

INVITED REVIEW ARTICLE

免疫チェックポイント阻害薬の効果予測因子

越智宣昭¹・山根弘路¹・瀧川奈義夫¹

Predictive Factors for the Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors Against Lung Cancer

Nobuaki Ochi¹; Hiromichi Yamane¹; Nagio Takigawa¹

¹Department of General Internal Medicine 4, Kawasaki Medical School, Japan.

ABSTRACT — With the advent of immune checkpoint inhibitors, long-term survival can now be expected, even in patients who present with advanced non-small-cell lung cancer. While these drugs are used for many lung cancer patients and are expected to be more effective when used in combination with cytotoxic anticancer agents than when administered alone, the cost and toxicity of immune checkpoint inhibitors are also a major concern. It is therefore necessary to urgently identify the predictors of effectiveness that can reduce the risk of additional toxicities and cost by accurately identifying the patients who should and should not be using these drugs in advance. With regard to predictors of the efficacy of immune checkpoint inhibitors, factors such as the tumor PD-L1 expression and tumor mutational burden have attracted attention, and some predictive factors are already widely used in clinical practice. Unfortunately, however, none of these factors alone can sufficiently predict the effects of immune checkpoint inhibitors. We herein review the current status and future issues concerning predictive factors for the efficacy of immune checkpoint inhibitors.

(*JJLC*. 2022;62:355-362)

KEY WORDS — Non-small-cell lung cancer, Immune checkpoint inhibitor, Predictive factor, Biomarker, PD-L1

Corresponding author: Nobuaki Ochi.

要旨 — 免疫チェックポイント阻害薬の登場により、進行期非小細胞肺癌においても長期生存が期待される時代を迎えている。多くの肺癌患者に用いられるようになり、既存の治療との併用でさらなる有効性が期待される一方で、免疫チェックポイント阻害薬の費用や毒性も大きな問題となっている。真に用いるべき対象とそうでない対象を事前に明確にし、漠然と用いることによる毒性リスクを軽減し、費用を削減するための効果予測因子の同定は喫緊の課題である。腫瘍におけるPD-L1発現やTu-

mor mutational burden といった免疫チェックポイント阻害薬の効果予測マーカーが注目され、一部は実臨床ですでに広く使用されているもののいずれも単独では十分な効果予測因子とは言えない。本稿では免疫チェックポイント阻害薬の効果予測因子の現状と今後の課題について概説する。

索引用語 — 非小細胞肺癌, 免疫チェックポイント阻害薬, 効果予測因子, バイオマーカー, PD-L1

はじめに

本邦におけるがん統計において肺癌は、罹患数第3位(2018年)、死亡数第1位(2020年)を占め、5年相対生存率(2009~2011年)は膀胱癌(8.9%)、胆嚢・胆管癌(26.8%)について29.5%と予後不良な疾患である。特に

進行期肺癌の5年相対生存率は6.4%と極めて不良である。¹

非小細胞肺癌においては、2000年代初頭からepidermal growth factor receptor (EGFR) 遺伝子変異に対するチロシンキナーゼ阻害薬(TKI)であるゲフィチニブを初めとして、anaplastic lymphoma kinase (ALK) 融合遺伝

¹川崎医科大学総合内科学4.

論文責任者: 越智宣昭.

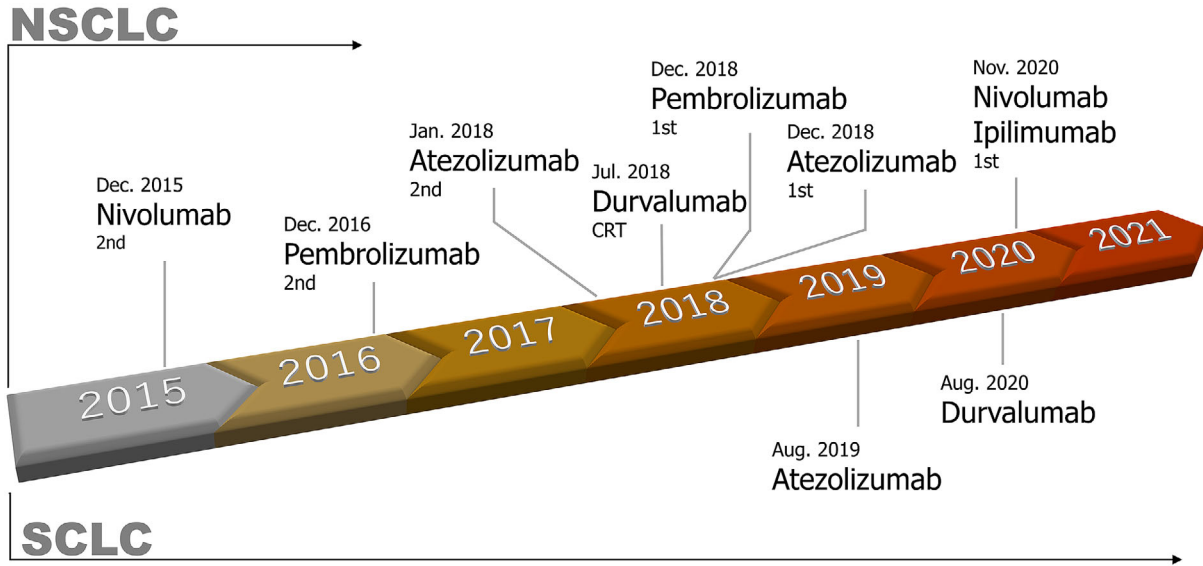


Figure 1. Approval timeline of immune checkpoint inhibitors in Japan. 1st, first-line treatment; 2nd, second-line treatment; CRT, chemoradiotherapy; NSCLC: non-small-cell lung cancer; SCLC: small cell lung cancer.

子, c-ros oncogene 1 (ROS1) 融合遺伝子などのさまざまなドライバー遺伝子変異・転座が続きと発見され, それらに対する分子標的治療薬が数多く保険承認されている. ドライバー遺伝子変異陽性症例に対する適切な分子標的治療薬による治療は, 実臨床で高い有効性と予後改善効果を示したが, それと同時に例外なく耐性化の問題を抱えることも示された. 一方でそれらのドライバー遺伝子を有さない非小細胞肺癌患者や, ドライバー遺伝子変異があっても適切な薬剤選択がなされない場合は同様に予後不良であることが報告されている.² また, それらのドライバー遺伝子変異はいわゆる非喫煙者肺癌に多く認められ, 未だ多数を占める喫煙者肺癌においても従来の化学療法の限界を超える新たな治療薬の登場が待たれる状況であった.

ニボルマブ (オプジーボ®, ONO-4538/MDX-1106/BMS-936558) は, ヒト programmed cell death 1 (PD-1 : CD279) に対するヒト型 IgG4 モノクローナル抗体であり, PD-1 とそのリガンドである programmed cell death 1 ligand 1 (PD-L1 : CD274) 及び programmed cell death 1 ligand 2 (PD-L2 : CD273) との結合を阻害し, 癌抗原特異的 T 細胞の活性化及び細胞傷害活性の増強などをもたらす, 腫瘍増殖を抑制する. 「根治切除不能な悪性黒色腫」を対象に 2014 年 9 月に世界に先駆けて本邦で発売された新規免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibitor : ICI) である. 米国においてはその前年の 2013 年には, 同じく免疫チェックポイント分子の 1 つである CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4) に対するヒト型抗 CTLA-4 抗体であるイピリム

マブ (ヤーボイ®, MDX-010/BMS-734016) の悪性黒色腫に対する劇的な有効性やキメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor : CAR) の有効性が評価され, 免疫療法が Science 誌による「Breakthrough of the Year 2013」に選出されている.³

世界的に免疫療法に対する注目が高まる中, 本邦においてはニボルマブが 2015 年 12 月に「切除不能な進行・再発の非小細胞肺癌」へ適応拡大が認められた. 臨床試験において既存の治療と比較して持続的, かつ長期生存が得られる患者が存在することが示され, 進行非小細胞肺癌の治療においても ICI に大きな期待が寄せられた.^{4,5} 実際, ニボルマブの承認以降, それぞれ適応の差異はあるもののペムプロリズマブ (キイトルーダ®, MK-3475), アテゾリズマブ (テセントリク®, MPDL3280A), デュルバルマブ (イミフィンジ®, MEDI4736), イピリムマブが非小細胞肺癌及び小細胞肺癌に続々と承認され, 肺癌治療は ICI 時代に突入した (Figure 1).

他方, ICI はその高額な薬価においても注目され, 当初と異なり対象が大きく拡大することで, 増大する医療費に対する議論が高まるとともに適切な効果予測因子の同定が必要となった. 詳細は各論で述べるが, 当初有力な効果予測因子として期待された PD-L1 発現のみならず, TMB (Tumor mutational burden, 腫瘍遺伝子変異量), TIL (Tumor infiltrating lymphocyte, 腫瘍浸潤リンパ球) といった指標が実臨床でも用いられる状況となっているものの, 現状ではいずれも単独で十分な効果予測因子とは言えず, さらなる検討が待たれる状況にある. さらに新たな効果予測因子も複数提唱され, 日々研究が進んで

いる。本稿では進行肺癌におけるICIの効果予測因子の現状と今後の展望について述べる。

各論

PD-L1

腫瘍におけるPD-L1発現量はICIの治療効果予測因子として早期から注目され、臨床で最も用いられている。肺癌領域においてはtumor proportion score [TPS=(PD-L1陽性腫瘍細胞/全腫瘍細胞)×100]がPD-L1発現量の指標としてよく使用されている。⁶ 非小細胞肺癌において、PD-L1発現量を臨床試験に広く取り入れて評価したCheckMate-017、CheckMate-057試験では、PD-L1発現に拘わらずニボルマブの有効性が確認されたものの、PD-L1発現と治療効果については一定の結果が得られなかった。その原因としてはPD-L1の評価が必須ではなかったことやニボルマブ使用直前に採取された組織検体での評価ではなかったことなどが関係しているのではないかと推察された。^{4,5} 現在、ニボルマブを実臨床で用いる場合においてはPD-L1発現によらず使用可能となっているが、ペムプロリズマブやアテゾリズマブと異なりニボルマブ単剤による初回治療の有効性は示されていない。⁷

一方、ペムプロリズマブやアテゾリズマブは、ニボルマブとは異なる抗PD-L1抗体をコンパニオン診断薬として開発が進められた。ペムプロリズマブはドセタキセル単剤を対照群としたKEYNOTE-010試験の結果をもとに2016年12月に本邦で既治療非小細胞肺癌に対する承認を取得したが、それまでの悪性黒色腫における試験結果などをもとにDako 22C3抗体にてTPS 1%以上を対象としたものであった。特にTPS \geq 50%の群において全生存期間(OS)の大きな改善を認め、以後のペムプロリズマブの臨床試験においてもTPSと治療効果の相関が概ね認められている一方、TPS陰性症例に対する有効性は評価されていない。⁸⁻¹⁰ 他方、アテゾリズマブは主にOAK試験の結果により2018年1月に二次治療以降での承認が認められた。¹¹ アテゾリズマブのコンパニオン診断薬としては、Ventana社の抗PD-L1抗体(SP142)を用いて評価し、腫瘍細胞(TC)及び腫瘍浸潤免疫細胞(IC)の染色性をそれぞれ評価しスコアリングアルゴリズムによって判定する。¹² 二次治療以降でのアテゾリズマブ単剤治療においてはSP142抗体によるPD-L1検査は必須とはされていない。2020年12月に初回治療においてアテゾリズマブ単剤療法が承認されたが、¹³ その際にはコンパニオン診断薬であるSP142抗体によるPD-L1検査が必須とされ、前述のスコアリングアルゴリズムによりTC3またはIC3と診断されなければならない。またアテゾリズマブは2022年6月に術後補助療法への適

応追加の承認を取得したが、その場合のPD-L1判定にはVentana社の抗PD-L1抗体(SP263)による判定が必須である。¹⁴

現在用いられているPD-1/PD-L1阻害薬ごとにPD-L1発現を評価するための免疫染色用の抗体が存在し、多くは薬剤ごとにコンパニオン診断薬として承認されている。現時点ではこれらの薬剤を使用するにはそれぞれの薬剤とともに開発された抗PD-L1抗体により組織のPD-L1発現を検討することとされる。実臨床においては一つの免疫染色の結果が相互に転用可能となることが大いに期待されるが、未だ一部を除いてそのような状況には至っていない。それぞれの免疫染色の結果のハーモナイゼーションが可能かどうか、いくつかの国際的な比較試験が行われた。¹⁵⁻¹⁹ それらの結果として、現在肺癌領域で主に用いられているDako 28-8、Dako 22C3、Ventana SP142及びVentana SP263の免疫染色結果の傾向としては概ね28-8、22C3、SP263についてはほぼ同等の染色結果を示すことが示された一方、SP142についてはより少ない腫瘍細胞が染色される、という傾向があった。しかしながら、PD-L1発現だけではICIの効果を予測できていない。その理由として、特に気管支鏡などの生検検体ではheterogeneityによる腫瘍全体のPD-L1発現を反映していない可能性、原発巣と転移巣でPD-L1発現が異なる可能性、あるいは化学療法前後やその他の治療経過によるPD-L1発現変化の可能性などが挙げられた。²⁰ ただ、免疫染色という安価かつ簡便な手法で判定可能な指標であり、現状では最も広く用いられている。

TMB

固形癌において癌腫によりさまざまなレベルで体細胞変異を認めることが報告されている。²¹ その変異量はTMBとして数値化され、100万塩基(1 Megabase : Mb)あたりの変異塩基数(Mut/Mb)として示される。高TMB自体は予後不良因子とされているが、PD-L1発現量とは独立したICIの効果予測因子とされている。²² PD-L1発現割合が5%以上の未治療・進行非小細胞肺癌患者を対象とした標準化学療法とニボルマブを比較する第III相試験(Checkmate-026試験)の探索的解析において、全エクソーム解析(whole exome sequence : WES)によるTMB解析が行われた。高TMB(\geq 243/Mb)を有する患者群では、奏効率(46.8% vs 28.3%)、無増悪生存期間(PFS)(9.7ヶ月 vs 5.8ヶ月)ともにニボルマブ群で良好であった。⁷

TMBの測定にはWESが理想的であるが、未だ実臨床でルーチンに行うにはさまざまな面で現実的ではない。そのため主に臨床で行われているTMBの測定にはWESによるTMB測定との高い相関性が報告されている。次世代シーケンスによるターゲット遺伝子パネル

検査が用いられている。現在、TMB 測定に保険適用されている遺伝子パネル検査は「OncoGuide™ NCC オンコパネル」と「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」の2つであり、それぞれ対象としている遺伝子数やコンパニオン診断薬としての承認状況などが異なる点に注意が必要である。TMB 測定には現実的なさまざまな制限(長い Turn-around time やエキスパートパネルによる検討の必要性、検査可能施設の制限など)が存在することから ICI の効果予測因子として特に肺癌の実臨床で用いるには解決すべき問題が多い。しかしながら前述の如く PD-L1 とは独立した効果予測因子とされているため、両者を組み合わせることでより治療効果を期待できる対象を絞り込める可能性が高いという報告もある。^{23,24}

TILs

近年、腫瘍微小環境 (Tumor microenvironment : TME) への注目が高まっている。その中でも以前から腫瘍浸潤リンパ球 (TILs) の増加はさまざまな腫瘍において良好な予後と関連することが知られている。²⁵ ナイーブ CD8⁺T 細胞が、抗原提示細胞の MHC クラス I 分子に提示された腫瘍細胞由来ペプチドなどの抗原を認識し、CD28 による副刺激シグナルを受けることで活性化し、CD8⁺細胞傷害性 T 細胞 (Cytotoxic T cell : CTL) となる。CTL は細胞表面に CTLA-4 分子や PD-1 分子を発現しており抑制シグナルを受けることで不活性化する。ICI によるそれらの抑制シグナルが解除されることで標的となる癌細胞を攻撃できるように活性化される。このように TME における CD8⁺T 細胞の存在は ICI による抗腫瘍効果を享受する上で重要な存在と考えられている。肺癌においても近年、組織中の CD8⁺TILs が ICI の効果予測因子として注目され、最近のメタアナリシスにおいても CD8⁺TILs の発現が高い群で OS, PFS, 奏効率ともに有意に良好であることが報告されている。^{26,27} 一方で TIL を実臨床で効果予測因子として用いる場合の問題点として、評価方法が統一されていないことや判定手技の煩雑さに加え、評価者による差 (interobserver heterogeneity),²⁸ PD-L1 発現の評価と同様に微量な採取検体がどこまで腫瘍の全体の状況を反映しているかなどが挙げられる。今後、機械学習 (Artificial Intelligence) を利用した組織標本の網羅的、定量的評価が一般的に用いられるようになり、TME における Immune Phenotype が評価可能となれば ICI による治療効果予測因子の一つとして期待されるが、現時点では実臨床での有用性は定まっていない。²⁹

dMMR/MSI

生物の DNA 複製時の塩基対合 (ミスマッチ) のエラーを修復する機能 (mismatch repair : MMR) は DNA の恒

常性維持に必須の機能であるが、MMR 機能が低下している状態は MMR deficient (dMMR) と呼ばれ、機能が維持されている状態を MMR proficient (pMMR) と呼ぶ。MMR 機能の低下により塩基の繰り返し配列 (マイクロサテライト配列) に複製エラーが生じやすいことが知られている。pMMR の場合はエラーが修復され、dMMR の細胞ではマイクロサテライト配列の反復回数に変化が生じる。後者をマイクロサテライト不安定性 (microsatellite instability : MSI) という。MSI により、マイクロサテライトが修復されずエクソン内の繰り返し配列内に生じると frameshift 変異などを引き起こし、生体に必須のタンパクが合成されなくなったり、異常なタンパクが生じたりする可能性がある。MSI により引き起こされる病態としては MLH1, MSH2, MSH6, PMS1, PMS2 といった原因遺伝子の変異することによるリンチ症候群が知られている。³⁰

MMR 機能を評価するには MSI 検査及び MMR タンパクに対する免疫染色が用いられる。MSI 検査は通常5種類のマイクロサテライトマーカー (BAT25, BAT26, D5S346, D2S123, D17S250) の長さを腫瘍細胞と正常組織と比較する方法で、³¹ 2種類以上のマーカーで MSI を認める場合を high-frequency MSI (MSI-H)、1種類のみで MSI を認める場合を low-frequency MSI (MSI-L)、いずれにも認めない場合を microsatellite stable (MSS) とする。近年の dMMR 判定検査では、より感度と特異度が高いとされる1塩基の繰り返しマーカー (BAT25, BAT26, MONO27, NR21, NR24) を採用したパネル検査が主に用いられている。MSI-High/dMMR を有する既治療大腸癌及び固形癌を対象としたペムプロリズマブの有効性を検証した KEYNOTE-164 試験、KEYNOTE-158 試験において高い有効性が報告された。^{32,33} 2018年9月に「化学療法後に増悪した進行・再発の高頻度マイクロサテライト不安定性 (MSI-High) を有する固形癌 (標準的な治療が困難な場合に限る)」として、肺癌を含めた固形癌を対象としたペムプロリズマブの適応を判定することを目的としたコンパニオン診断薬として承認された。

一方、包括的がんゲノムプロファイリング (Comprehensive genome profile : CGP) 検査の一つである、「FoundationOne® CDx がんゲノムプロファイル」は2021年6月に MSI-High を有する結腸・直腸癌に対するニボルマブ、MSI-High を有する固形癌に対するペムプロリズマブのコンパニオン診断薬としてそれぞれ承認を受けている。肺癌においては対象となる症例は限られているものの、効果予測因子としての重要性は高いと考えられ、今後のエビデンスの蓄積が待たれる分野である。**腸内細菌叢と抗菌薬**

これまでに腸内細菌叢と ICI の有効性の関係について

Table 1. Potential Predictive Factors in Patients Treated with ICIs

Predictive Factors	Results	Ref.
IFN- γ -associated gene signature	The high expression of IFN- γ -associated gene signature was associated with a survival benefit.	43
DNA methylation signature	EPIMMUNE signature-positive and unmethylated FOXP1 were associated with improved PFS and OS.	44
HLA-I LOH	HLA-I LOH was associated with a poor treatment response and survival.	45
TME-related biomarkers	LAG3, TIM3, and TIGIT also play essential roles in ICI therapy.	46, 47
Neoantigen	A high neoantigen burden was associated with improved treatment efficacy.	48
EGFR mutation	A survival benefit was observed in patients with wild-type EGFR but not in those with EGFR mutation.	49-51
KRAS mutation	A survival benefit was observed in patients with KRAS mutation but not in those with wild-type KRAS.	5, 49
Wnt pathway, JAK, B2M mutation	Alterations were associated with late progression under ICI treatment.	52
PTEN mutation, STK11 mutation	The presence of a PTEN or STK11 mutation was associated with early progression.	53
TP53, KEAP1, SMARCA4, RBM10	The low mutational frequencies of those genes associated with improved clinical benefits.	54
IL-8	Early decrease of serum IL-8 levels was significantly associated with the treatment response to ICIs.	55
TNF- α mutation	TNF- α mutation was associated with prolonged overall survival.	56
NLR	Baseline high NLR was associated with a poor response and poor survival.	57, 58
Previous radiotherapy	Previous radiotherapy was associated with longer PFS and OS.	59, 60
Corticosteroid use	Prednisolone (≥ 10 mg/day) use was associated with poor outcomes.	61
Antibiotics use	Antibiotics use was associated with reduced clinical benefit from ICIs.	36-38
PPI use	A significant negative association between PPI use and ICI efficacy was observed in patients with NSCLC.	62
irAE	A high incidence of irAEs was associated with an improved response and survival.	63, 64

Abbreviations: ICI, immune checkpoint inhibitor; IFN- γ , interferon- γ ; EPIMMUNE, epigenomic profile based on a microarray DNA methylation signature; PFS, progression-free survival; OS, overall survival; NLR, neutrophil-to-lymphocyte ratio; PPI, proton pump inhibitor; NSCLC, non-small-cell lung cancer; irAE, immune-related adverse events.

いくつも報告されている。^{34,35} ICIの奏効例では腸内細菌叢に *Akkermansia muciniphila*, *Ruminococcaceae* などのある種のバクテリアがより多く存在していたことなどが示された。また後方視的検討であるが ICI 治療前の抗菌薬使用が PFS や OS に負の影響を与える報告が多くなされている。抗菌薬使用により腸管微小細菌叢の多様性を低下 (dysbiosis) させることが ICI の有効性に影響を与える可能性があると考えられている。³⁶⁻³⁸ 一方で、ICI 治療開始後の抗菌薬使用はそれらに影響しなかったという前向きに検討した報告もみられる。³⁹ また ICI が奏効した癌患者の糞便細菌叢移植 (fecal microbiota transplantation : FMT) により、抗菌薬投与により ICI の治療効果が低下したマウスにおいて ICI による抗腫瘍効果を改善出来たと報告されている。一方で ICI が無効であった癌患者の FMT ではその効果は認めなかった。³⁴

PPI

プロトンポンプ阻害薬 (Proton pump inhibitor : PPI) は世界中で最も多く処方されている薬剤の一つであるが、その一方でその強力な胃酸分泌抑制作用により腸管感染症を増加させることが知られている。特に *C. difficile* 腸炎、*Salmonella* 属による腸炎のリスク・発症率の増加

が問題となっている。PPIs 投与により腸管微小細菌叢の dysbiosis を招くとともに腸管細菌叢における口腔内細菌の増加を有意に認めたと報告されている。⁴⁰ 一方で近年、前述の如く腸内細菌叢の dysbiosis と ICI による治療効果の負の相関が注目されるようになり、PPIs 使用と ICI 治療効果の関連についても報告されている。大規模臨床試験の post hoc 解析や最近のメタアナリシスにおいても PPI 使用により ICI による治療効果を減弱し、PFS や OS に負の影響を与えることが示されている。^{41,42}

その他の指標

これまで述べてきた分子生物学的マーカーや臨床因子以外にも多くの ICI の効果予測因子についての研究が進んでいる。Table 1 にその一部をまとめて提示する。

まとめ

肺癌における ICI の効果予測因子の現状とその問題点、また今後期待される指標について概説した。今後の課題として、それらの効果予測因子を単独または複数を組み合わせることで ICI を真に用いるべき症例をいかに絞り込んでいくかが、医療経済面や副作用面を含め重要であると考えられる。

本論文内容に関連する著者の利益相反：瀧川奈義夫 [日当・講演料] 日本ベーリンガーインゲルハイム、中外製薬

REFERENCES

1. がん情報サービス. Available from: <https://ganjoho.jp/public/index.html>
2. Kris MG, Johnson BE, Berry LD, Kwiatkowski DJ, Iafrate AJ, Wistuba II, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA*. 2014;311:1998-2006.
3. Couzin-Frankel J. Breakthrough of the year 2013. Cancer immunotherapy. *Science*. 2013;342:1432-1433.
4. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, Crinò L, Eberhardt WEE, Poddubskaya E, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373:123-135.
5. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, Spigel DR, Steins M, Ready NE, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373:1627-1639.
6. Lamberti G, Spurr LF, Li Y, Ricciuti B, Recondo G, Umeton R, et al. Clinicopathological and genomic correlates of programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression in nonsquamous non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol*. 2020;31:807-814.
7. Carbone DP, Reck M, Paz-Ares L, Creelan B, Horn L, Steins M, et al. First-Line Nivolumab in Stage IV or Recurrent Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2017;376:2415-2426.
8. Herbst RS, Baas P, Kim DW, Felip E, Pérez-Gracia JL, Han JY, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387:1540-1550.
9. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, Hui R, Csőszi T, Fülöp A, et al. Pembrolizumab versus Chemotherapy for PD-L1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2016;375:1823-1833.
10. Mok TSK, Wu YL, Kudaba I, Kowalski DM, Cho BC, Turna HZ, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for previously untreated, PD-L1-expressing, locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-042): a randomised, open-label, controlled, phase 3 trial. *Lancet*. 2019;393:1819-1830.
11. Rittmeyer A, Barlesi F, Waterkamp D, Park K, Ciardiello F, von Pawel J, et al. Atezolizumab versus docetaxel in patients with previously treated non-small-cell lung cancer (OAK): a phase 3, open-label, multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2017;389:255-265.
12. 体外診断用医薬品 ベンタナ OptiView PD-L1 (SP142) 判定ガイド～肺癌編～ (ベンタナ社). Available from: [https://rocheacademy.jp/assets/pdf/documents/Ventana_Optiview_PD-L1\[SP142\]_Judgment_guide_lung-cancer.pdf](https://rocheacademy.jp/assets/pdf/documents/Ventana_Optiview_PD-L1[SP142]_Judgment_guide_lung-cancer.pdf)
13. Herbst RS, Giaccone G, de Marinis F, Reinmuth N, Vergnenegre A, Barrios CH, et al. Atezolizumab for First-Line Treatment of PD-L1-Selected Patients with NSCLC. *N Engl J Med*. 2020;383:1328-1339.
14. Felip E, Altorki N, Zhou C, Csőszi T, Vynnychenko I, Goloborodko O, et al. Adjuvant atezolizumab after adjuvant chemotherapy in resected stage IB-IIIa non-small-cell lung cancer (IMpower010): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2021;398:1344-1357.
15. Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, Jöhrens K, Kirchner T, Reu S, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Mod Pathol*. 2016;29:1165-1172.
16. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, Ranger-Moore J, Jansson M, Kulangara K, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *J Thorac Oncol*. 2017;12:208-222.
17. Rimm DL, Han G, Taube JM, Yi ES, Bridge JA, Flieder DB, et al. A Prospective, Multi-institutional, Pathologist-Based Assessment of 4 Immunohistochemistry Assays for PD-L1 Expression in Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2017;3:1051-1058.
18. Ratcliffe MJ, Sharpe A, Midha A, Barker C, Scott M, Scorer P, et al. Agreement between Programmed Cell Death Ligand-1 Diagnostic Assays across Multiple Protein Expression Cutoffs in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2017;23:3585-3591.
19. Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, Beasley MB, Borczuk AC, Botling J, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Comparability Study in Real-Life Clinical Samples: Results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol*. 2018;13:1302-1311.
20. Zhang P, Su DM, Liang M, Fu J. Chemopreventive agents induce programmed death-1-ligand 1 (PD-L1) surface expression in breast cancer cells and promote PD-L1-mediated T cell apoptosis. *Mol Immunol*. 2008;45:1470-1476.
21. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer genome landscapes. *Science*. 2013;339:1546-1558.
22. Rizvi H, Sanchez-Vega F, La K, Chatila W, Jonsson P, Halpenny D, et al. Molecular Determinants of Response to Anti-Programmed Cell Death (PD)-1 and Anti-Programmed Death-Ligand 1 (PD-L1) Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer Profiled With Targeted Next-Generation Sequencing. *J Clin Oncol*. 2018;36:633-641.
23. Chen Y, Liu Q, Chen Z, Wang Y, Yang W, Hu Y, et al. PD-L1 expression and tumor mutational burden status for prediction of response to chemotherapy and targeted therapy in non-small cell lung cancer. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019;38:193.
24. Kao C, Powers E, Wu Y, Datto MB, Green MF, Strickler JH, et al. Predictive Value of Combining Biomarkers for Clinical Outcomes in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Receiving Immune Checkpoint Inhibitors. *Clin Lung Cancer*. 2021;22:500-509.
25. Fridman WH, Pagès F, Sautès-Fridman C, Galon J. The immune contexture in human tumours: impact on clinical outcome. *Nat Rev Cancer*. 2012;12:298-306.
26. Schalper KA, Brown J, Carvajal-Hausdorf D, McLaughlin J, Velcheti V, Syrigos KN, et al. Objective

- measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2015;107:dju435.
27. Li F, Li C, Cai X, Xie Z, Zhou L, Cheng B, et al. The association between CD8+ tumor-infiltrating lymphocytes and the clinical outcome of cancer immunotherapy: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine.* 2021;41:101134.
 28. Khoury T, Peng X, Yan L, Wang D, Nagrale V. Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer: Evaluating Interobserver Variability, Heterogeneity, and Fidelity of Scoring Core Biopsies. *Am J Clin Pathol.* 2018;150:441-450.
 29. Park S, Ock CY, Kim H, Pereira S, Park S, Ma M, et al. Artificial Intelligence-Powered Spatial Analysis of Tumor-Infiltrating Lymphocytes as Complementary Biomarker for Immune Checkpoint Inhibition in Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol.* 2022;40:1916-1928.
 30. Lynch HT, de la Chapelle A. Genetic susceptibility to non-polyposis colorectal cancer. *J Med Genet.* 1999;36:801-818.
 31. Boland CR, Thibodeau SN, Hamilton SR, Sidransky D, Eshleman JR, Burt RW, et al. A National Cancer Institute Workshop on Microsatellite Instability for cancer detection and familial predisposition: development of international criteria for the determination of microsatellite instability in colorectal cancer. *Cancer Res.* 1998;58:5248-5257.
 32. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, Di Giacomo AM, De Jesus-Acosta A, Delord JP, et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J Clin Oncol.* 2020;38:1-10.
 33. Le DT, Kim TW, Van Cutsem E, Geva R, Jäger D, Hara H, et al. Phase II Open-Label Study of Pembrolizumab in Treatment-Refractory, Microsatellite Instability-High/Mismatch Repair-Deficient Metastatic Colorectal Cancer: KEYNOTE-164. *J Clin Oncol.* 2020;38:11-19.
 34. Routy B, Le Chatelier E, Derosa L, Duong CPM, Alou MT, Daillère R, et al. Gut microbiome influences efficacy of PD-1-based immunotherapy against epithelial tumors. *Science.* 2018;359:91-97.
 35. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, Reuben A, Andrews MC, Karpinets TV, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science.* 2018;359:97-103.
 36. Derosa L, Hellmann MD, Spaziano M, Halpenny D, Fidelle M, Rizvi H, et al. Negative association of antibiotics on clinical activity of immune checkpoint inhibitors in patients with advanced renal cell and non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol.* 2018;29:1437-1444.
 37. Ahmed J, Kumar A, Parikh K, Anwar A, Knoll BM, Puccio C, et al. Use of broad-spectrum antibiotics impacts outcome in patients treated with immune checkpoint inhibitors. *Oncoimmunology.* 2018;7:e1507670.
 38. Ochi N, Ichihara E, Takigawa N, Harada D, Inoue K, Shibayama T, et al. The effects of antibiotics on the efficacy of immune checkpoint inhibitors in patients with non-small-cell lung cancer differ based on PD-L1 expression. *Eur J Cancer.* 2021;149:73-81.
 39. Pinato DJ, Howlett S, Ottaviani D, Urus H, Patel A, Mineo T, et al. Association of Prior Antibiotic Treatment With Survival and Response to Immune Checkpoint Inhibitor Therapy in Patients With Cancer. *JAMA Oncol.* 2019;5:1774-1778.
 40. Imhann F, Bonder MJ, Vich Vila A, Fu J, Mujagic Z, Vork L, et al. Proton pump inhibitors affect the gut microbiome. *Gut.* 2016;65:740-748.
 41. Chalabi M, Cardona A, Nagarkar DR, Dhawahir Scala A, Gandara DR, Rittmeyer A, et al. Efficacy of chemotherapy and atezolizumab in patients with non-small-cell lung cancer receiving antibiotics and proton pump inhibitors: pooled post hoc analyses of the OAK and POPLAR trials. *Ann Oncol.* 2020;31:525-531.
 42. Baek YH, Kang EJ, Hong S, Park S, Kim JH, Shin JY. Survival outcomes of patients with nonsmall cell lung cancer concomitantly receiving proton pump inhibitors and immune checkpoint inhibitors. *Int J Cancer.* 2022;150:1291-1300.
 43. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, Kowanzet M, Vansteenkiste J, Mazieres J, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): a multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet.* 2016;387:1837-1846.
 44. Duruisseaux M, Martínez-Cardús A, Calleja-Cervantes ME, Moran S, Castro de Moura M, Davalos V, et al. Epigenetic prediction of response to anti-PD-1 treatment in non-small-cell lung cancer: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Respir Med.* 2018;6:771-781.
 45. Chowell D, Morris LGT, Grigg CM, Weber JK, Samstein RM, Makarov V, et al. Patient HLA class I genotype influences cancer response to checkpoint blockade immunotherapy. *Science.* 2018;359:582-587.
 46. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science.* 2015;348:56-61.
 47. Chauvin JM, Zarour HM. TIGIT in cancer immunotherapy. *J Immunother Cancer.* 2020;8:e000957.
 48. McGranahan N, Furness AJS, Rosenthal R, Ramskov S, Lyngaa R, Saini SK, et al. Clonal neoantigens elicit T cell immunoreactivity and sensitivity to immune checkpoint blockade. *Science.* 2016;351:1463-1469.
 49. Miao D, Margolis CA, Vokes NI, Liu D, Taylor-Weiner A, Wankowicz SM, et al. Genomic correlates of response to immune checkpoint blockade in microsatellite-stable solid tumors. *Nat Genet.* 2018;50:1271-1281.
 50. Herbst RS, Garon EB, Kim DW, Cho BC, Gervais R, Perez-Gracia JL, et al. Five Year Survival Update From KEYNOTE-010: Pembrolizumab Versus Docetaxel for Previously Treated, Programmed Death-Ligand 1-Positive Advanced NSCLC. *J Thorac Oncol.* 2021;16:1718-1732.
 51. Faivre-Finn C, Vicente D, Kurata T, Planchard D, Paz-Ares L, Vansteenkiste JF, et al. Four-Year Survival With Durvalumab After Chemoradiotherapy in Stage III NSCLC—an Update From the PACIFIC Trial. *J Thorac Oncol.* 2021;16:860-867.
 52. Giroux Leprieur E, Hélias-Rodzewicz Z, Takam Kamga P, Costantini A, Julie C, Corjon A, et al. Sequential

- ctDNA whole-exome sequencing in advanced lung adenocarcinoma with initial durable tumor response on immune checkpoint inhibitor and late progression. *J Immunother Cancer*. 2020;8:e000527.
53. Guibert N, Jones G, Beeler JF, Plagnol V, Morris C, Mourlanette J, et al. Targeted sequencing of plasma cell-free DNA to predict response to PD1 inhibitors in advanced non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2019;137:1-6.
 54. Zhang W, Li Y, Lyu J, Shi F, Kong Y, Sheng C, et al. An aging-related signature predicts favorable outcome and immunogenicity in lung adenocarcinoma. *Cancer Sci*. 2022;113:891-903.
 55. Sanmamed MF, Perez-Gracia JL, Schalper KA, Fusco JP, Gonzalez A, Rodriguez-Ruiz ME, et al. Changes in serum interleukin-8 (IL-8) levels reflect and predict response to anti-PD-1 treatment in melanoma and non-small-cell lung cancer patients. *Ann Oncol*. 2017;28:1988-1995.
 56. Lin A, Zhang H, Meng H, Deng Z, Gu T, Luo P, et al. TNF-Alpha Pathway Alternation Predicts Survival of Immune Checkpoint Inhibitors in Non-Small Cell Lung Cancer. *Front Immunol*. 2021;12:667875.
 57. Bagley SJ, Kothari S, Aggarwal C, Bauml JM, Alley EW, Evans TL, et al. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio as a marker of outcomes in nivolumab-treated patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2017;106:1-7.
 58. Cortellini A, Ricciuti B, Borghaei H, Naqash AR, D'Alessio A, Fulgenzi CAM, et al. Differential prognostic effect of systemic inflammation in patients with non-small cell lung cancer treated with immunotherapy or chemotherapy: A post hoc analysis of the phase 3 OAK trial. *Cancer*. 2022;128:3067-3079.
 59. Shaverdian N, Lisberg AE, Bornazyan K, Veruttipong D, Goldman JW, Formenti SC, et al. Previous radiotherapy and the clinical activity and toxicity of pembrolizumab in the treatment of non-small-cell lung cancer: a secondary analysis of the KEYNOTE-001 phase 1 trial. *Lancet Oncol*. 2017;18:895-903.
 60. Öjlert ÅK, Nebdal D, Lund-Iversen M, Åstrøm Ellefsen R, Brustugun OT, Gran JM, et al. Immune checkpoint blockade in the treatment of advanced non-small cell lung cancer - predictors of response and impact of previous radiotherapy. *Acta Oncol*. 2021;60:149-156.
 61. Arbour KC, Mezquita L, Long N, Rizvi H, Auclin E, Ni A, et al. Impact of Baseline Steroids on Efficacy of Programmed Cell Death-1 and Programmed Death-Ligand 1 Blockade in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2018;36:2872-2878.
 62. Liu C, Guo H, Mao H, Tong J, Yang M, Yan X. An Up-To-Date Investigation Into the Correlation Between Proton Pump Inhibitor Use and the Clinical Efficacy of Immune Checkpoint Inhibitors in Advanced Solid Cancers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Front Oncol*. 2022;12:753234.
 63. Shankar B, Zhang J, Naqash AR, Forde PM, Feliciano JL, Marrone KA, et al. Multisystem Immune-Related Adverse Events Associated With Immune Checkpoint Inhibitors for Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2020;6:1952-1956.
 64. Hsiehchen D, Naqash AR, Espinoza M, Von Itzstein MS, Cortellini A, Ricciuti B, et al. Association between immune-related adverse event timing and treatment outcomes. *Oncoimmunology*. 2022;11:2017162.