すると臨床転帰を改善するが、その効力および手術可能な NSCLC における免疫微小環境への影響は依然として不明である。今回の第 2 相ランダム化試験である NEOSTAR 試験 (NCT03158129)では、切除可能な NSCLC 患者 44 例を対象として、主要評価項目として「主要病理学的反応(MPR)」を主要評価項目とした後に手術を施行した。各治療群の MPR 率を既存対照のネオアジュバント化学療法と比較した。ニボルマブ+イピリムマブ群では 21 例で事前に設定された主要評価項目である 6 MPR を達成し、38%の MPR 率(8/21)を達成した。ニボルマブ+イピリムマブ群では 22%の MPR 率(5/23)を確認した。試験で切除された患者 37 例では、ニボルマブ+イピリムマブ群の MPR 率はそれぞれ 24%(5/21)および 50%(8/16)であった。ニボルマブ+イピリムマブ群ではニボルマブ+イピリムマブ群と比べて病理学的完全奏効率が 高く(10%対 38%)、生存腫瘍率が低く(中央値 50%対 9%)、エフェ

クターT 細胞、組織常在性記憶 T 細胞およびエフェクター記憶 T 細胞の頻度が高かった。腸内ルミノコッカス属およびアッケルマンシア属の存在量の増加は 2 剤併用療法に対する MPR と関連してい

[以下にアクセスする:](#)

## 4 Introduction

---

手術可能な NSCLC 患者の 50%以上が手術単独後に再発する<sup>1</sup>。周術期(ネオアジュバントまたはアジュバント)化学療法による 5 年全生存率(OS)の改善はわずか(約 5%)であり、毒性の原因の 1 つである<sup>2,3</sup>。この状況では新たな治療アプローチが必要であることが示されている。手術可能な NSCLC 患者<sup>4-7</sup>において、ネオアジュバント化学療法に対する MPR(切除した腫瘍標本で生存腫瘍が 10%以下)と生存成績の改善との間に正の関連があることが認識されたことで、この状況での新たなネオアジュバント治療戦略(免疫チェックポイント阻害薬[ICI]を含む)を検証する努力が促されている。

CTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte antigen-4)、PD-1(programmed cell death protein-1)及びそのリガンド(PD-L1)を標的とする ICI は、

進行 NSCLC 患者に対する標準治療を変化させた。ニボルマブ(抗 PD-1)及びイピリムマブ(抗 CTLA-4)が重複のない明確な細胞機序を介して抗腫瘍免疫を増強することを示した研究 8 により、進行 NSCLC 患者の治療にイピリムマブをニボルマブに追加する根拠が示された。ニボルマブ+イピリムマブはニボルマブ単剤と比較して高い奏効率を示した 9。また、進行 NSCLC 患者における一次治療としてのニボルマブ+イピリムマブは化学療法と比較して OS 期間を延長した 10。ニボルマブ療法へのイピリムマブの追加により進行 NSCLC 患者のケアは劇的に変化した。切除可能な NSCLC の免疫微小環境に対するこの ICI 二剤療法の影響は確立されていない。本試験では、MPR を主要評価項目として、ネオアジュバント療法であるニボルマブ及びニボルマブ+イ

NEOSTAR 試験は第 2 相ランダム化臨床試験(NCT03158129)であり、本試験で報告された治療群の完了後にモジュール式のプラットフォームデザインへと発展した。第 1 部では、ニボルマブによるネオアジュバント単剤療法(A 群:3 mg/kg を 1 回静注(i.v.)、1 日目(D1)、D15 および D29)とニボルマブ+イピリムマブ(B 群:ニボルマブ 3

mgkg-1 回 i.v.を 14 日毎に D1、D15 および D29)を検証した 2 つの並行群間比較が完了した。主要評価項目は、各試験群の ITT(intention-to-treat)集団における MPR 率とされ、その後の原発腫瘍の外科的切除に加えて、リンパ節郭清術と標準治療によるアジユバント療法が実施された(Extended Data Fig 1)。試験の主要評価項目は、ITT(intention-to-treat)集団における MPR 率とされ、D1 のみにイピリムマブ 1 mgkg-1 回 i.v.を 14 日毎に D1、D1 のみにイピリムマブ 1 mgkg-1 回 i.v.を 14 日毎に D1、D1 のみにイピリムマブ 1 mgkg-1 回 i.v.を 14 日毎に D1、D1 のみにイピリムマブ 1 mgkg-1 回 i.v.を 14 日毎に D1、D1 のみにイピリムマブ 1 mgkg-1 回 i.v.を 14 日毎に D1、D1 のみにイピリムマブ

[以下にアクセスする:](#)

## 5 結果

---

## 6 参加者

2017 年 6 月から 2018 年 11 月までの間に、53 例の患者が試験への参加に同意し、適格患者のスクリーニングが実施された。9 例は試験前に文書によるインフォームド・コンセントが得られ、この試

験ではすべての関連する倫理上の考慮事項が遵守された。9 例はスクリーニングでの失敗とみなされたが、適格患者 44 例が試験治療を受け、うち 23 例がニボルマブ単剤に、21 例がニボルマブ+イピリムマブにランダムに割り付けられた(拡大データ図 2)。患者の特徴と治療の内訳を表 1 に示す。全体では、41 例(93%)が予定されたネオアジュバント療法を完了した(ニボルマブ群 22 例(96%)、2 例がニボルマブ+イピリムマブ群)。3 例が予定されたネオアジュバント療法を完了せず、内訳はニボルマブ群で 1 例、ニボルマブ+イピリムマブ群で 2 例であった(拡大データ図 2)。ニボルマブ群では 1 例に治療に関連したグレード 3 の低酸素症と大量の非悪性胸水が発生し、ニボルマブ 1 回投与後に入院を必要とした。ニボルマブ+イピリムマブ群では 1 例に治療に関連したグレード 3 の下痢/大腸炎が発生し、1 回投与後に入院を必要とした。ニボルマブ+イピリムマブ群では 1 例に治療に関連したグレード 3 の肺炎が発生し、ニボルマブ+イピリムマブ群では 2 回投与後に入院を必要とした

## 7 表 1.

患者の特徴および治療の内容

因子	カテゴリー	全体	Nivon=23	Nivo+Ipin=21	P 値
		平均値 (SD)	平均値 (SD)	平均値(SD)	
ランダム化時の年齢		65.6(8.3)	66.1(8.5)	65.0(8.3)	0.680
		例数(%)	例数(%)	例数(%)	
性別(G)	女性	16(36)	8(35)	8(38)	0.820
	男性	28(64)	15(65)	13(62)	
人種	アジア人	2(5)	1(4)	1(5)	0.491
	黒色	4(9)	1(4)	3(14)	
	その他	1(2)	0(0)	1(5)	
	白	37(84)	21(91)	16(76)	
喫煙状況	喫煙歴なし	8(18)	5(22)	3(14)	0.767
	過去の喫煙者	26(59)	14(61)	12(57)	
	現喫煙者	10(23)	4(17)	6(29)	
病期	IA 期	8(18)	4(17)	4(19)	0.175
	IB 期	15(34)	7(30)	8(38)	
	IIA 期	7(16)	2(9)	5(24)	
	IIB 期	5(11)	5(22)	0(0)	
	IIIA 期	9(20)	5(22)	4(19)	
組織像	扁平上皮癌	17(39)	10(43)	7(33)	0.641
	腺扁平上皮癌	1(2)	0(0)	1(5)	
	腺癌	26(59)	13(57)	13(62)	
ECOG PS	0	26(59)	16(70)	10(48)	0.139
	1 回	18(41)	7(30)	11(52)	
ベースライン T	1a 期	5(11)	3(13)	2(10)	0.625
	1b 期	7(16)	2(9)	5(24)	
	2a 期	20(45)	10(43)	10(48)	
	2b 期	5(11)	3(13)	2(10)	
	3	7(16)	5(22)	2(10)	
ベースライン N	0	30(68)	16(70)	14(67)	0.349

因子	カテゴリー	全体	Nivon=23	Nivo+Ipin=21	P 値
		平均値 (SD)	平均値 (SD)	平均値(SD)	
	1 回	7(16)	2(9)	5(24)	
	2 回	7(16)	5(22)	2(10)	
ベースライン M	0	44(100)	23(100)	21(100)	
縦隔の侵襲的 な病期分類	EBUS 試験	40(91)	21(91)	19(90)	0.795
	縦隔鏡検査	3(7)	1(4)	2(10)	
	縦隔の侵襲的な病 期分類を行わない*	1(2)	1(4)	0(0)	
アジュバント (術後)療法	ポート	4(11)	2(10)	2(13)	
	化学療法	17(46)	11(52)	6(38)	

[別のウィンドウで開く](#)

\*T2N0M0,IB 期。

両側 P 値は、連続因子についてはスチューデントの t 検定、カテゴリー因子についてはカイニ乗検定及びフィッシャーの正確な検定から得られる。EBUS:気管支内超音波検査;ECOG:Eastern Cooperative Oncology Group

試験中にネオアジュバント ICI を少なくとも 1 回投与された 44 例 (ITT)のうち、39 例が試験中または試験外で根治目的の手術を受け、5 例が手術を受けなかった(11%:ニボルマブ 1 例、ニボルマブ+イピリムマブ 4 例)(拡大データ図 2)。切除された 39 例のうち、37 例(95%)が試験中に手術を受け(ニボルマブ 21 例、ニボルマブ+イピリムマブ 16 例)、2 例(5%)が試験外で追加の全身療法後に切除された(ニボルマブ 1 例、ニボルマブ+イピリムマブ 1 例)ことから、



ITT 解析では計 7 例が試験中に手術を受けなかった(MPR なし)と判断された。

## 8 ニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法の臨床活性

ランダム化された全 44 例の ITT 集団において、主要評価項目とされた MPR(2 名の独立した訓練を受けた病理医による評価)は、本薬群で 22%(5/23 例、95%信頼区間=7~44%)、2 治療群で 38%(8/21 例、95%CI=18~62%、 $P=0.235$ 、図 1a)であり、本薬群では 21 例において事前に設定された 6 MPR 以上の基準を満たしたことから、今後の評価に有望と判断された。本薬群では、本薬群で 2 例(2/23 例、9%、95%CI=1~28%)で病理学的完全奏効(pCR)が得られたのに対し、本薬群では 6 例(6/21 例、29%、95%CI=11~52%、 $P=0.126$ 、図 1a)であり、ITT 集団における X 線による客観的奏効率(ORR、部分奏効(PR)+CR)は、本薬群で 22%(5/23 例、95%CI=7~44%)、本薬群で 19%(4/21 例、95%CI=5~42%)であった(CR 1 例及び PR 3 例、評価不能 1 例、 $P=1.0$ 、図 1c 及び補足表 1)。

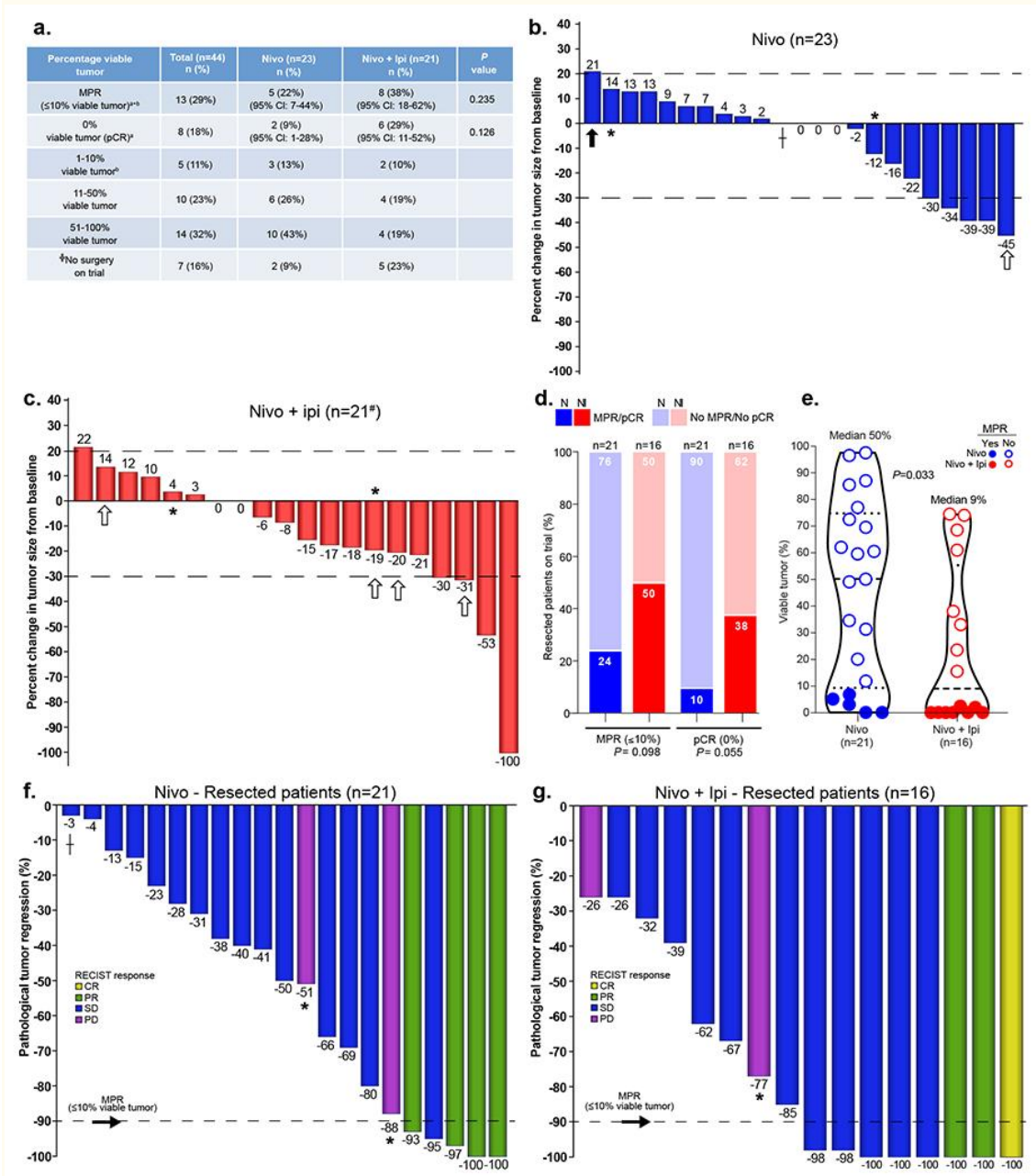


図 1.

試験中の ITT および切除例におけるネオアジュバントニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブに対する病理学的および放射線学的反応。

a:ITT 集団における病理学的奏効(切除例及び非切除例、ニボルマブ、n=23、ニボルマブ+イピリムマブ、n=21)。主要評価項目:MPR(生存腫瘍細胞数 10%以下)は pCR、すなわち生存腫瘍数 0%、生存腫瘍数 1~10%からなる。MPR 及び pCR 率は二項分布から正確な 95%信頼区間を用いて推定する。MPR についてはカイ二乗検定、

pCR についてはフィッシャーの正確検定により両側検定の p 値を用いる。▽試験中のネオアジュバント療法後に手術を受けなかった 7 例のうち 5 例(ニボルマブ 1 例、ニボルマブ+イピリムマブ 4 例)は手術を受けなかった。2 例は追加の全身療法後に手術を受けなかった。a:0%生存腫瘍(pCR)、b:1-10%生存腫瘍。b,c:ネオアジュバント療法の最終投与後 14 日以上経過した時点でのベースラインからの腫瘍全体の大きさの X 線画像上の変化率のウォーターフォールプロット(ニボルマブ:23 例、22%ORR、ニボルマブ+イピリムマブ:21 例、ORR:21 例、ORR:19%、うち 1 例は試験終了後に手術を受けた。#1 例は試験終了後に評価不能と判定された。#1 例は評価不能と判定された。) p 値は Wilcoxon の順位和検定による。f,g:切除例におけるニボルマブ(f;n=21)及びニボルマブ+イピリムマブ(g;n=16)投与後の病理学的腫瘍縮小率(%viable tumor-100%)のウォーターフォールプロット。黒破線は MPR を示す。0 0 0 97.5 0 74.5

試験で治療を受けたが切除を受けなかった患者(ITT 解析で n=7)では組織検体が不足していたため、感度解析を実施して試験で切除を受けた患者の MPR 率と pCR 率を評価した。試験で切除を受けた 37 例のうち、ニボルマブ単剤療法では MPR 率が 24%(5/21 例、95%CI=8~47%)であったのに対し、ニボルマブ+イピリムマブ併用療法では MPR 率が 50%(8/16 例、95%CI=25~75%)であった(P=0.098;図 1d)。ニボルマブ単剤療法では pCR 率が 10%(2/21 例、95%CI=1~30%)であったのに対し、2 剤併用療法では 38%(6/16 例、95%CI=15~65%)であった(P=0.055;図 1d)。探索的解析では、ニボルマブ+イピリムマブ併用療法後に切除された腫

瘍検体では、ニボルマブ投与腫瘍と比較して生存腫瘍細胞数が少なかった( $P=0.033$ ;図 1e)。

切除された 37 例の患者集団における ORR は両治療群で 19%であった(ニボルマブで 4/21 CR/PR[95%CI=5~42%];ニボルマブ+イピリムマブで 3/16 CR/PR[95%CI=4~46%]; $P=1.00$ ;SupplementTable 2)。切除された患者では、X 線による腫瘍縮小(CR/PR)と MPR との間に正の相関が認められた(Extended Data Fig 3)。切除された CR/PR 患者全員(7/7,95%CI=59~100%)が手術時に MPR を達成したのに対し、安定/進行(SD/PD)の切除患者では 30 例中 6 例(20%,95%CI=8~39%)であった( $P=0.0002$ ;SupplementTable 3 および Fig.1f,g,g)。しかし、X 線撮影では SD を達成したものの、手術時に MPR を有していた症例や、病理学的に著明な腫瘍の退縮を示した症例(20%,95%CI=8~39%)も認められた( $P=$ ;SupplementTable 3 および Fig.1f,g,g)。一部の症例では、ネオアジュバント ICI 後の CT 上および PET-CT 上の再病期診断でリンパ節の腫大および/またはフルオロデオキシグルコース(FDG)取り込みの増加を伴うリンパ節病

変の進行がエックス線像で認められた(Fig.1f,g),g)。しかしながら、フレアリングリンパ節の侵襲的な病理学的検査では、免疫細胞の浸潤変化(非乾酪性肉芽腫)が明らかにされたが、悪性腫瘍は認められ

## 9 外科的切除可能性。

試験中にネオアジュバント ICI を少なくとも 1 回投与された患者 44 人(ITT)における全切除率は 89%(試験中または試験外で根治的手術を受けた患者 39 人)であり、完全(R0)切除率は 100%であった。手術を受けなかった 5 人のうち 1 人はニボルマブ群で治療を受け(4%;23 人中 1 人)、4 人はニボルマブ+イピリムマブ群で治療を受け(19%;21 人中 4 人;治療関連有害事象(TRAЕ)に関連しない)だった。ニボルマブ群では、1 回の治療後に治療に関連したグレード 3 の低酸素症と入院を必要とする非悪性胸水が発生し、その後手術リスクが上昇した患者が 1 人いました。ニボルマブ+イピリムマブ群では、1 人が PD、1 人が気管支再病期診断時に気管分岐部に腫瘍病変が認められ、もはや切除不可能と判断された。1 人は肺血流不十分と能動喫煙により手術リスクが高いと判断され、手術を拒否し

た。試験終了後に手術を受けた 2 人の患者のうち、IIIA 期の患者 1 人はニボルマブ 3 回投与後に新たな縦隔病変を伴う放射線学的進行が確認されなかったため、治療がプラチナ 2 剤併用化学療法+ペムブロリズマブの試験終了後に変更された。興味深いことに、X 線画像上で明らかな進行がみられたリンパ節部位の生検では転移は確認されなかったが、肉芽腫性炎症が明らかになったことから、試験終了後に手術がプラチナ 2 剤併用化学療法+ペムブロリズマブの試験終了後に変更された。2 人目の IIA 期の患者ではニボルマブ+イピリムマブ 1 回投与後に TRAE グレード 3 の下痢/大腸炎が認められたため、治療がプラチナ 2 剤併用化学療法に変更され

## 10 毒性

毒性は全般的に管理可能であり、ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブの既知の安全性プロファイルと比較して新たな安全上の懸念は認められなかった。Grade 3~5 の TRAE は、ニボルマブ投与患者の 13%(3/23 例)(2 件の事象が同一患者で発生)及びニボルマブ+イピリムマブ投与患者の 10%(2/21 例)で報告された(補足表 4)。ニボルマブ投与患者 1 例で術後にステロイドを必要とする肺炎

および肺臓炎が発生し、気管支胸膜瘻(BPF)および膿胸と診断され、最終的に呼吸不全および死亡に至ったが、一連の合併症の結果、BPF および死亡の原因はステロイド投与による肺臓炎であると判断した。重篤な有害事象は 9 件(治療関連 5 件)認められた(補足表 5)。

## 11 ニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブによるネオアジュバント療法後の生存転帰

最終のデータベースロック時(2020 年 2 月 25 日)には、全 44 例について再発および生存期間の追跡が行われた。ランダム化後の追跡期間の中央値は 22.2 カ月であった。OS および肺癌関連の無再発生存期間(RFS)の中央値は得られなかった。ニボルマブによる治療を受けた患者 1 例は手術後 90 日以内に死亡し、ランダム化後 4.1 カ月で死亡した(図 2a)。ニボルマブ+イピリムマブによる治療を受けた患者 1 例は、ランダム化後 2.6 カ月で PD(手術なし)となり(図 2b)、ランダム化後 17.1 カ月で肺癌関連の再発により死亡した(図 2c,d)。ニボルマブによるネオアジュバント療法(補足表 6 および 7)またはニボルマブ+イピリムマブ(補足表 8 および 9)を受けた患者

において、病理学的反応および放射線学的反応は腫瘍の組織型、病期または喫煙状況に基づいて有意な差は認められなかった(拡大データ図 4a)。しかし、肺癌関連の RFS については、IIIA 期の患者および喫煙経験のない患者において、I 期/II 期の患者( $P=0.040$ ; 拡大データ図 4b)および現・元喫煙者( $P=0.003$ ; 拡大データ図 4c)と比較して、探索的なランドマーク解析を実施した。X 線および病理学的反応、PORT およびアジュバント化学療法が再発に及ぼす影響について検討するため、CR/PR 患者 9 例で死亡 1 例(1/13、11%)、SD/PD 患者 34 例で再発 6 例(6/34、18%)と比較した(拡大データ図 4d)。MPR 患者 13 例で死亡 1 例(1/13、8%)、MPR 非患者 24 例で進行 6 例(6/24、18%)と比較した(拡大データ図 4d)。MPR 患者 13 例で死亡 1 例(1/13、8%)、MPR 非患者 24 例で進行 6 例(6/24、18%)と比較した(拡大データ図 4d)。MPR 患者 13 例で死亡 1 例(1/13、8%)、MPR 非患者 24 例で進行 6 例(6/24、18%)と比較した(拡大データ図 4d)。MPR 患者 13 例で死亡 1 例(1/13、8%)、MPR 非患者 24 例で進行 6 例(3/24、13%)と比較した



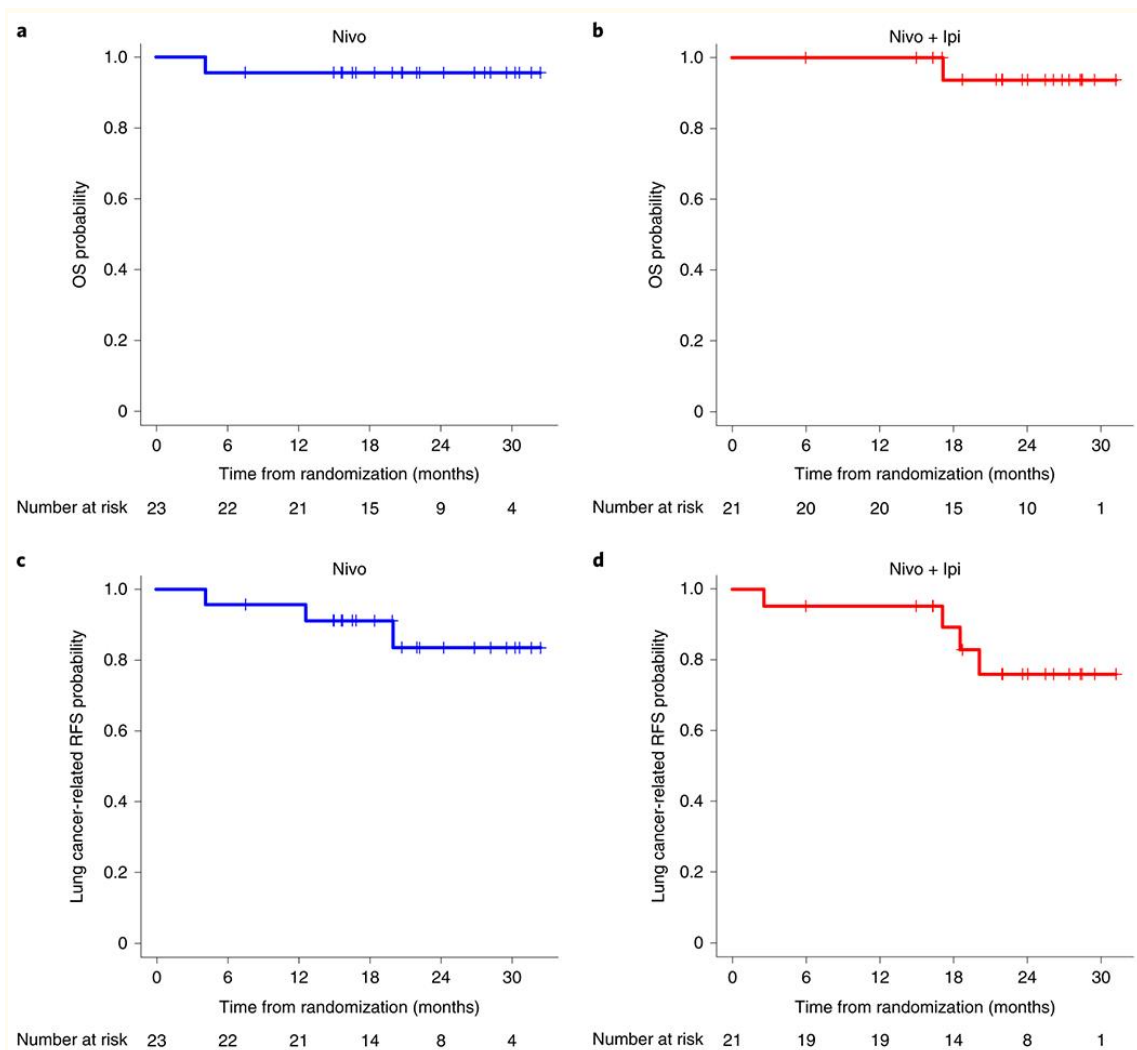


図 2.

## ニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブによるネオアジュバント療法を受けた患者における生存転帰

a:ネオアジュバント療法としてニボルマブ+イピリムマブを投与された患者(n=23)におけるランダム化後から死亡までの OS の確率の Kaplan-Meier 曲線。OS の中央値は未到達であった。ネオアジュバント療法としてニボルマブ+イピリムマブを投与された患者(n=21)におけるランダム化後から死亡までの OS の確率の Kaplan-Meier 曲線。BPF 及び膿胸による呼吸不全のため、1 例がランダム化後 90 日以内及び 4.1 カ月以内に死亡した。b:ネオアジュバント療法としてニボルマブ+イピリムマブを投与された患者(n=21)におけるランダム化後から再発又は死亡までの OS の確率の Kaplan-Meier 曲線。OS の中央値は未到達であった。併用療法で治療された患者(n=21)におけるランダム化後から再発又は死亡までの RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。肺癌関連 RFS の中央値は未到達であった。この 1 例はランダム化後 17.1 カ

月後に肺癌により死亡した。c:ネオアジュバント療法としてニボルマブ+イピリムマブを投与された患者(n=23)におけるランダム化後から再発又は死亡までの RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。肺癌関連 RFS の中央値は未到達であった。前述のとおり、1例が死亡した。2例はランダム化後 20.0 カ月後(n=1)及び 12.6 カ月後(試験中手術なし、n=1)に局所及び/又は遠隔転移による肺癌関連再発が認められた。d:ネオアジュバント療法としてニボルマブ+イピリムマブを投与された患者(n=21)におけるランダム化後から再発又は死亡までの RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。肺癌関連 RFS の中央値は未到達 17.1 2.6 2.6 17.1 18.5 20.1

## 12 ネオアジュバントニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブに対する免疫応答

SD/PD(P=0.017;図 3a,,eeh)および MPR(P=0.037;図 3b,,eeh)を認める患者の治療前の腫瘍検体では、X 線画像上の奏効(CR/PR)および MPR を認めなかった患者の腫瘍細胞の PD-L1 発現量(IHC)が全体的に高かったが、治療前の検体で PD-L1 が欠如していた患者でも奏効が認められた。一方、治療前の PD-L1 発現量が 1%以上であった切除検体では、PD-L1 が 1%未満であった切除検体と比較して生存腫瘍細胞数が少なかった(Extended Data Fig 5a)。一方、治療後の腫瘍 PD-L1 発現量(P=0.021;Fig.4a)、治療後の腫瘍 PD-L1 発現量(P=0.041;Fig.4b)、CD3+CD4+CD103+(non-T-regulatory(Treg)TRM)T 細胞(P=0.057;Fig.4c)、CD3+CD4+CD27+CD28+エフェクターメモリーT 細胞

( $P=0.034$ ;Fig.4d))の割合については、ニボルマブ+イピリムマブ投与後のまた、ニボルマブ単独投与例では、投与前から投与後までの免疫細胞サブpopulationに大きな変化は認められなかったものの(図 4f-h、拡張データ図 6)、ニボルマブ+イピリムマブ併用投与例ではニボルマブ単独投与例と比較して、投与前から投与後までのCD3 陽性 T リンパ球の変化量が有意に大きかった(補足表 10)。

0.016 0.078 103 0.016

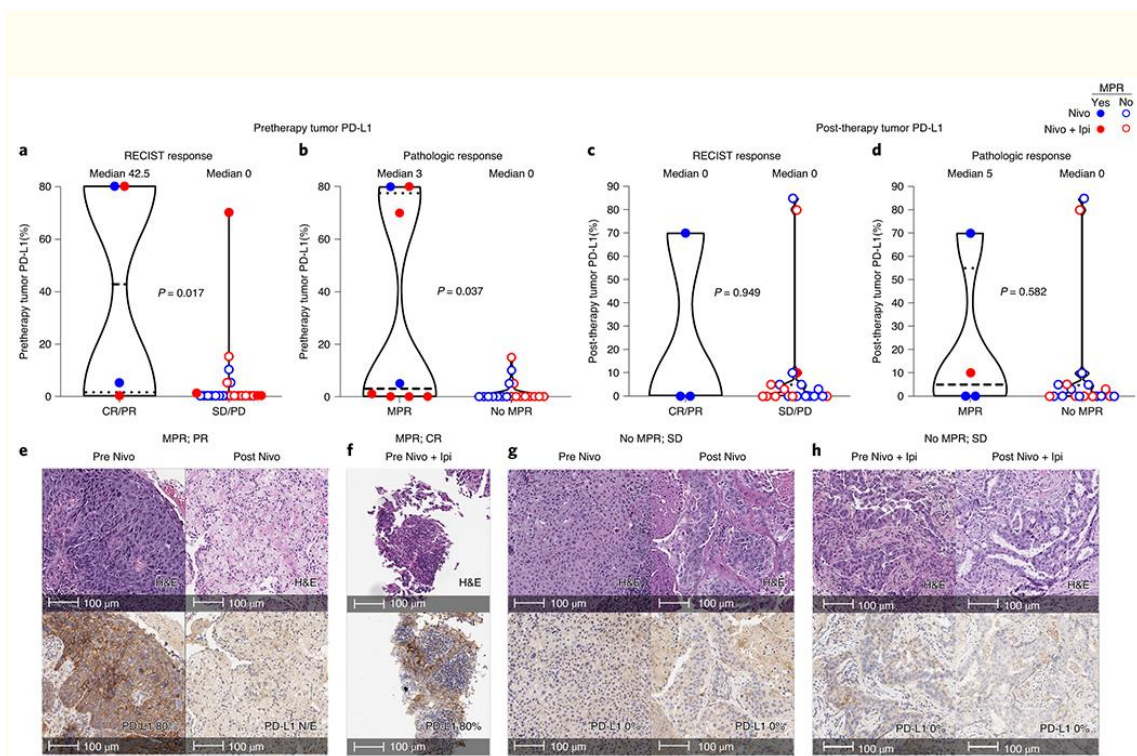


図 3.

悪性細胞における腫瘍 PD-L1 の発現とネオアジュバントであるニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブに対する反応との関連

a,b:RECIST(a;CR/PR vs SD/PD;n=4 vs n=23)及び MPR 状態(b;n=8 vs n=19)に基づく、ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブで治療された奏効例及び非奏効例の悪

性細胞における治療前の腫瘍 PD-L1 IHC 膜発現(%). データは中央値に最小、下位四分位、上位四分位及び最大を付して示し、個々のデータ点を破線は中央値、点線は範囲の下位四分位及び上位四分位を示す。バイオリンプロットの上下は最小と最大を示す。両側 P 値はウィルコクソンの順位和検定による。c,d:RECIST(c;CR/PR vs n=20)及び MPR 状態(d;n=8 vs n=19)に基づく、ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブで治療された奏効例及び非奏効例の悪性細胞における治療前の腫瘍 PD-L1 発現が高値であった患者における病理学的反応(MPR 又は pCR)のヘマトキシリン・エオジン(H&E)顕微鏡像(上の図)。これらの写真に関連する実験及び採点は 1 回実施された。g,h:ニボルマブ(g)又はニボルマブ+イピリムマブで治療された患者における病理学的反応(MPR 又は pCR)のヘマトキシリン・エオジン(H&E)顕微鏡像(上の図)。これらの写真に関連する実験及び採点は 1 回実施された。g,h:ニボルマブ(g)又はニボルマブ+イピリムマブで治療された患者における病理学的反応(MPR 又は pCR)のヘマトキシリン・エオジン(H&E)顕微鏡像(上の図)。これらの写真に関連する実験及び採点は 1 回実施された。N/E:分析した組織切片中に生存腫瘍細胞が存在しなかったため評価不能の PD-L1。

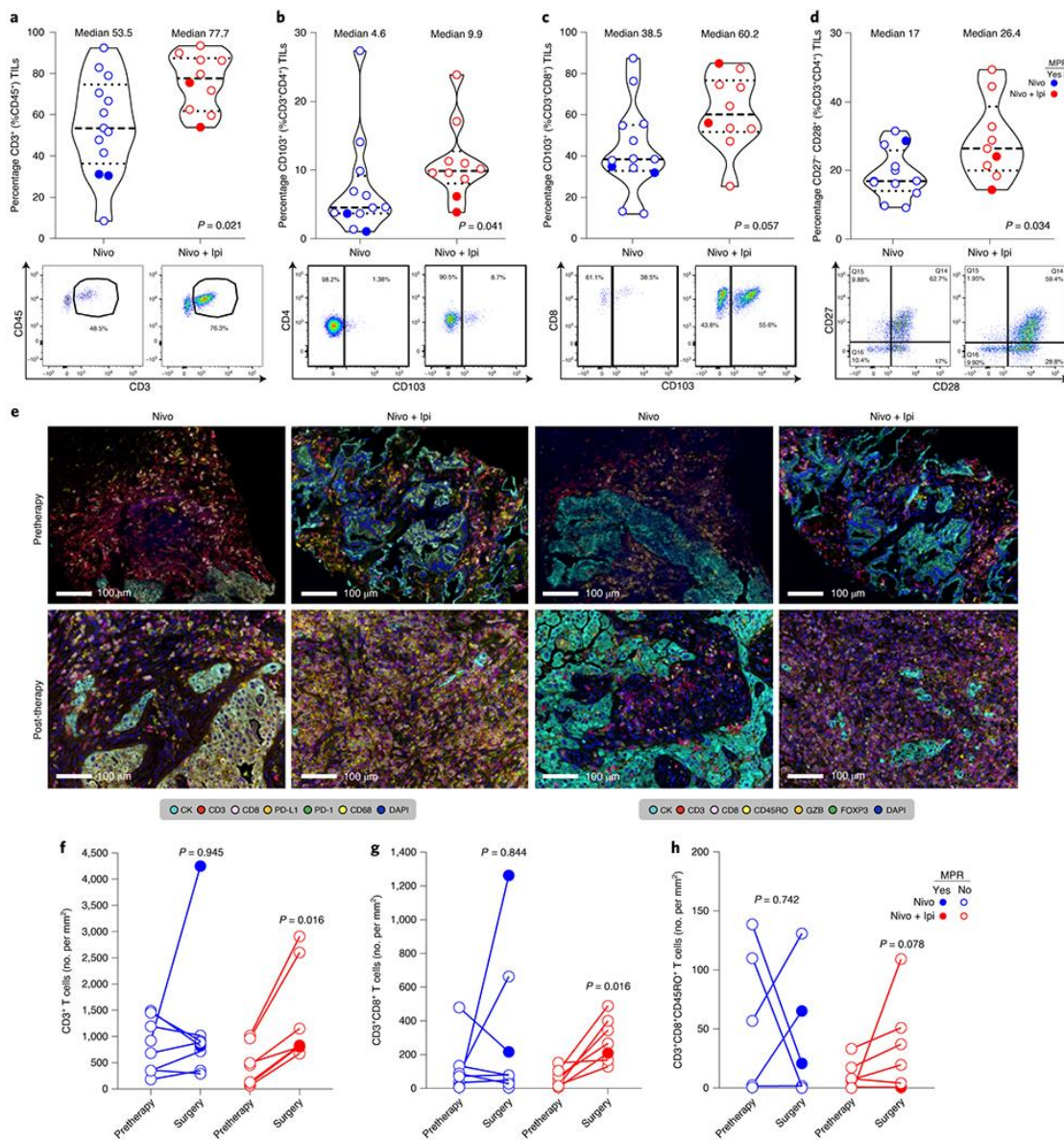


図 4.

免疫はネオアジュバントニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブに対する反応と関連する。

a-d, フローサイトメトリーによる CD3<sup>+</sup>(CD45<sup>+</sup>から)T 細胞(a), CD103<sup>+</sup>TRM 細胞 (CD3<sup>+</sup>(CD45<sup>+</sup>から)CD4<sup>+</sup>から)(b), CD103<sup>+</sup>エフェクターTRM 細胞(CD3<sup>+</sup>(CD45<sup>+</sup>から)CD8<sup>+</sup>から)(c), および CD27<sup>+</sup>CD28<sup>+</sup>エフェクターメモリーT 細胞(CD3<sup>+</sup>(CD45<sup>+</sup>から)CD4<sup>+</sup>から)(d)の頻度(上のパネル)および代表的なゲート(下のパネル): nivolumab(青色; n=13(a); n=12(b); n=13(c); n=12(d))および nivolumab+ipilimumab(赤色; n=10(a); n=10(b); n=10(c); n=9(d))のネオアジュバント療法後に切除された腫瘍における最小四分位、最小四分位および最大四分位を

む中央値としてデータを示す。全てのバイオリンプロットは単一のデータ点を示し、破線は中央値を示し、点線は範囲の下四分位および上四分位を示す。バイオリンプロットの上下は最小値および最大値を示す。両側 P 値は Wilcoxon の順位和検定により得られる。提示された結果に関連した実験およびゲーティングは 1 回実施された。Subgating は親のゲートで 100 件以上の事象が認められた場合にのみ実施された。f-h,ニボルマブ(青色;n=8)およびニボルマブ+ipilimumab(赤色;n=7)の後に対治療前および切除腫瘍における MiF 染色による免疫マーカーの MiF 染色の顕微鏡写真の例(それぞれパネル 1 および 2)。提示された結果に関連した実験およびスコアリングは 1 回実施された。f-h,ニボルマブ(青色;n=8)およびニボルマブ+ipilimumab(赤色;n=7)の後に対治療前および切除腫瘍における MiF 染色による CD3+CD8+CD45RO+T 細胞(h)密度(数/mm<sup>2</sup>)の定量。Wilcoxon の符号付順位検定により得られる。

少数の検体における T 細胞受容体(TCR)の配列決定により、治療前の末梢(血液)TCR レポートリーの豊富さとネオアジュバント ICI 後の切除腫瘍における豊富さとの間に正の相関が示された(スピアマン相関係数、 $R=0.82$ ;  $P=0.023$ ; 図 5a)。腫瘍近傍の非浸潤肺検体と比較して、切除腫瘍では豊富さとクローン性が高かった(それぞれ  $P=0.0029$  および  $P=0.036$ ; 図 5b,c),c)。切除腫瘍では、腫瘍近傍の非浸潤肺検体と比較して、TCR の豊富さとクローン性が高い割合が高いことが観察された(豊富さとクローン性はそれぞれ  $83.3\%$ (10/12);クローン性はそれぞれ  $67\%$ (8/12); 図 5d,,e),e)。ニボルマブ+イピリムマブを投与したより多くの腫瘍で増加が認められた(図 5f,,g),g)。T 細胞の豊富さとクローン性は、2 剤併用療法を受

けた3つの腫瘍のうち3つで治療前から手術までに増加したが、ニボルマブ+イピリムマブを投与した4つの腫瘍のうち2つでしか増加が認められなかった(図5f,,g),g)。血中T細胞の豊富さとクローン性は、併用療法を受けた3つの腫瘍のうち3つで増加したが、ニボルマブ+イピリムマブを投与した4つの腫瘍のうち2つでしか増加が認められなかった(図5f,,g)。血中T細胞の豊富さとクローン性は、併用療法を受けたほとんどの腫瘍で増加したが、ニボルマブ+イピリムマブを投与した4つの腫瘍のうち2つでしか増加が認められなかった(図5f,,g),i)。血中T細胞の豊富さとクローン性は、併用療法を受けたほとんどの腫瘍で増加したが、治療後では治療前の血液検体と比較して2つでしか減少しなかった(拡大データ図7a,,b).b)。腫瘍と末梢TCRのクローン性は病理学的腫瘍の退縮と有意に相関しなかったが、一部の症例では2つの変数間に逆相関を示す傾向がみられた(拡大データ図7c-f)。ただし、これらの解析で

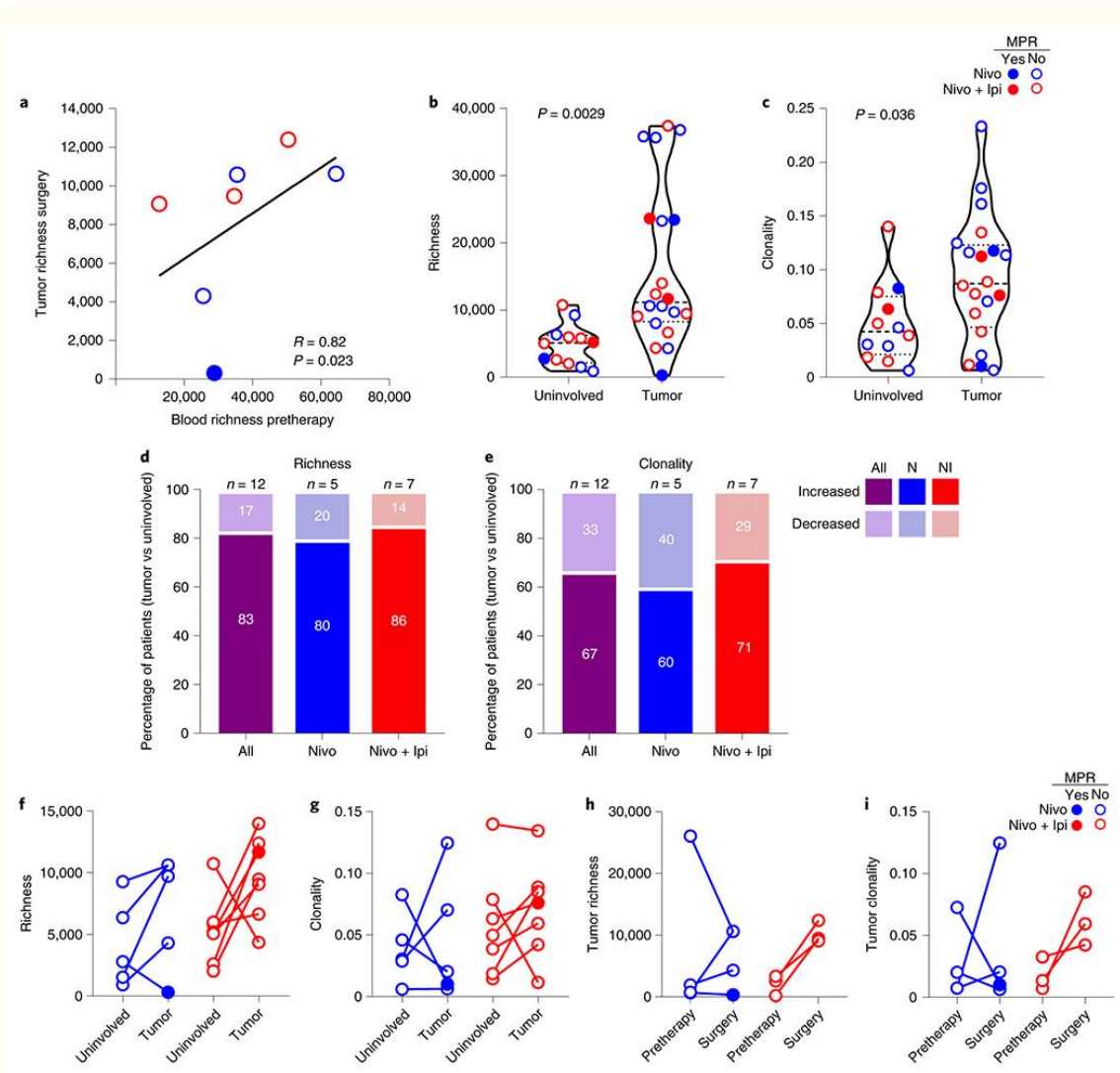


図 5.

## ニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブによるネオアジュバント療法を受けた血液および腫瘍における TCR の変化

a:ニボルマブ(n=4,青色)およびニボルマブ+イピリムマブ(n=3,赤色)によるネオアジュバント療法後の治療前(ベースライン)の末梢血と切除(手術)腫瘍との間の TCR レポートリーの豊富さの相関。両側 P 値はスピアマンの順位相関に基づく。b,c,切除された腫瘍に隣接する非浸潤肺(n=12)および切除された腫瘍(n=20)との間の TCR レポートリーの豊富さ(b)およびクローン性(c)。データは中央値で示し、最小、下位四分位および上位四分位ならびに最大を示す。データは 2 標本のスチューデントの t 検定による。d,e,ニボルマブ(N,n=5,青色)またはニボルマブ+イピリムマブ(NI,n=7,赤色)後の、切除された腫瘍において TCR レポートリーの豊富さ(d)およびクローン性(e)が増加および減少した患者の割合と、対応する切除された腫瘍に隣接する非浸潤肺



(n=12,紫色)との比較。f,g,ニボルマブ(n=5,青色)またはニボルマブ+イピリムマブ(n=7,赤色)後の、切除された腫瘍と腫瘍に隣接する非浸潤肺(n=7,赤色)との間の TCR レパートリーの豊富さ(f)およびクローン性(g)の変化。h,i,ニボルマブ(n=4,青色)またはニボルマブ+イピリムマブ(n=3,赤色)後の、マッチした切除された腫瘍と腫瘍に隣接する非浸潤肺(n=7,赤色)との間の TCR レパートリーの豊富さ(f)およびクローン性(g)の変化。黒丸:MPR、白丸:MPR なし。

### 13 腸内細菌叢の組成の違いと治療への反応および毒性との関連

治療を受けた患者から採取した患者から採取した便検体を用いて、16S リボソーム RNA を標的とした遺伝子配列決定法により腸内細菌叢の組成と多様性を探索的に解析した。ICI 療法が腸内細菌叢の組成に影響を及ぼしたかどうかについては疑問が呈された。

Weighted-uniFrac 解析では、治療前と治療後の両方の検体で微生物叢の変動は同程度であり、両群間( $R=-0.032, P=0.99$ )、MPR または TRAE の状態による差は認められなかった(Extended Data Fig 8a,b).b)。次に、群と家族レベルで微生物叢の組成を比較したところ、nivolumab 群と nivolumab+ipilimumab 群のいずれにおいても MPR の状態に基づいて類似していた。MPR に関連する分類群を同定するために、属レベルでの線形判別分析(LEfSe)研究が実施された。MPR に関連する分類群を特定するために、*Paraprevotella* とア

ツケルマンシア属がそれぞれ nivolumab 群と  
nivolumab+ipilimumab 群の MPR に関連することが LEfSe 解析で  
明らかにされた(Extended Data Fig 8g)。また、配列同一性で  
R.bromii に近い未分類のルミノコッカス属種と  
nivolumab+ipilimumab 群(拡張データ図 9c,d).d)。これらの結果を  
総合すると、様々な腸内細菌の存在量が、ネオアジュバント ICI 療  
法後の病理学的反応、毒性の低下、一部の症例では T 細胞のクロ  
ーン性の増加および豊富さと関連していることが示唆される。0.04  
0.66 0.47 0.04 0.58 0.61 0.006 0.65 0.003 0.301 0.336 0.44 0.47  
0.04 0.48 0.04 Erysipelotrochaceae Anaerofustis Faecalibaculum  
アツケルマンシア属ラクノスピラ科ラクノスピラ科ルミノコッカス属

[以下にアクセスする:](#)

## 14 討論

---

NEOSTAR 試験は、切除可能な NSCLC 患者を対象として、MPR を  
主要評価項目としたネオアジュバント療法としてのニボルマブ  
(nivolumab)とニボルマブ+イピリムマブ(nivolumab+ipilimumab)を  
比較した最初のランダム化第 II 相試験である。ニボルマブ+イピリ  
ムマブでは、過去のネオアジュバント化学療法の対照と比較して高

い MPR 率が得られたほか、ITT 集団と切除集団のいずれにおいてもニボルマブ単剤と比較して高い MPR 率が得られた。さらに、pCR が得られた切除患者の割合はニボルマブ+イピリムマブ群で 38%であったのに対し、ニボルマブ群ではわずか 10%であった。併用療法で治療された腫瘍の生存率はニボルマブ単剤で治療された腫瘍の生存率よりも大幅に低かった。毒性プロファイルは全般的に管理可能であり、新たな安全上の懸念は認められなかった。ニ

従来、ネオアジュバント化学療法は限局性 NS CLC 患者における MPR 率を 7~27%としている 4671213。ネオアジュバント療法における抗 PD-1/PD-L1 単剤療法の臨床活性を検討した過去の研究では、切除可能な NS CLC 患者における MPR 率は 19~45%と報告されている 14-16。今回の研究では、ニボルマブ単剤療法により治療患者 23 例で 22%、切除腫瘍 21 例で 24%の MPR が得られた。ニボルマブにイピリムマブを追加すると、切除患者でニボルマブ単剤投与の 2 倍の MPR が得られ(50%対 24%)、ニボルマブと比較して pCR の割合が高かった(38%対 10%)。これに対して、プラチナ製剤を含む 2 剤併用によるネオアジュバント化学療法のいくつかの臨床

試験では、pCR の中央値が 4%<sup>5</sup> と報告されており、化学療法を温存するレジメンの方が腫瘍の完全退縮が得られる頻度が高いことが示されている。しかしながら、ネオアジュバントニボルマブ+イピリムマブに対する MPR 率の 95%CI は比較的広く(18~62%)、より大規模な試験を実施することで、化学療法単独と比較した主要評価項目の増加幅をより正確に

ニボルマブ+イピリムマブによる治療を受けた腫瘍の免疫構成はニボルマブ単独療法を受けた腫瘍とは異なり、併用治療を受けた腫瘍では T 細胞浸潤の亢進が認められたが、免疫細胞浸潤は MPR とは無関係であった。メラノーマを対象とした高用量イピリムマブを用いた研究では、奏効した腫瘍における免疫細胞浸潤の亢進が報告された<sup>17</sup>。本研究では、一部の腫瘍で病理学的奏効が得られなかったことから、解析に用いることができず、イピリムマブ投与から手術までの期間が最大の免疫細胞応答と一致しなかった可能性がある。ニボルマブ+イピリムマブによる治療を受けた腫瘍では、ニボルマブ単剤による治療を受けた腫瘍と比較して、CD4 陽性(非 Treg)CD103 陽性および CD8 陽性 CD103 陽性 TRM ならびにエフ

エフェクターメモリーT 細胞の頻度が高いことが認められた。早期腫瘍は外科的切除後に再発する傾向があることを考えると、この観察結果は特に有望である。我々の知る限り、本研究は切除された NSCLC の臨床検体において、CD EXTRA 8 陽性 CD103 陽性 TRM TIL が生存期間の延長と相関することが早期 NSCLC 患者 18 およびその他の種類のがん患者 19 で実証された。Wei ら 20 は、CTLA-4 と PD-1 を遮断する併用療法が枯渇した CD8 陽性 T 細胞の増殖から活性化エフェクターCD8 陽性 T 細胞の増殖への切り替えを媒介することを示した。ニボルマブにイピリムマブを追加

奏効した患者のベースライン検体では腫瘍 PD-L1 の発現が全体的に高かったが、治療前の腫瘍 PD-L1 が欠如していた患者でも奏効が認められた。同様に、切除可能な NSCLC 患者を対象としたネオオジュバント免疫療法の研究では、PD-L 11421 とは無関係に奏効が報告されており、腫瘍 PD-L1 と奏効の関係を明らかにするためには、より大規模なコホートを対象とした研究が必要であることが示された。

少数のサンプルで実施された TCR 配列決定の結果から、治療前の末梢から治療後の切除腫瘍への T 細胞のホーミングの可能性が示唆された。腫瘍に隣接した病変のない肺のサンプルと比較して、治療を受けた腫瘍では TCR の豊富さとクローン性が高いことから、ネオアジュバント免疫チェックポイント遮断後には切除腫瘍の T 細胞レパートリーがより多様化している可能性が示唆され、これらの結果は反応とは無関係であったものの、高いクローン性を示すのは優性クローンのサブセットであったと考えられる。対照的に、未治療の NSCLC 患者と切除された NSCLC 患者を対象とした研究では、病変のない切除肺で TCR のクローン性がより高いことが観察されました<sup>22</sup>。末梢から切除された腫瘍への T 細胞クローンの増殖は、ネオアジュバント療法後の優性クローンの動員を反映している可能性がある。ただし、より大規模なサンプルセットを対象としたさらなる研究が必要である。他のがんの研究では、メラノーマ患者においてベースライン時のよりクローン性の T 細胞レパートリーがネオアジュバント ICI 療法に対する反応と相関することが示唆されており、治療により既存の高頻度クローンがさらに増殖することが示されています<sup>23</sup>。Amaria ら<sup>17</sup> は、メラノーマ患者においてベースライン時のよりクロ

一性 T 細胞レパトリーがネオアジュバント ICI 療法に対する反応と相関することを実証した。Blank ら 24 は、ネオアジュバント併用療法を受けた患者と比較して

X 線による腫瘍縮小と病理学的な腫瘍縮小との間には正の相関が認められたが、一部の症例では、画像検査が病理学的な腫瘍縮小の程度を過小評価しており、術前補助療法に対する反応を正確に捉えるには画像検査に限界があることが強調された。ネオアジュバント化学療法に対する病理組織学的反応は、CT 1325 での反応と比較して、生存転帰改善のより強力な予測因子であることを以前に示した。今回の研究では、一部の患者で NIF と呼ばれる現象が発生したことにも注目した。NIF は、ベースライン時に組織学的に陰性であったリンパ節が、ネオアジュバント ICI 療法後に腫大および/または FDG-avid となったリンパ節に転移があるかどうかをエックス線像で確認することを特徴とする。治療後の腫大したリンパ節/フレアリングリンパ節の侵襲的な病理学的検査では、悪性腫瘍の証拠を伴わない免疫細胞浸潤および肉芽腫が明らかにされた 11。侵襲的な再病期診断により、X 線による偽

ICI の投与は 16S V4 rRNA 遺伝子配列決定法で評価されたマイクロバイオームの多様性、構造および組成に有意な影響を及ぼさないことが今回のマイクロバイオーム解析により明らかにされた。しかしながら、定性的なバイオマーカー検出解析では、治療前検体中のルミノコッカス属属の存在量が多いことがニボルマブ+イピリムマブに対する MPR と関連することが実証された。最近の研究では、メラノーマ患者 26 の MPR と便中のアッケルマンシア属属の存在量が多いことが ICI に対する反応と関連していることが示された。また、ベースライン検体中のアッカーマンシア・ムシニフィラ属の存在量が多いことがニボルマブ+イピリムマブに対する MPR と関連しており、切除された腫瘍の TCR クローン性と正の相関を示すことも明らかにされた。同様に、過去の研究 2627 では、ICI を投与されたメラノーマ、NSCLC および腎細胞癌患者における良好な臨床転帰と関連していた。我々の研究結果は、ICI に対する腫瘍の反応を調節する上で

本研究にはいくつかの限界がある。2 つの治療群間の臨床活性と免疫応答の差を正式に検定する検出力はなく、ネオアジュバント化



学療法 of 既存対照を用いて両治療群間の腫瘍反応を比較する検出力はなかった。報告された比較の結果は探索的かつ仮説生成的なものであり、腸内細菌叢の質的分析と相関分析の知見も含まれており、提案されたバイオマーカーである細菌の定量的測定による検証やより詳細な分類学的・機能的特徴づけなどの追加研究が必要である。治療前後の検体数と切除腫瘍由来の組織数には限界があったが、我々の知る限りでは、本研究は切除可能な NSCLC 患者を対象としてニボルマブ単剤によるネオアジュバント療法とニボルマブ+イピリムマブ併用療法の影響を比較した最初の完了したランダム化研究であり、併用療法後の切除患者における 50% の MPR 率は有望であり、より大規模な研究におけるさらなる評価の基盤を提供するものである。一次治療としてニボルマブ+イピリムマブを投与した場合、PD-L1 の発現に関係なく、化学療法と比較して OS 期間が延長した 1028。これらの知見と NEOSTAR 試験の結果から、ニボルマブ+イピリムマブ併用療法は切除可能な NSCLC 患者と転移性 NSCLC 患者

この 2 つの治療群間の差には説得力があることが判明した。最近実施されたナディム 29 試験とアテゾリズマブ+化学療法併用に関する 21 試験の結果から、化学療法併用に ICI 療法を併用することでさらなる臨床効果が得られる可能性が示唆されている。これらの結果と CheckMate 9 LA 試験の最近の知見(進行 NSCLC の一次治療としてのニボルマブ+イピリムマブと化学療法の併用が化学療法単独と比較して生存期間を延長したことが示された 30)に基づいて、本試験では、ネオアジュバント化学療法に追加する 2 剤併用 ICI 療法の役割を評価するための準備を整えた(NCT03158129)。

結論として、今回の知見は、ニボルマブにネオアジュバントとしてイピリムマブを追加することで MPR および pCR の割合が高まり、腫瘍の免疫浸潤および免疫記憶が亢進するというエビデンスを提供するものである。ニボルマブとイピリムマブの併用については、切除可能な NSCLC 患者を対象として周術期にさらに検討する価値がある。

[以下にアクセスする:](#)

## 15 方法

---

### 16 試験デザイン、仮説、エンドポイント

本試験は、第 2 相非盲検単一施設ランダム化試験であり、最初の 2 群の終了後にモジュール方式のプラットフォームデザインへと発展した。当初の試験デザインでは、適格患者を 2 群に等しくランダムに割り付けることが求められていたが、試験開始後には、最初の 2 群を追跡する複数の独立した単一群試験のプラットフォームに変更され、より大規模で決定的な試験で検証されるネオアジュバント設定での ICI ベースの有望な新規戦略の調査を促進することを目標として、個別に解析・報告されることが期待された。本試験の最初の 2 群は登録が完了しており、ここに報告する。本試験の最初の 2 群は、試験の最初の 2 群に 1:1 の比率でランダムに割り付けられ、ニボルマブ単剤またはニボルマブとイピリムマブの併用のいずれかで治療された患者であった。本試験で検証すべき主要な仮説は、外科的切除が可能な I~IIIA 期の NSCLC 患者において、ニボルマブ単独および/またはニボルマブ+イピリムマブによる導入免疫療法により 40%以上の MPR 率が得られるというものであり、その目標奏効率は、プラチナベースの導入化学療法単独後に観察された 15%(MD Anderson の既存対照 4 で観察された)よりも優れているというものであった。本試験で検証すべき主要な仮説は、評価可能

な 21 人の患者において、ニボルマブおよび/またはニボルマブ+イ  
ピリムマブによる導入免疫療法により、免疫応答(CD8+TIL で評価)  
および腫瘍縮小(X 線画像上で評価)が誘導され、RFS および OS が  
改善するというものであった。これらの患者における相関研究の解  
析は、NSCLC における免疫療法薬への反応を予測するバイオマー  
カーの開発およびネオアジュバント免疫療法による免疫調節の判定  
に役立つであろう。本試験の主要評価項目は、MPR(ネオアジュバン  
ト療法後に最初に切除した腫瘍床において生存腫瘍細胞が 10%以  
下と定義)であった。本試験の主要評価項目は、MPR(ネオアジュバ  
ント療法後に最初に切除した腫瘍床において生存腫瘍細胞が 10%  
以下と定義)であった。副次評価項目は、治療毒性、周術期の罹病  
率および死亡率、切除腫瘍組織中の CD8+T 細胞の定量、ORR、  
OS、肺癌関連 RFS、外科的切除の完全性、pCR、放射線学的反応  
および MPR と RFS および OS との相関、血液、組織および便のバ  
イオマーカーと有効性および毒性

## 17 被験者数の妥当性及び毒性モニタリングのガイドライン

Simon のミニマックス二段階デザイン 31 を適用して、各治療群の MPR 率を検定する。帰無仮説では過去の MPR 率を 15%<sup>4</sup> としたのに対し、対立仮説では MPR 率を 40%とした。第一段階では、各治療群に 15 人の患者が登録された。15 人の患者のうち MPR を経験した患者が 2 人以下であれば、その治療群への登録は打ち切られ、治療は無効とみなされ、3 人以上の MPR であれば、さらに 6 人が登録され、合計 21 人の患者が登録された。試験終了時に MPR を経験した患者が 6 人以上であれば、その治療は有効であり、そうでなければ無効とみなされる。MPR 率が 40%であれば検出力は 90%である。MPR 率が 15%であれば、早期中止の確率は 60%であり、平均被験者数は 17.4 人、片側第一種の過誤率は 10%である。上記の計算から、各群に 21 人の評価可能な患者が必要となる。評価可能な患者の割合を 5%と仮定すると(例えば、エンドポイントを評価する前に、患者が脱落したり、追跡不能になったり、治療に関連しない理由で同意を撤回したりした場合)、各群に合計 22 人の患者を登録する必要がある。登録された患者は有害事象(AE)についてモニタリングされた。有害事象は治験実施計画書に

記載された毒性管理のアルゴリズムに従って治療された。また、各治療群において周術期の毒性を正式にモニタリング

## 18 研究の監督、倫理上の承認および倫理基準

本試験は University of Texas MD Anderson Cancer Center の Institutional Review Board により承認された。Data and Safety Monitoring Board は、A 群(ニボルマブ)および B 群(ニボルマブ+イピリムマブ)にランダムに割り付けられた全被験者が試験中の治療を完了するまで監督を行った。データは治験責任医師により収集・解析され、著者全員が最終原稿の公表を承認・同意した。著者らは、データの正確性と完全性、ならびに試験が試験実施計画書に忠実であることを保証した。

## 19 参加者

本試験の組み入れ基準を満たした患者は 18 歳以上であり、米国癌医療施設認定合同機構(AJCC)第 7 版の病期分類に基づく病期 IA~IIIA 期の NSCLC 患者とされた。登録が認められたのは縦隔 N2 ステーション 1 施設のみであった。全ての患者は外科的切除が可能であり、Eastern Cooperative Group の performance

status(PS)が 0~1 であること、臓器機能が十分であること、心肺の状態が良好であることが条件とされた。自己免疫疾患、免疫不全、他の疾患に対する免疫療法歴を有する患者、過去 2 年以内に治療の継続を必要とする活動性感染症または悪性腫瘍を有していた患者は、本試験から除外された。最初の患者は 2017 年 6 月 16 日に、最後の患者は 2018 年 11 月 15 日に試験に組み入れられ、MD Anderson Cancer Center でスクリーニング、登録、治療が行われた。

## 20 介入。

本論文に採用された患者は、D1、D15 及び D29 においてニボルマブ 3 mg kg<sup>-1</sup> の静脈内投与を受ける群と、D1 のみにおいてニボルマブ+イピリムマブ 1 mg kg<sup>-1</sup> の静脈内投与を受ける群に 1:1 の比率でランダムに割り付けられた。治療を担当する治験コーディネーターが患者を試験に登録して同意を得た上で、治験コーディネーターが同意した被験者を試験への介入に割り付けた。ランダム化は生物統計部のデータベースシステムを用いて、病期を層別因子とするパーコック・サイモン最小化法を適用して実施された。本試験では盲検

化は行われなかった。ランダム化前に、患者は PET-CT、造影 CT、脳 MRI などの臨床病期分類を受けた。ベースライン時の侵襲的縦隔病期分類は、気管支内超音波検査または縦隔鏡検査とともに強く推奨された。CT および PET-CT がネオアジュバント免疫療法完了後 14 日以上経過した時点で再度実施され、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors(RECIST)v.1.133 に従って、経験豊富な臨床放射線科医 2 名が奏効を評価した。ネオアジュバント療法の最終投与後 21 日以上 42 日以内に原発腫瘍および縦隔リンパ節の外科的切除が計画された。原発腫瘍および縦隔リンパ節の外科的切除は、外科医の裁量と専門領域の基準に基づいて実施された。研究のランダム化部分は登録目標および追跡期間に達した。アジュバント化学療法および/または PORT は、治療を担当する医師の裁量で実施された。

## 21 病理学的評価

病理学的評価は、肺切除標本の肉眼的検査および病理組織学的検査で構成され、腫瘍または腫瘍床を肉眼的に同定した後、最大腫瘍(床)径 1 cm 当たり少なくとも 1 つの切片が病理組織学的検査の



ために提出された4。最初の代表的な切片で顕微鏡的に生存腫瘍の残存が認められなかった症例については、その後、腫瘍床全体がレビューのために提出された。計17例で腫瘍(床)がすべて提出された。病理組織学的検査では、レビューしたすべての腫瘍スライドの平均生存腫瘍細胞率が評価された4。生存腫瘍細胞が10%以下の腫瘍はMPR、生存腫瘍が0%の腫瘍はpCRと判定された。最初の臨床報告後、ネオアジュバント療法後の腫瘍反応の評価に経験を積んだ2名の病理医が盲検下で病理学的反応をレビューし、その平均スコアを最終解析に用いた。観察者間の一貫性を最大にするため、これら2名の病理医は、5~10枚のスライド標本を同時に検査した後、5~10枚のスライド標本を個別に検査するという最初の訓練期間を経ており、その後、腫瘍反応に関するレビューと合意が得られた12。縦隔および気管支周囲のリンパ節が提出され、ルーチンの方法で顕微鏡評価のために処理され、転移病変の検査が行われた。切除標本の腫瘍およびリンパ節の評価に基づき、AJCC第7版(2018年以前の症例)および第8版(2018年以降の症例)の肺癌の病期分類基準に従って病理学的病期分類が実施された。

## 22 統計的方法

2 つの治療群間の平均値を比較するためにスチューデントの t 検定が適用され、2 つの治療群間とカテゴリー変数との関連性を評価するためにカイニ乗検定又はフィッシャーの正確な検定<sup>34</sup>が適用された。主要な解析として、MPR 率は各試験群内の正確な 95%CI とともに推定された。試験終了時には、CI の下限値が Null MPR 率より大きければ、帰無仮説は棄却された。TRAE は頻度及び割合とともに要約された。その後の 2 つの治療群間の比較解析は探索的な性質のものとみなされた。相関解析では、連続変数を 2 つの独立した群間で比較するために Wilcoxon の順位和検定が用いられ、対データの比較には Wilcoxon の符号付順位検定が用いられた。適切な場合には正確な検定が実施された。2 つの連続変数間の相関を評価するためにスピアマンの相関係数が用いられた。統計の計算に用いられた正確な数値は、各図及び/又は図の凡例に記載される。OS はランダム化から死亡までの時間、肺癌関連 RFS はランダム化から再発または死亡のいずれか早い時点までの時間、最後の接触時点までの時間と定義された。肺癌関連 RFS はランダム化か

ら再発または死亡のいずれか早い時点までの時間、最後の接触時点までの時間と定義された。OS 及び肺癌関連 RFS はランダム化から再発または死亡のいずれか早い時点までの時間、最後の接触時点までの時間と定義された。OS 及び肺癌関連 RFS の分布は Kaplan-Meier 法 35 により推定された。各群間の生存期間の差を検定するために Logrank 検定が実施された。SAS(v.9.4)、R v.3.6.1、Microsoft Excel v.2016 及び GraphPad Prism v.8.00 を用いて臨床的解析が実施された。

## 23 組織、血液および便中の微生物叢のサンプリング

利用可能であれば、治療前(ベースライン)、治療中(長期的)、治療後、手術時および手術後の検体収集がバイオマーカー分析のために実施された。治療前の保存腫瘍組織または新鮮な腫瘍組織(保存腫瘍組織が利用できない場合)が診断のために採取され、利用可能であれば相関分析のために採取された。手術時には、腫瘍に隣接した侵されていない肺および腫瘍組織が病理組織学的分析およびバイオマーカー分析のために採取された。利用可能であれば、バイオマーカー分析のために治療前(1 回目の投与前)、毎回の治療

前(2回目と3回目の投与前)、ネオアジュバント療法の最後の少なくとも14日後(治療後、手術前)および手術後8週間以内に血液検体が採取された。利用可能であれば、微生物叢16S分析用の糞便検体が治療前および治療後(それぞれ1回目の投与前および最後の少なくとも14日後)に採取された。

## 24 マルチパラメータフローサイトメトリー

BD Medimachine System(BD Biosciences)を用いて新鮮な腫瘍組織を脱凝集し、フローサイトメトリー染色用の単一細胞懸濁液を作製した。表面染色は、1%ウシ血清アルブミンを添加した1X DPBS中で30分間の氷上で、蛍光色素結合モノクローナル抗体37を用いて実施した。モノクローナル抗体37は、CD45(BUV395,Clone HI30,カタログ番号563792),CD3(PerCP-Cy5.5,Clone SK7,カタログ番号340949,BD Biosciences),CD8(AF 700,Clone RPA-T8,カタログ番号557945,BD Biosciences),PD1(BV650,Clone EH12,カタログ番号564104,BD Biosciences),TIM3(BV605,Clone Ber-Act8,カタログ番号563162,BD Biosciences),CTLA-4(BV786,Clone BNI3,カタログ番号563931,BD Biosciences),GITR(AF 488,Clone eBioAITR,カタログ

番号 53-5875-42,eBioscience),LAG3(PE,Clone 3DS223H,カタログ  
番号 12-2239-42,eBioscience),CD56(PE-Cy7,Clone B159,カタログ  
番号 557747,BD Biosciences),ICOS(BV421,Clone C398.A4,カタログ  
番号 313524,BioLegend),および CD25(APCFire/750,Clone BC96,  
カタログ番号 302642,BioLegend)に対して用いられた。表面染色  
後、細胞を固定し、eBioscience™FOXP3/Transcription Factor  
Staining Buffer Set(カタログ番号 00-5523-00,ThermoFisher)を用  
いて透過処理した後、FOXP3(PE-eFluor610,カタログ番号 61-4776-  
42,eBioscience),ICOS(BIOS),および Ki67(APC,Clone 20Raj1,カタロ  
グ番号 17-5699-42,eBioscience)抗ヒト抗体を用いて染色した。試  
料は BD Fortessa X20 を用いて採取し、FlowJo Software  
v.10.5.3(Tree Star,Inc.)を用いて分析した。死細胞は LIVE/DEAD  
Fixable Yellow 死細胞 Staining 染料(カタログ番号 L-34968,Life  
Technologies)を用いて染色し、解析から除外した。提示した結果に  
関連する実験およびゲーティングは 1 回実施した。関連するゲーテ  
ィング戦略を Extended Data の図 10 に示す。Microsoft Excel  
v.2016 および Graph 345018 103 711 8.00 496 564651

## 25 MIF 染色および分析

MiF 染色は、以前に記載され検証された方法および試薬と同様の方法および試薬を用いて実施された 38.すなわち、4 $\mu$ m 厚のホルマリン固定パラフィン包埋(FFPE)腫瘍切片を自動染色システム(BOND-RX;Leica Microsystems)を用いて染色し、パネル 1:サイトケラチン(クローン AE1/AE3,希釈 1:300,Dako),PD-L1(クローン E1L3N,希釈 1:3000,Cell Signaling Technology),CD68(クローン PG-M1,希釈 1:450,Dako),CD3(カタログ番号 IS503,希釈 1:100,Dako),CD8(クローン C8/144B,希釈 1:300,サーモフィッシュャー・サイエンティフィック),PD-1(クローン EPR4877-2,希釈 1:250,Abcam),パネル 2:サイトケラチン(クローン AE1/AE3,希釈 1:300,Dako),CD8(クローン C8/144B,希釈 1:300,サーモフィッシュャー・サイエンティフィック),阿古屋 45 RO(クローン UCHL1,Cell Signaling Technology),グランザイム B(クローン 11F1,Cell Signaling Technology),FOXP3(クローン D2W8E,Cell Signaling Technology)パネル 1 では、T 細胞(CD3+)、細胞傷害性 T 細胞(CD3+CD8+)、細胞傷害性活性化 T 細胞(CD3+CD8+Granzyme B+)、エフェクター/メモリー細胞傷害性 T 細胞(CD3+CD8+CD45RO+)、および Treg 細胞(CD3+CD8 FOXP3+)が認められた。共局在する各細胞集団の密度は平均値として定量

され、最終データは 2 区画(腫瘍巣および腫瘍間質 40)における mm<sup>2</sup> 当たりの細胞数で表した。PD-L1 を発現する悪性細胞およびマクロファージも百分率で表した。全てのデータは R studio v.3.5.3(Phenopter v.0.2.2 packet,阿古屋 Biosciences/PerkinElmer)および SAS v.7.1 Enterprise を用いて統合された。提示された顕微鏡写真に関連する実験および採点は 1 回実施され、結果は Microsoft Excel v.2016 および GraphPad Prism v.8.00 を用いてプロットされた。503 797001 3.0.3 1039 0.3345 1.65 1.0.9 2.8.2 phenochart 阿古屋阿古屋阿古屋

## 26 PD-L1 の IHC と解析

FFPE 腫瘍組織を用い 11(クローン 28-8,希釈 1:100;Abcam)については、FFPE 腫瘍組織を用いて PD-L1(クローン 28-8,希釈 1:100;Abcam)の単一発色 IHC 法が実施され、抗体の条件はあらかじめ最適化及びバリデーションが行われた 41。IHC 染色は、標準的な自動化プロトコルに従って Leica Bond Max autostainer system(Leica Biosystems)を用いて実施された。簡潔に述べると、組織切片は Leica Bond プロトコルに従って脱パラフィン化及び再水

和処理された。抗原検索は Bond Solution no.2(Leica Biosystems, エチレンジアミン四酢酸に相当、pH 9.0)で 20 分間実施された。一次抗体は室温で 15 分間インキュベートされ、Bond Polymer Refine Detection kit(Leica Biosystems)を用いて色原体として 3,3'-ジアミノベンチジンを用いて検出された。スライドはヘマトキシリンで対比染色され、カバーガラスがかけられた。2 名の病理医が International Association for the Study of Lung Cancer のガイドライン 42 に従った標準的な顕微鏡検査により、生存能力のある悪性細胞の細胞膜における PD-L1 の発現を評価した。結果は、細胞膜染色が陽性の悪性細胞の割合として報告された。提示された顕微鏡写真に関連する実験および採点が 1 回行われ、Microsoft Excel v.2016 および 8.00

## 27 TCR-シークエンシング解析

QIAamp DNA Blood Mini Kit(血液 DNA 抽出)、Qiagen QIAamp DNA Mini キット(凍結検体)および Qiagen AllPrep DNA/RNA FFPE キット(FFPE 検体)を用いて、治療前の末梢血単核細胞(PBMC:7 例)および腫瘍組織(7 例)、治療後の PBMC(7 例)ならびに手術時の腫瘍(20 例)からゲノム DNA が抽出された。その後、



hsTCR $\beta$ immunSeq アッセイ(Adaptive Biotechnologies Inc.)を用いて抗原結合に関与する TCR の  $\beta$  鎖の可変 CDR3 領域の配列決定が行われた。その後、PCR 産物は MiSeq(Illumina)で配列決定された後、データデコンボリューションのために immunSeq Data Assistant を用いて Adaptive Biotechnologies にデータがアップロードされた(immunSeq Analyzer v.3)。CDR3 $\beta$  データから、T 細胞の豊富さ(T 細胞の多様性の尺度)と T 細胞のクローン性(T 細胞の反応性の尺度)を抽出した。統計学的有意水準は、Adaptive Biotechnologies Analyzer プラットフォームのデフォルト設定を用いて両側  $P < 0.01$  で設定された。手術時に各腫瘍で最も高頻度に検出されたクローンの上位 100 個がペア検体と比較され、それらが共有されていたか固有であったかが判断された。すべての指標の算出方法の詳細については 2243 年までに報告されており、Microsoft Excel v.2016 および GraphPad Prism v.8.00 を用いて結果をプロットした。

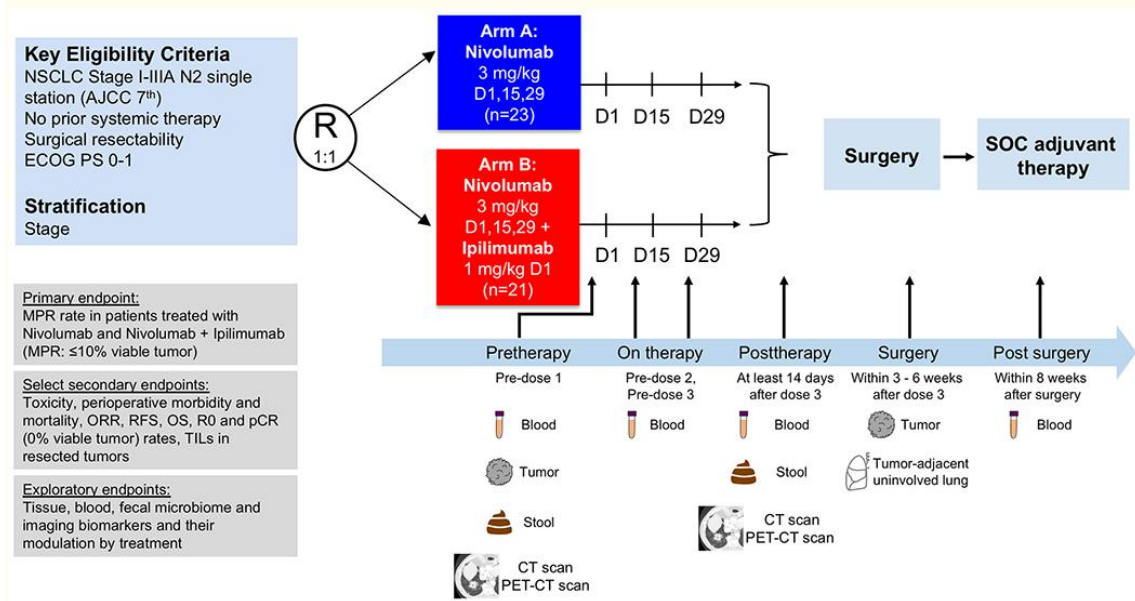
## 28 便中マイクロバイオーム検体の処理と分析

便のマイクロバイオーム解析では、QIAamp DNA Stool Kit(QIAGEN)を用いて便検体から全 DNA を抽出した後、ビーズ破碎溶解工程を実施した。細菌の 16S rRNA の V4 領域を増幅し、Illumina MiSeq プラットフォーム(Illumina,Inc.)を用いて 250 塩基対の読み取りを 2 回行った。VSEARCH を用いて両端の読み取りをマージおよび重複除外し、長さでソートした。その後、UNOISE アルゴリズム 44 v.3 を用いて配列をエラー修正し、キメラフィルターで処理し、操作分類単位(コノハズク属)と推定キメラを生成した。その後、UNOISE アルゴリズム 44 v.3 で同定されたキメラ配列を追加したが、Silva データベース v.12845 の正答率と OTU リストが一致し、合計 1849 個のコノハズク属が得られた。配列決定の深さは 1339~175238 の範囲であり、1 検体当たりの読み取り数の中央値は 11656 であった。1339 読み取りの希薄化カットオフ値を適用して、データセットに対して逆 Simpson インデックスとして報告された  $\alpha$  多様度指標の計算を行った。結果は、ggplot2 package(<https://ggplot2.tidyverse.org>)および GraphPad Prism v.8.00 を用いて R(R Core Team 2020;<https://www.R-project.org/>)にプロットされた。

[以下にアクセスする:](#)

## 29 拡張データ

### 30 拡張データ図 1.

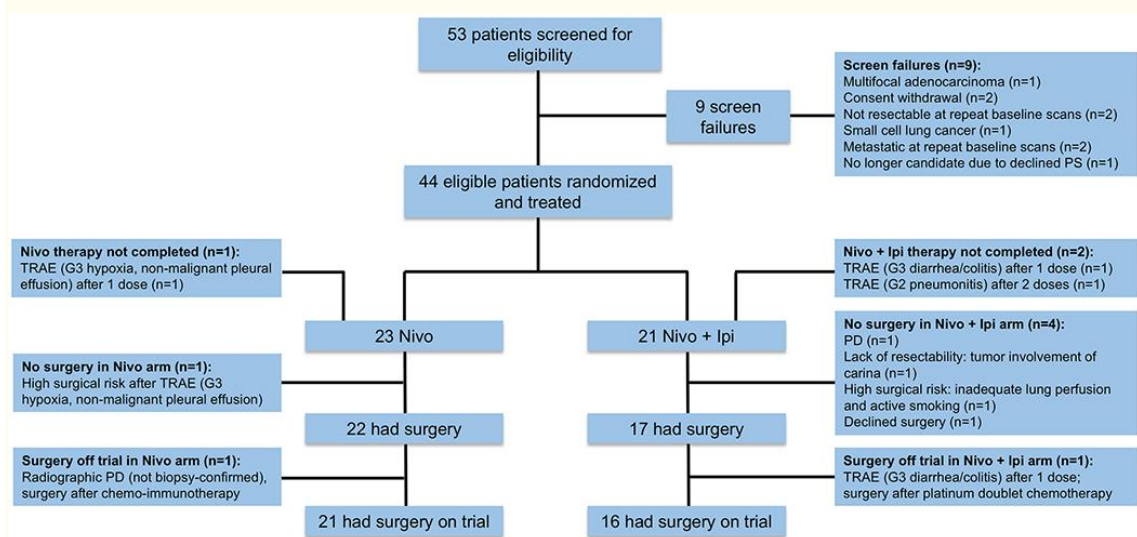


#### 試験の模式図

切除可能で病理学的に確認された臨床病期 I~IIIa 期(N2 単一施設)の NSCLC 患者が病期により層別化され、1:1 の比率でランダム化された。ネオアジュバント療法としてニボルマブ 3 mg/kg 14 日毎に最大 3 回まで静脈内投与(A 群;D1、D15 および D29)またはイピリムマブ 1 mg/kg 6 週毎に静脈内投与とニボルマブ 3 mg/kg 14 日毎に最大 3 回まで静脈内投与(B 群;D1 のみにイピリムマブ、D1、D15 および D29 にニボルマブ)を併用した後に外科的切除(ニボルマブの最終投与から 3 週間以上 6 週間以内)を行う群に割り付けられた。本試験の主要評価項目は MPR(切除された腫瘍検体中の生存腫瘍の割合が 10%以下と定義)とされ、副次的評価項目としては毒性、周術期の合併症発生率および死亡率、RECIST v.1.1 による客観的奏効率 (ORR)、生存転帰、根治的切除(R0)率、病理学的完全奏効(pCR)率(切除された腫瘍検体中の生存腫瘍の割合が 0%と定義)、切除された腫瘍組織中の TIL の定量などが選択され、探索的評価項目としてはバイオマーカーの解析と治療による調節などが選択された。治療前(初回投与前)およびネオアジュバント療法の最終投与後 14

日以上経過後(治療後)に CT および PET-CT による画像検査が実施され、腫瘍検体は腫瘍に隣接する非浸潤肺組織とともに手術前および手術時に採取され、便検体は治療前、2 回目および 3 回目の投与前、治療後(手術前)ならびに手術後 8 週間以内に縦断的な血液検体が採取された。NSCLC:非小細胞肺癌;ECOG PS:Eastern Cooperative Oncology Group performance status;MPR:主要病理学的反応;ORR:客観的反応率;RFS:無再発生存;OS:全生存;R0:外科的完全切除;pCR:病理学的完全奏効;TIL:腫瘍浸潤リンパ球。D:治療日。CT:コンピュータ断層撮影(CT)、PET-CT:ポジトロン放射形断層撮影(PET-CT)。

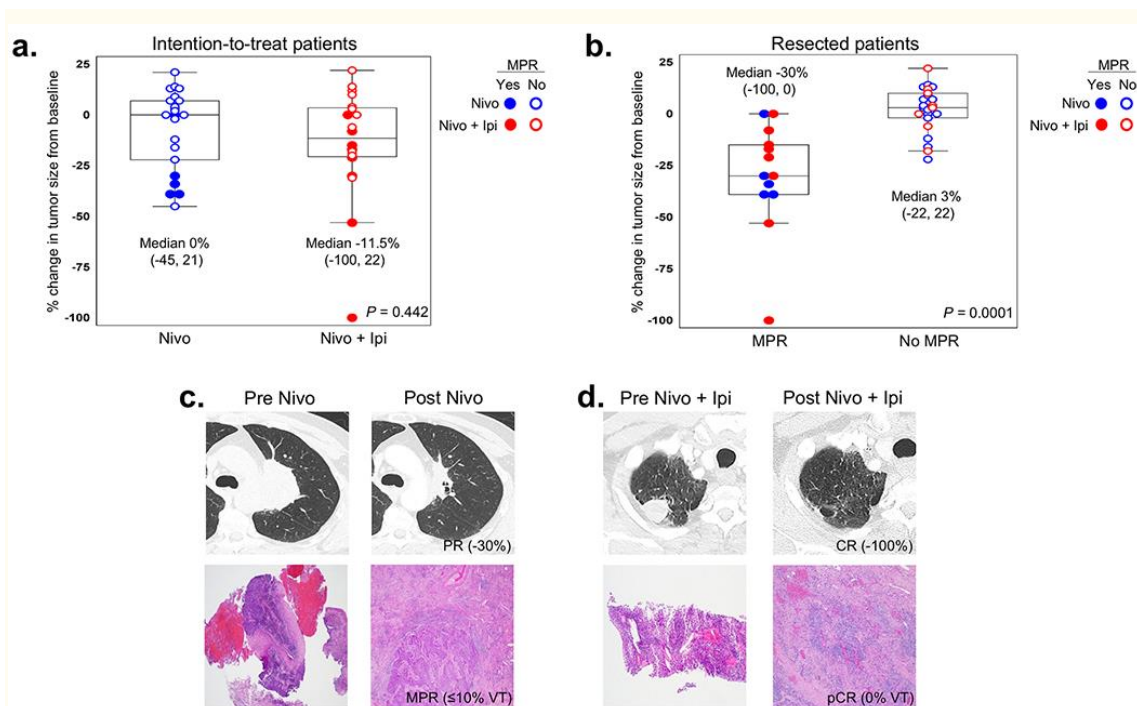
### 31 拡張データ図 2.



### Consolidated Standards of Reporting Trials(CONSORT)のフローチャート

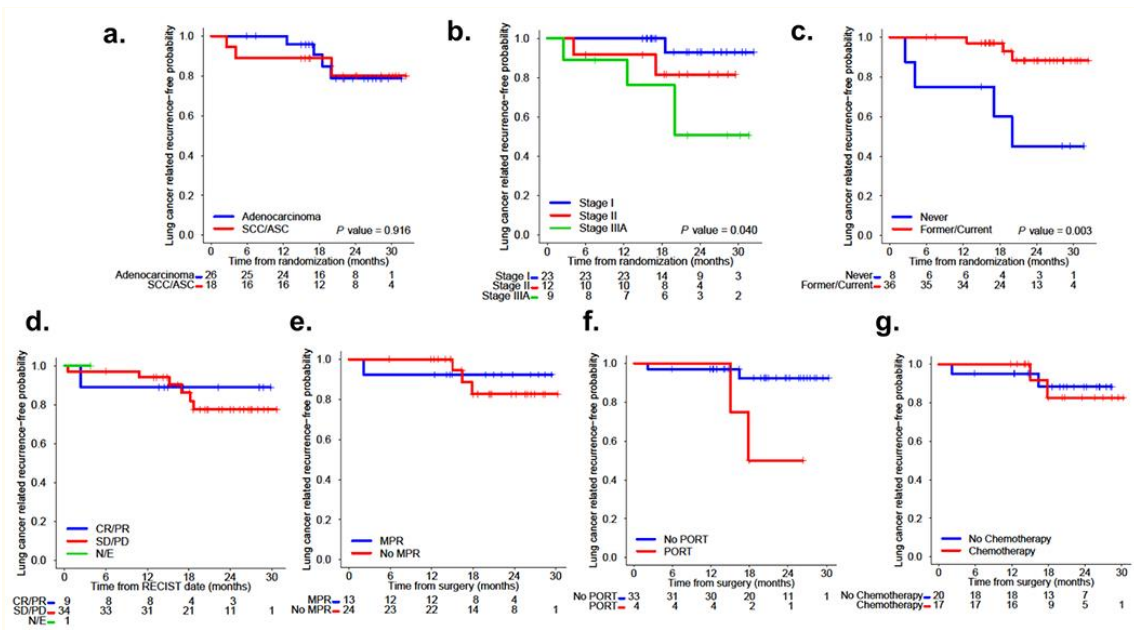
このフローチャートは、スクリーニング、ネオアジュバント療法へのランダム化、手術を含む治験の各相における患者の内訳を示したものであり、スクリーニングでの失敗、予定されたネオアジュバント療法が完了せず手術が実施されなかった理由、又は治験外で手術が実施された理由が示されている。SAE:重篤な有害事象、TRAE:治験薬と関連のある有害事象、PD:進行性疾患、PS:performance status

### 32 拡張データ図 3.



**ネオアジュバント ICI 療法後のベースラインからの治療群別および MPR 状態別の腫瘍サイズの変化。**

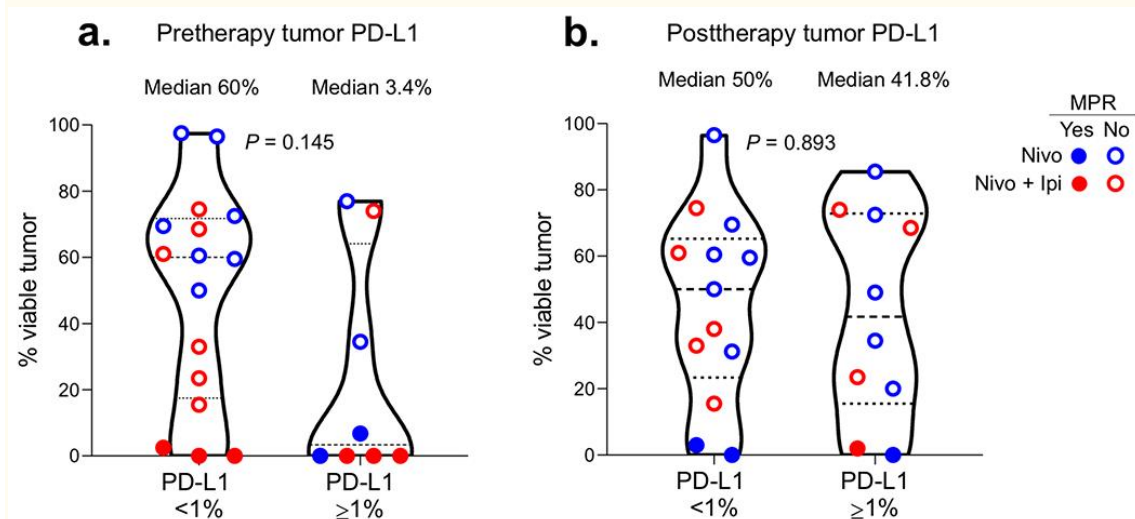
a,b:ITT 集団のネオアジュバント療法を受けた患者における治療前(ベースライン)からの腫瘍測定値の変化率(a)と切除された患者における MPR の状態(b)との関連性を示す。1 例では、本薬単独 3 回投与後に充実性病変が 1 cm 未満となり、ベースラインと比較して変化しなかった。反応は SD とされた。1 例では、ニボルマブ+イピリムマブの 1 回投与後に TRAE(SAE)が認められた。RECIST による反応及びベースラインからの腫瘍サイズの変化率(%)は評価不能とされた。ITT 集団:Nivo 群 22 例、Nivo+Ipi 群 20 例、切除された集団:MPR 群 13 例、MPR なし群 23 例。データは中央値と最小値、下位四分位及び上位四分位(75 及び 25 パーセンタイル値)、中央はボックス内の水平線、中央はボックス内の水平線、ウィスカーはボックス外の最大及び最小まで伸びる 2 本の線である。両側 P 値は Wilcoxon の順位和検定により求める。c,d:ニボルマブ前後の NSCLC(c)及びニボルマブ前後のイピリムマブ(d)の X 線(CT)及び病理(H&E)画像の例。CR:完全奏効、PR:部分奏効、MPR:病理学的主要奏効、pCR:病理学的完全奏効、VT:viable tumor、CT:コンピュータ断層撮影、H&E:ヘマトキシリン・エオジン染色。



## ニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法後の肺がん関連RFS に対する組織型、病期、喫煙状況、反応および術後治療の影響

a:ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法後の肺癌関連RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。腺癌患者 26 例(26/44 例 59%)のうち 4 例(4/26 例 15%)に進行が認められ、SCC/ASC 患者 18 例(18/44 例 41%)のうち 3 例(3/18 例 17%)に進行/死亡が認められた。b:ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法後の肺癌関連 RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。I 期患者 23 例(23/44 例 52%)のうち 1 例(1/23 例 4%)に進行が、II 期患者 12 例(12/44 例 27%)のうち 2 例(2/12 例 17%)に進行/死亡が、IIIA 期患者 9 例(9/44 例 20%)のうち 4 例(4/9 例 44%)に進行が認められた。c:ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法後の肺癌関連 RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。喫煙状況別のニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法後の肺癌関連 RFS の確率の Kaplan-Meier 曲線。CR/PR 患者 9 例(9/44 例 20%)(33/37 例、89%)、2 例(2/33 例、6%)で進行/死亡が認められた。g:ニボルマブ及びニボルマブ+イピリムマブのネオアジュバント療法後の肺癌関連 RFS に対するアジュバント療法の効果を探るために実施されたランダム解析から得られた Kaplan-Meier 曲線。アジュバント療法を受けた切除例 17 例(17/37 例、46%)のうち 2 例(2/17 例、12%)で進行が認められ、アジュバント療法を受けなかった切除例 20 例(20/37 例、54%)のうち 2 例(2/20 例、10%)で進行/死亡が認められた。SCC:扁平上皮癌、ASC:腺扁平上皮癌、喫煙歴なし、喫煙歴なし、前/現、前喫煙者/現喫煙者、CR:完全奏効、PR:部分奏効、SD:安定、PD:進行、MPR:主要な病理学的反応、N/E:評価不能、PORT:術後放射線治療。両側 P 値はログランク検定から求めた。2.2 15.0, 16.4 17.9

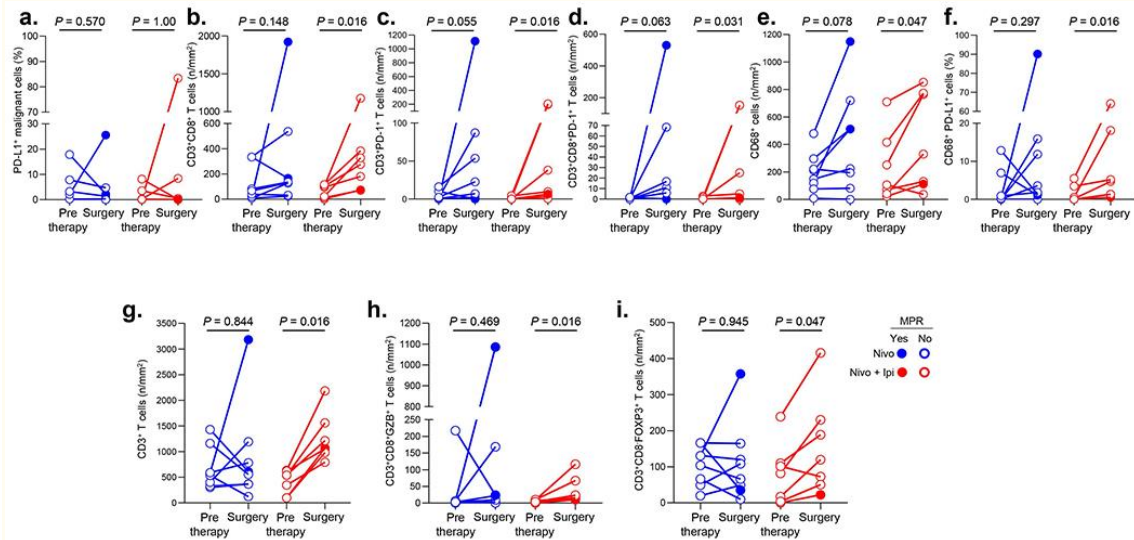
## 34 拡張データ図 5.



### 悪性細胞における腫瘍 PD-L1 の発現とネオアジュバントニボルマブおよびニボルマブ+イピリムマブに対する反応との関連

a,b:がん細胞における PD-L1 の IHC 発現(1%未満 vs 1%以上)に基づき、本薬及びニボルマブ+イピリムマブ投与後に切除された腫瘍検体中の生存腫瘍の割合。治療前の腫瘍 PD-L1:<1%,n=16;≥1%,n=8。治療後の腫瘍 PD-L1:<1%,n=13;≥1%,n=10。データは中央値で示し、最小四分位、最小四分位、最大四分位を示し、破線は中央値、点線は範囲の下位四分位及び上位四分位を示し、バイオリンプロットの上下は最小値及び最大値を示す。提示した結果に関連する実験及び採点は 1 回行われた。両側 P 値は Wilcoxon の順位和検定による。

## 35 拡張データ図 6.

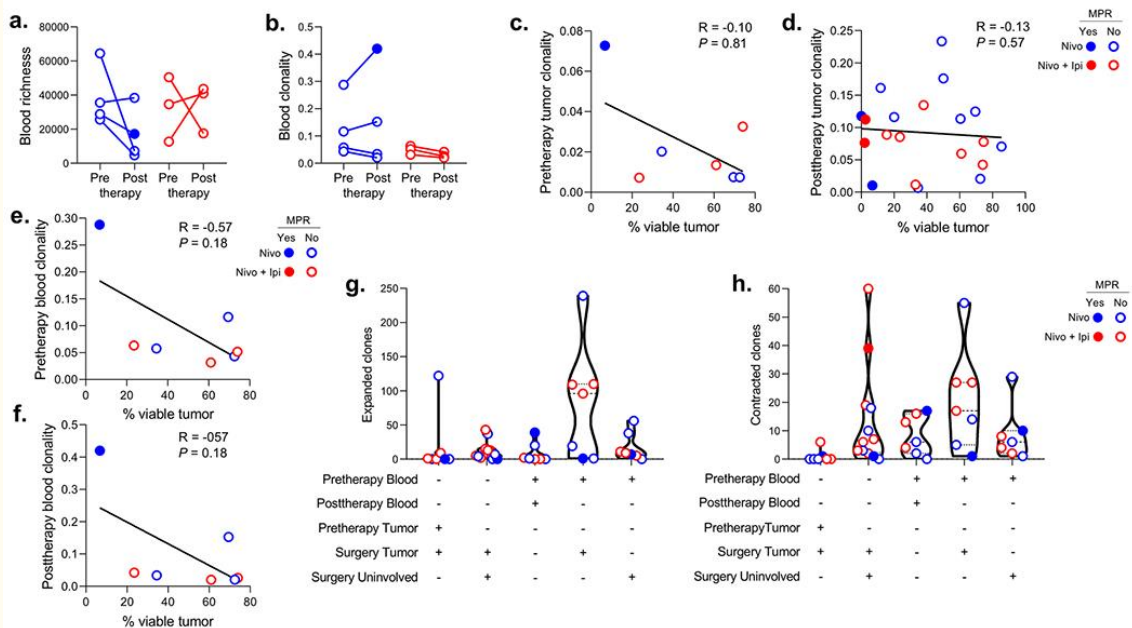


### 治療前および治療後の腫瘍における免疫浸潤物のマルチプレックス蛍光抗体法 (MiF)による VECTRA 染色。

a-f: MiF VECTRA パネル 1 の共発現マーカーを用いて同定された細胞集団の染色: 切除(手術)例における (g) PD-L1 陽性悪性細胞(%), (b) CD3 陽性 CD8 陽性 T 細胞 (n/mm<sup>2</sup>), (c) CD3 陽性 PD-1 陽性 T 細胞 (n/mm<sup>2</sup>), (d) CD3 陽性 CD8 陽性 PD-1 陽性 T 細胞 (n/mm<sup>2</sup>), (e) CD68 陽性細胞 (n/mm<sup>2</sup>), (f) CD68 陽性 PD-L1 陽性細胞 (%) と、治療前のニボルマブ(8 例)又はニボルマブ+イピリムマブ(7 例)との比較。g-i: MiF VECTRA パネル 2 の共発現マーカーを用いて同定された細胞集団の染色: 切除(手術)例における (g) CD3 陽性 T 細胞 (n/mm<sup>2</sup>), (h) CD3 陽性 CD8 陽性 GZB 陽性 T 細胞 (n/mm<sup>2</sup>), (i) CD3 陽性 CD8 陽性 FOXP3 陽性 T 細胞 (n/mm<sup>2</sup>) と、治療前のニボルマブ(8 例)又はニボルマブ+イピリムマブ(7 例)との比較。提示された結果に関連する実験及び採点は 1 回行われた。両側 P 値は Wilcoxon 符号付順位検定による。

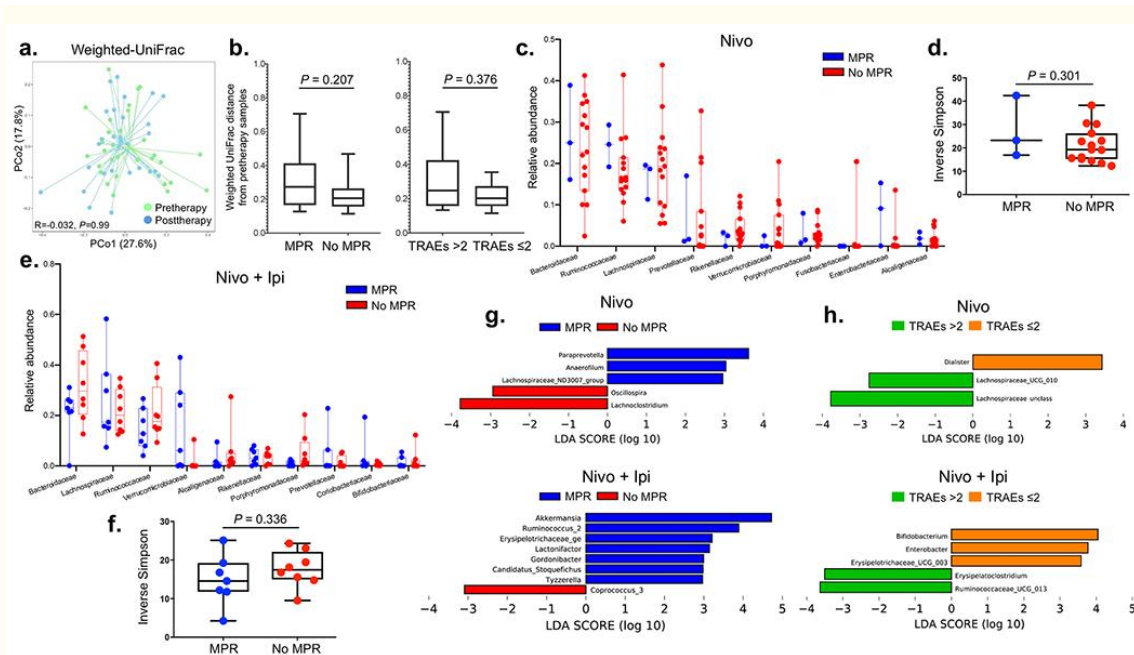
### 36 拡張データ図 7.





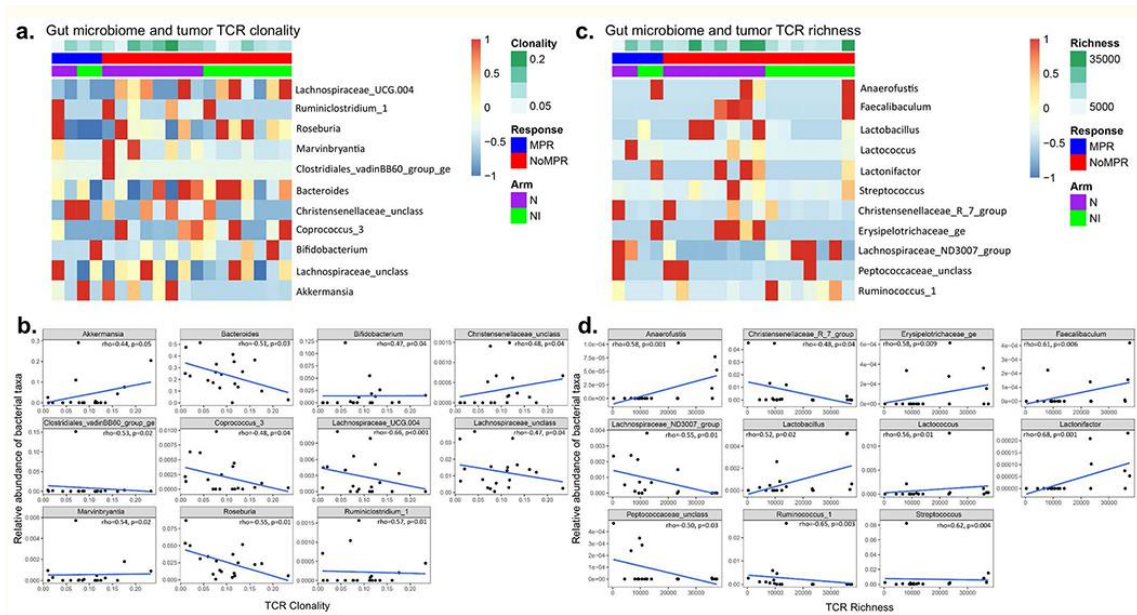
## ネオアジュバント治療後の T 細胞クローンの変化および腫瘍の病学的退縮との相関

a,b,術前ニボルマブ(n=4,青色)またはニボルマブ+イピリムマブ(n=3,赤色)投与後の治療前後(手術前)のマッチさせた血液検体における TCR レパートリーの豊富さ(a)およびクローン性(b)の変化。c-f:術前ニボルマブ(青色)またはニボルマブ+イピリムマブ(赤色)投与後の腫瘍(c,d)または血液(e,f)における術前(c,e)および治療後(d,f)における手術時の生存腫瘍の割合(%)と T 細胞のクローン性との相関。両側 P 値はスピアマンの順位相関に基づく。g,h:切除(手術腫瘍)と治療前(n=7),切除(手術腫瘍)と腫瘍隣接非浸潤肺(手術非浸潤)(n=12),治療後(手術前)と治療前(n=7),切除(手術腫瘍)と治療前(n=7),切除(手術腫瘍)と治療前(n=7),腫瘍隣接非浸潤肺(手術非浸潤)と治療前(n=7)の T 細胞クローンのうち、有意な増殖(g)および収縮(h)を示した T 細胞クローンの数(両側  $P < 0.01$ , Benjamin-Hochberg 調整後の偽発見率)。ニボルマブ(青色)およびニボルマブ+イピリムマブ(赤色)投与後の有意な増殖(g)および収縮(h)を示した T 細胞クローンの数(両側  $P < 0.01$ , Benjamin-Hochberg 調整後の偽発見率)。データは中央値で示し、最小点、最小四分位、最小四分位、最大四分位を示す。全てのバイオリンプロットは単一のデータ点を示し、破線は中央値を示し、点線は範囲の下位四分位と上位四分位を示す。バイオリンプロットの上下は最小値と最大値を示す。黒丸は MPR



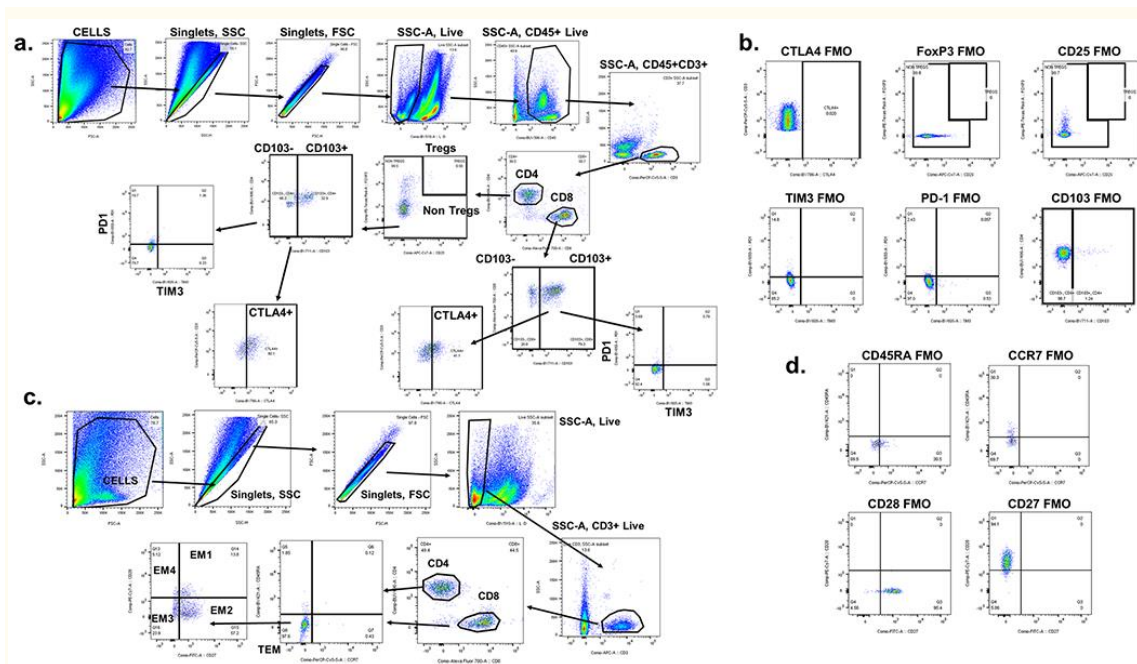
## 糞便中のマイクロバイオームの多様性と腫瘍の病理学的反応および TRAE との関連

a: Weighted uniFrac distance を用いた治療前(n=30)および治療後(n=28)の患者の便細菌叢の集積パターンを示す PCoA(principal coordinate analysis)からの順位プロット。両側 P 値は、これら 2 つのカテゴリ間の分類学的構成が有意に異なっていたかどうかを計算するために実施された類似度分析(ANOSIM)試験から得られた。b: マイクロバイオームデータを有する患者の反応群及び中毒群における治療前と治療後の検体間のペアワイズ距離のボックス-ウィスカプロット(n=25, MPR=9, MPR なし=16; 治療関連有害事象(TRAE)>2=12, TRAE≤2=13)。ボックス部は、本薬群の MPR(n=3)及び No MPR(n=15)で観察された家系内の細菌数の上位 10 個の相対分布のボックス-ウィスカプロット(上の図)。ウィスカーは、本薬群の MPR(n=3)及び No MPR(n=15)で観察された家系内の細菌数の上位 10 個の相対分布のボックス-ウィスカプロット(上の図)。ウィスカーは、本薬群の MPR(n=3)及び No MPR(n=15)で観察された MPR(n=3)と No MPR(n=15)との間に位置する。バーの長さは、属に関連する効果の大きさを示す。Kruskal-Wallis 要因検定の  $\alpha$  値 0.05 及び対数 LDA スコア 2 が識別特性の計算に用いられた。h: Kruskal-Wallis 要因検定の  $\alpha$  値 0.05 及び対数 LDA スコア 2 が識別特性の計算に用いられた。Kruskal-Wallis 要因検定の  $\alpha$  値 0.05 及び対数 LDA スコア 2 が識別特性の計算に用いられた。999 LefSe LefSe



### 糞便中のマイクロバイオームの多様性と腫瘍 TCR のクローン性および豊富さとの関連

ニボルマブ(n=10)群およびニボルマブ+イピリムマブ(n=9)群における治療前の分類学的存在量と治療後の腫瘍 TCR のクローン性(a)および豊富さ(c)を示す a,c,ヒートマップ。b,d,マイクロバイオームと TCR のクローン性(b)および豊富さ(d)との関係は線形回帰モデルを用いて解析された。Spearman 相関検定(両側)を用いて rho 値及び P 値が算出されたが、調整前の P 値のカットオフ値 0.05 が用いられた。



## フローサイトメトリーによる CD103 T 細胞および T 細胞メモリーパネルのゲーティング戦略

この表には、最初の QC ゲート(SSC singlets,FSC singlets,生細胞)に続いて免疫細胞サブセットを含めたゲーティング方策が示されている。ここに示した各 subgated 細胞集団について参照した頻度は親のゲートからのものである。a:Subgating は Treg 細胞、Treg 細胞以外の Treg 細胞及び T 細胞 8 陽性 T 細胞のサブセットで実施された。また、チェックポイント受容体の Subgating は TRM(tissue-resident memory:TRM)(CD103+)及び非 TRM(CD103-)T 細胞のサブセットでも評価された。矢印は個々のゲートを通る遷移を示す。b:CTLA-4,FoxP3,CD25,TIM3,PD-1 及び CD103 対照に対する蛍光-1(FMO)ゲーティングを示す。c:Subgating の T 細胞メモリーパネルは T 4+,CD8 陽性 T 細胞及び T 細胞 8 陽性 T 細胞のサブセットで実施された。矢印は個々のゲートを通る遷移を示す。d:CD45RA,CCR7,CD28 及び CD27 対照に対する蛍光-1(FMO)ゲーティングを示す。提示された結果に関連した実験とゲーティングは 1 回実施された。Subgating は親のゲートで 100 以上の事象が発生した場合にのみ実施された。

[以下にアクセスする:](#)

## 40 補足資料

41 1761424\_Sup\_Tab\_Info

ここをクリックすると表示される(44K,docx)

## 42 1761424\_Sup\_Tab\_1 期

表示するにはここをクリックしてください。(9.7K,xlsx)

## 43 1761424\_Sup\_Tab\_2

表示するにはここをクリックしてください。(9.5K,xlsx)

## 44 1761424\_Sup\_Tab\_3 期

表示するにはここをクリックしてください。(9.5K,xlsx)

## 45 1761424\_Sup\_Tab\_4 期

表示するにはここをクリックしてください。(14K,xlsx)

## 46 1761424\_Sup\_Tab\_5 期

表示するにはここをクリックしてください。(12K,xlsx)

## 47 1761424\_Sup\_Tab\_6 期

表示するにはここをクリックしてください。(11K,xlsx)

## 48 1761424\_Sup\_Tab\_7

表示するにはここをクリックしてください。(11K,xlsx)

## 49 1761424\_Sup\_Tab\_8

表示するにはここをクリックしてください。(11K,xlsx)

## 50 1761424\_Sup\_Tab\_9

表示するにはここをクリックしてください。(10K,xlsx)

## 51 1761424\_Sup\_Tab\_10

表示するにはここをクリックしてください。(11K,xlsx)

## 52 1761424\_SD\_☒ 1

表示するにはここをクリックしてください。(20K,xlsx)

53 1761424\_SD\_図 2

表示するにはここをクリックしてください。(14K,xlsx)

54 1761424\_SD\_図 3

表示するにはここをクリックしてください。(13K,xlsx)

55 1761424\_SD\_図 4

表示するにはここをクリックしてください。(21K,xlsx)

56 1761424\_SD\_図 5

表示するにはここをクリックしてください。(22K,xlsx)

57 1761424\_SD\_ED\_図 3

表示するにはここをクリックしてください。(12K,xlsx)

58 1761424\_SD\_ED\_図 4

表示するにはここをクリックしてください。(28K,xlsx)

59 1761424\_SD\_ED\_図 5

表示するにはここをクリックしてください。(11K,xlsx)

60 1761424\_SD\_ED\_図 6

表示するにはここをクリックしてください。(24K,xlsx)

61 1761424\_SD\_ED\_図 7

表示するにはここをクリックしてください。(24K,xlsx)

62 1761424\_SD\_ED\_図 9

表示するにはここをクリックしてください。(18K,xlsx)

表示するにはここをクリックしてください。(116K,xlsx)

[以下にアクセスする:](#)

## 64 謝辞

---

本研究に参加された患者とその家族に感謝するとともに、MD Anderson Cancer Center の Department of Thoracic/Head and Neck Medical Oncology および Thoracic Surgery の規制チーム、臨床チーム、データ調整チーム、トランスレーショナルリサーチチームのメンバーにも本試験への支援をいただいたことに感謝する。ブリストル・マイヤーズスクイブおよび MD Anderson Cancer Center の戦略的提携チーム(E.B.Roarty および A.Spelman)の支援に感謝する。Translational Microbiome Immune-Profiling Laboratory(TMP-IL)のメンバーである B.Sanchez Espiridon,S.Wijeratne,C-W.B.Chow,W.Lu,L.Kakorala,M.Jiang,A E.Tamegnon および J.Zhou,J.Zhou の技術支援に対して、また Department of Genomic Medicine の L.Little および C.Gummbbs に対して画像解析における病理の支援に対して感謝する。著者らは、ここに発表されたマイクロ

バイオーム結果の解析と解釈を支援してくれた MD Anderson's Program for Innovative Microbiome and Translational Research(PRIME-TR)に感謝する(J.A wargo および N 本研究はまた、University of Texas MD Anderson Cancer Center Lung Cancer Moon Shot Program、University of Texas MD Anderson Cancer Center Physician Scientist Program(T.J.マーテル Foundation から T.C.へ)、ハリーファ・ビン・ザード・アール・ナヒヤーン Foundation(T.C.へ)、Ford Patient Donation(J.V.ペトシーンへ)、Rexanna Foundation for Fighting Lung Cancer(T.C.,D.L.G.,J.V.H.B.S.へ)および Bob メイベリーFoundation(T.C.へ)への多大な寄付からも一部支援を受けた。070907 016672 2018 12895 分子病理学分子病理学ブリストル・マイヤーズスクイブメディカル・イラストレーター

## 65 競合する利益

T.C.は、Society for Immunotherapy of Cancer およびブリストル・マイヤーズスクイブから講演料、MedImmune/AstraZeneca およびブリストル・マイヤーズスクイブから顧問料、EMD Serono およびブリストル・マイヤーズスクイブからアドバイザー・ロール・フィー、ならびに Boehringer Ingelheim、MedImmune/AstraZeneca、EMD



Serono および Bristol-Myers Squibb から MD Anderson Cancer Center への研究費を報告している。W.N.W.Jr.は、Oncology および AstraZeneca からの顧問料、Boehringer Ingelheim からの講演料、Roche/Genentech、AstraZeneca、Boehringer Ingelheim、Bristol-Myers Squibb、Merck、Bayer、Pfizer および Eli Lilly からの謝礼金、ならびに OSI Pharmaceuticals、Boehringer Ingelheim、Bristol-Myers Squibb、Eli Lilly および Merck からの研究資金を報告している。

M.C.B.G.は Siemens Healthcare から研究資金の提供を受けている。H.T.T.は、Bayer-AS、Bristol-Myers Squibb、Ziopharm および Guardant Health から研究資金の提供を受けたことを報告している。N.K.は、Merck 社、Bristol-Myers Squibb 社、Abbvie 社 および Roche 社 から顧問料を受領している。A.S.T.は、Bristol-Myers Squibb、Eli Lilly、Genentech、Roche、Novartis、Ariad、EMD Serono、Merck、Seattle Genetics、AstraZeneca、Boehringer Ingelheim、Sellas Life Science、Takeda、Epizyme および Huron からアドバイザー/コンサルタント料を報告しており、Eli Lilly、Millennium、Polaris、Genentech、

Merck、Boehringer-Ingelheim、ブリストル・マイヤーズスクイブ、  
Ariad、Epizyme、Seattle Genetics、Takeda および EMD Serono か  
ら研究助成金を受けている。G.B.Jr は、Amgen、Bayer、ブリストル・  
マイヤーズスクイブ、Celgene、第一三共、Genentech、  
MedImmune、Merck、Roche、Xcovery から個人的な報酬と研究資  
金を受けており、Adaptimmune、Exelixis、GlaxoSmithKline、  
Immatics、Immunocore、Incyte、Kite pharma、Macrogenics、  
Torque、AstraZeneca、Tmunity、Regeneron、Beigene、Novartis、  
Parity Immune Medicines から研究資金を受けており、Abbvie、  
Adicet、Amgen、Araid、クロヴィス Oncology、AstraZeneca、Bristol  
マイヤーSquibb、Celgene、Genentech、Gilead、Merck、Novartis、  
Roche、Virogin Biotech、John&Johnson/Janssen、Maverick  
Therapeutics から個人的な報酬を受けている。X.L.は Eli Lilly 社、  
AstraZeneca 社および EMD Serono 社からコンサルタントおよびアド  
バイザリーフィーを受けており、Eli Lilly 社、Boehringer Ingelheim  
社および Spectrum Pharmaceuticals 社から研究資金の提供を受け  
ている。J.Z.は、Merck 社、Johnson and Johnson 社からの補助金、  
ならびにブリストル・マイヤーズスクイブ社、AstraZeneca 社、

GenePlus 社、Innovent 社、OrigMed 社および Roche 社からのコンサルタント料、アドバイザーフィーまたは謝礼金を、提出された業務以外で報告する。M.A は MD Anderson Cancer Center に対して、Genentech 社、ネクターtherapeutics 社、Merck 社、GlaxoSmithKline 社、Novartis 社、Jounce therapeutics 社、ブリストル・マイヤーズスクイブ社、Eli Lilly 社、anderson cancer center に報告しており、GlaxoSmithKline 社および Shattuck 社から顧問料を受け取っている。AdaptimmuneB.G.は MD Anderson Cancer Center に対して、Pfizer Inc.、ISA Pharmaceuticals、MedImmune/AstraZeneca および Cue Bio からの研究資金提供を報告している。L.A.B.は、AstraZeneca、AbbVie、ジェンマブ、PharmaMar および Sierra Oncology からアドバイザー/コンサルタント料および研究資金の提供を受けており、Genentech、ブリストル・マイヤーズスクイブ、Alechia、Merck および Pfizer からアドバイザー/コンサルタント料の提供を受けているほか、ToleroPharmaceuticals からも研究資金の提供を受けている。W.L.H.は Johnson&Johnson から研究資金の提供を受けている。J.A.R.は、コンサルタント、科学アドバイザー、出資比率、Genprex が

ライセンス供与した知的財産権に関する発明者、Genprex がスポンサーとなる研究に関する PI としての報酬を報告している。H.K.は Johnson and Johnson から MD Anderson Cancer Center への資金拠出を受けている。C.H.は Briacell の諮問委員会のメンバーを務めている。R.R.J.は Merck、Karius および Microbiome DX からコンサルタントの職務報酬を、セレスからアドバイザーメンバーの職務報酬を、セレスからカレイドおよび特許のライセンス料を受け取っている。P.S.は、Achelois、Apricity ヘルス、BioAlta、Codiak BioSciences、Constellation、Dragonfly Therapeutics、Forty-Seven Inc.、Hummingbird、ImaginAb、Joson Therapeutics、Lava Therapeutics、Lytix Biopharma、Marker Therapeutics、Oncolytics、Infinity Pharma、BIOntech、Adaptive Biotechnologies および Polaris のコンサルティング、アドバイザー業務および/または株式/出資について報告しており、Joson Therapeutics にライセンス供与された特許を保有している。J.P.A.は、Achelois、Apricity ヘルス、BioAtla、Codiak BioSciences、Dragonfly Therapeutics、Forty-Seven Inc.、Hummingbird、ImaginAb、Jounce Therapeutics、Lava Therapeutics、Lytix Biopharma、Marker

Therapeutics、Polaris、BIOntech および Adaptive Biotechnologies のコンサルティング、顧問の役割および/または株式/出資について報告しており、Jounce Therapeutics にライセンスされた特許を保有している。J.A.W.は、University of Texas MD Anderson Cancer Center から提出された米国特許出願(PCT/US17/53.717)の発明者であり、マイクロバイオームを調整することで免疫チェックポイント遮断反応を強化する方法を対象とし、Imedex、Dava Oncology、Omniprex、Illumina、Gilead、PeerView、Physician Education Resource、MedImmune、Exelixis、およびブリストル・マイヤーズスクイブからの講演者事務局および謝礼金の報酬を報告し、Roche/Genentech、Novartis、AstraZeneca、GlaxoSmithKline、ブリストル・マイヤーズスクイブ、Merck、Biothera Pharmaceuticals および Microbium DX のコンサルタント/アドバイザリーボードメンバーを務め、GlaxoSmithKline、Roche/Genentech、ブリストル・マイヤーズスクイブおよび Novartis から研究支援を受けている。I.I.W.は、Genentech/Roche 社、Bayer 社、ブリストル・マイヤーズスクイブ社、AstraZeneca/Medimmune 社、Pfizer 社、HTG Molecular 社、Asuragen 社、Merck 社、GlaxoSmithKline 社、Guardant Health

社、Platform Health 社、Daiichi 社、Merck 社、Flame 社、  
Oncocyte 社および MSD 社から謝礼金を受領し、Genentech 社、  
Oncoplex 社、HTG Molecular 社、DepArray 社、Merck 社、ブリスト  
ル・マイヤーズスクイブ社、Medimmune 社、Adaptive 社、  
Adaptimmune 社、EMD Serono 社、Pfizer 社、Takeda 社、Amgen  
社、Karus 社、Johnson&Johnson 社、Bayer 社、Iovance 社、4D  
社、Novartis 社および阿古屋社から研究 S.G.S.reports speakers:講  
演者、旅費および宿泊費-Egyptian Society of Surgical  
Oncology/Best of SSO Cairo;West Hawaii Cancer  
Symposium;review panel participant、旅費および宿泊費-Peter マ  
ツカラム Cancer Centre;無報酬の諮問委員会参加者-Ethicon。  
D.L.G.は、AstraZeneca 社、Sanofi 社、Alethia Biotherapeutics 社お  
よび Janssen 社からの科学諮問委員会に対する謝金と、Janssen  
社、Takeda 社、リボン Therapeutics 社および AstraZeneca 社から  
の研究支援を報告している。J.V.H.は、AstraZeneca、Boehringer  
Ingelheim、ブリストル・マイヤーズスクイブ、Catalyst、EMD  
Serono、Foundation Medicine、Hengrui Therapeutics、  
Genentech、GSK、Guardant Health、Eli Lilly、Merck、Novartis、

Pfizer、Roche、Sanofi、Seattle Genetics、Spectrum および Takeda からの諮問委員会の報酬、AstraZeneca、GlaxoSmithKline、Spectrum からの研究支援、ならびに Spectrum からのロイヤルティ およびライセンス料を報告している。B.S.はブリストル・マイヤーズスクイブからの顧問料を報告する。残りの著者らは、報告することに関して競合する関心はない。

[以下にアクセスする:](#)

## 66 データの利用可能性

---

本研究の知見を裏付けるデータは、論文及びその補足情報ファイルから入手可能である。分類法は、16S rRNA 配列に関する Silva データベース(<https://www.arb-silva.de/>)を用いて決定された。TCR 配列決定データ(図 5 の知見を裏付けるもの、及び図 7 と 9 の拡張データ)9)は、immuneACCESS プラットフォーム (DOI:10.21417/TC2020NM;<http://clients.adaptivebiotech.com/pub/cascone-2020-nm>)に寄託され、一般に公開されている。16S 便中マイクロバイオーム配列決定データ(図 8 と 9 の拡張データ)9) は、National Center for Biotechnology Information Sequence Read Archive(SRA BioProject ID

PRJNA665109;https://www.ncbi.nlm.nih.gov/bioproject/PRJNA665109)に寄託され、一般に公開されている。本研究に関連するその他の全ての匿名化された関連データは、学術的な妥当な要請があれば責任著者(T.C.)から入手可能であり、研究者は承認後に University of Texas MD Anderson Cancer Center とのデータアクセス契約に署名する必要がある。原データは本稿とともに提供される。

[以下にアクセスする:](#)

## 67 参考文献

---

- 1.Martin J et al.切除可能な非小細胞肺癌における集学的治療の長期成績」(Journal of clinical oncology:American Society of Clinical Oncology 誌 20,1989-1995(2002).[PubMed][Google Scholar]
- 2.Pignon JP et al.Lung adjuvant cisplatin evaluation:a pooled analysis by the LACE Collaborative Group.Journal of clinical oncology:official journal of the American Society of Clinical Oncology 26,3552-3559(2008).[PubMed][Google Scholar]
- 3.Group,N.M.-a.C.Prenominal chemotherapy for non-small-cell lung cancer:a systematic review and meta-analysis of individual participant data.Lancet 383,1561-1571(2014).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 4.Pataer A,et al.病理組織学的反応基準は、切除された肺癌患者のネオアジュバント化学療法後の生存を予測する。Journal of thoracic oncology:International Association for the Study of Lung Cancer の公式発表 7,825-832(2012).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 5.ヘルマン MD,et al.,Pathological response after neoadjuvant chemotherapy in curable non-small-cell lung cancers:proposal for the use of major



- pathological response as surrogate endpoint. *Lancet Oncol* 15,e42-50(2014).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
6. Chaft JE et al. Phase II trial of neoadjuvant bevacizumab plus chemotherapy and adjuvant bevacizumab in patients with curable of nonsquamous non-small-cell lung cancer. *Journal of thoracic oncology: International Association for the Study of Lung Cancer の公式発表* 8,1084-1090(2013).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
7. Cascone T, et al. Induction Cisplatin Docetaxel Followed by Surgery and Erlotinib in Non-Small Cell Lung Cancer. *Ann Thorac Surg* 105,418-424(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
8. Wei SC, et al., Distinct Cellular Mechanism Underlying Anti-CTLA-4 and Anti-PD-1 Checkpoint Blockade. *Cell* 170,1120-1133 e1117(2017).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
9. ヘルマン MD et al., Nivolumab plus ipilimumab as first-line for advanced non-small-cell lung cancer (CheckMate 012): *Lancet, Oncol* 18,31-41(2017).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
10. ヘルマン MD et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine* 381,2020-2031(2019).[PubMed][Google Scholar]
11. Sepesi B, et al., Nodal Immune Flare (NIF) Following Neoadjuvant Anti-PD-1 and Anti-CTLA-4 Therapy in Non-Small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology* 14,S745 S745(2019).[Google Scholar]
12. Weissferdt A, et al. Agreement on Major Pathological Response in NSCLC Patients Receiving Neoadjuvant Chemotherapy. *Clin Lung Cancer*(2020).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
13. Cascone T, et al. A Phase I/II Study of Neoadjuvant Cisplatin, Docetaxel, and Nintedanib for Resectable Non-Small Cell Lung Cancer. *Clinical cancer research: 米国癌学会官報*(2020).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
14. フォード PM, et al. Neoadjuvant PD-1 Blockade in Resectable Lung Cancer. *The New England Journal of Medicine* 378,1976-1986(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
15. Kwiatkowski DJ, et al., Neoadjuvant atezolizumab in curable non-small cell lung cancer (NSCLC): Interim analysis and biomarker data from a multicenter study (LCMC3). *Journal of Clinical Oncology* 37,8503-8503(2019).[Google Scholar]

- 16.Gao S,et al.Neoadjuvant PD-1 inhibitor(Sintilimab)in NSCLC.Journal of thoracic oncology:Official Publication of the International Association for the Study of Lung Cancer 15,816-826(2020).[PubMed][Google Scholar]
- 17.Amaria RN,et al.,Neoadjuvant immune checkpoint blockade in high-risk cumulative melanoma.Nature medicine 24,1649-1654(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 18.Djenidi F et al.CD8+CD103+腫瘍浸潤リンパ球は、腫瘍特異的な組織常在性記憶 T 細胞であり、肺癌患者における生存の予後因子である。J Immunol 194,3475-3486(2015).[PubMed][Google Scholar]
- 19.Duhen T,et al.CD39 と CD103 の同時発現は、ヒト固形腫瘍において腫瘍反応性 CD8 T 細胞を同定する。Nature communications 9,2724(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 20.Wei SC,et al.抗 CT LA-4+抗 PD-1 チェックポイント阻害薬の併用は、単剤療法とは部分的に異なる細胞機序を利用する。Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 116,22699-22709(2019).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 21.Shu CA,et al.Neoadjuvant atezolizumab and chemotherapy in patients with curable non-small-cell lung cancer:an open-labeled,multicenter,single-arm,第 2 相試験。Lancet Oncol(2020).[PubMed][Google Scholar]
- 22.Reuben A et al.,Comprehensive T cell repertoire characterization of non-small cell lung cancer.Nature communications 11,603(2020).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 23.Wu TD,et al.,Peripheral T cell expansion は腫瘍浸潤と臨床反応を予測する。Nature 579,274-278(2020).[PubMed][Google Scholar]
- 24.Blank CU,et al.Nature medicine 24,1655-1661(2018).[PubMed][Google Scholar]
- 25.William WN Jr.et al.,Computed tomography RECIST assessment of histopathological response and prediction of survival in surgeable of non-small-cell lung cancer.Journal of thoracic oncology:International Association for the Study of Lung Cancer の公式発表 8,222-228(2013).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]
- 26.Gopalakrishnan V,et al.Gut microbiome modulate response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients.Science 359,97-103(2018).[PMC free article][PubMed][Google Scholar]

- 27.Routy B,et al.Gut microbial が上皮性腫瘍に対する PD-1 をベースとした免疫療法の有効性に影響を及ぼす。Science 359,91-97(2018).[PubMed][Google Scholar]
- 28.Ramalingam SS,et al.,Nivolumab+ipilimumab versus platinum-doublet chemotherapy as first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer:Three-year update from CheckMate 227 Part 1.Journal of Clinical Oncology 38,9500-9500(2020).[Google Scholar]
- 29.Provencio M,et al.,Neoadjuvant chemotherapy and nivolumab in curable non-small-cell lung cancer(ナディム):非盲検多施設共同単群第 2 相試験。Lancet Oncol 21,1413-1422(2020).[PubMed][Google Scholar]
- 30.Reck M,et al.IV 期/再発非小細胞肺癌(NSCLC)に対する一次治療(1L)としての Nivolumab(NIVO)+イピリムマブ(IPI)+プラチナ製剤を含む 2 サイクルの化学療法(chemo)vs 4 サイクルの化学療法(tx):CheckMate 9 LA.Journal of Clinical Oncology 38,9501-9501(2020).[Google Scholar]

[以下にアクセスする:](#)

## 68 方法のみに関する参考文献

---

- 31.Simon R 第 II 相臨床試験のための最適な 2 段階デザイン。対照 Clin Trials 10,1-10(1989)[PubMed][Google Scholar]
- 32.タール PF,Simon RM&Estey EH New statistical strategy for monitoring safety and efficacy in single-arm clinical trials.Journal of clinical oncology:米国臨床腫瘍学会(American Society of Clinical Oncology)のオフィシャルジャーナル 14,296-303(1996)[PubMed][Google Scholar]
- 33.Eisenhauer EA,et al.,New response evaluation criteria in solid tumors:revised RECIST guideline(version 1.1).Eur J Cancer 45,228-247(2009).[PubMed][Google Scholar]
- 34.Woolson R a.C WR.Statistical Methods for the Analysis of Biomedical Data(New York,2002).[Google Scholar]
- 35.Kaplan EL&Meier P Nonparametric-Estimation from Incomplete Observations.J Am Stat Assoc 53,457-481(1958).[Google Scholar]
- 36.Mantel N 生存データの評価及び検討の過程で新たに得られた 2 つの順位付け統計。Cancer Chemother Rep 50,163-170(1966).[PubMed][Google Scholar]

37. Bentebibel SE, et al., A First-in-Human Study and Biomarker Analysis of NKTR-214, a Novel IL-2 Receptor  $\gamma$  Chimeric Antigen Receptor, in Patients with Advanced or Metastatic Solid Tumors. *Cancer discovery* 9, 711-721 (2019). [PubMed][Google Scholar]
38. Parra ER, et al., Validation of multiplex immunofluorescence panels using multispectroscopy for immune-profiling of formalin-fixed and paraffin-embedded human tumor tissue. *Sci Rep* 7, 13380 (2017). [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
39. Parra ER, Francisco-Cruz A & Wistuba II. State-of-the-Art of Immune Contexture in the Era of Multiplexed Staining and Digital Analysis to Study Paraffin-Embedded Tumor Tissue. *Cancers (Basel)* 11 (2019). [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
40. Parra ER, et al. Procedural Requirements and Recommendations for Multiplex Immunofluorescence Tyramide Signal Amplification Assays to Support Translational Oncology Studies. *Cancers (Basel)* 12 (2020). [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
41. Parra ER, Biriya R, Mino B 及び Rodriguez-Canales J. Comparison of Differentiated Antibody Clones for Immunohistochemical Detection of Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1) on Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 26, 83-93 (2018). [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
42. Tsao MS, et al. PD-L1 Immunostimotomic Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *Journal of thoracic oncology: International Association for the Study of Lung Cancer の公式発表* 13, 1302-1311 (2018). [PMC free article][PubMed][Google Scholar]
43. Reuben A et al., TCR Paralyte Intratumoral Heterogeneity in Localized Lung Adenocarcinoma: an Association with Predicted Mutational Heterogeneity and Postsurgical Recurrence. *Cancer discovery* (2017). [PMC free article][PubMed][Google Scholar] 新抗原
44. Edgar RC UNOISE2: Illumina 16S および ITS アンプリコン配列決定のエラー修正が改善された。 *bioRxiv*, 081257 (2016). [Google Scholar]
45. Quast C, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Res* 41, D590-596 (2013). [PMC free article][PubMed][Google Scholar]