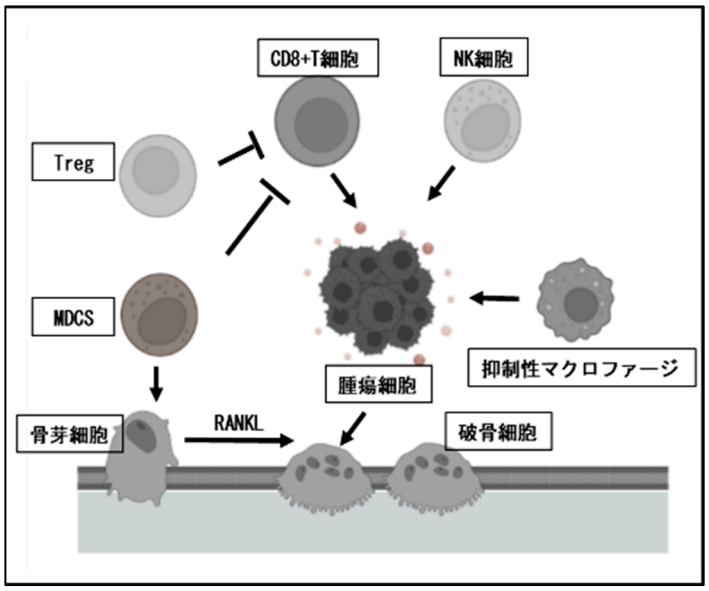
114　転移性骨腫瘍が導くがん免疫治療抵抗性の詳細解明	熊谷　尚悟

【目的】骨転移病変固有の免疫応答や代謝産物を含めた微小環境の観点から、がんの進化とそれに伴う病変内もしくは病変間の不均一性を包括的に機能解析し、さらにはがん免疫治療の治療効果との関連を解き明かそうとする報告は限られている。本研究課題では原発巣および骨転移巣を始めとしたその他の転移性病変を比較検討し、転移巣の免疫チェックポイント阻害剤（immune checkpoint inhibitor：ICI）治療抵抗性をもたらす因子をゲノム異常、免疫応答、代謝環境などの観点から明らかにする。これにより、がんゲノム異常に加えて骨転移病変に特異的な免疫応答の詳細を検討することで､環境に応じてがんが持つ免疫逃避機構を打破する機構を明らかにし、新たな患者層別化バイオマーカーや治療標的を見出すための基盤とすることを目的とする。

【方法】肺癌患者症例の中で骨転移性病変や脳転移性病変と原発性病変を手術した症例の患者検体からDNA/RNA を抽出しシークエンスを実施した。さらにはホルマリン固定パラフィン包埋（formalin fixed paraffin **e**mbedded：FFPE）検体を用いて多重免疫染色を実施し、免疫応答を解析した。

【結果】脳転移病変では神経伝達物質の一部でありグルタミン酸からのシグナルを起点として、抑制性の細胞集団である制御性 T 細胞が活性化し免疫応答を抑制していることが判明した。さらに骨転移性病変における免疫応答に関しては現在検討を進めており、同様に骨転移性病変において制御性 T 細胞が活性化している可能性を想定している。

骨転移病変における抗腫瘍免疫応答の概略図



114. 転移性骨腫瘍が導くがん免疫治療抵抗性の詳細解明

熊谷　尚悟

国立がん研究センター 先端医療開発センター 免疫 TR 分野

Key words：転移性骨腫瘍，免疫チェックポイント阻害剤，転移性脳腫瘍，制御性 T 細胞

緒　言

免疫チェックポイント阻害剤（immune checkpoint inhibitor：ICI）は科学的に証明されたがん治療であるが、奏効率は 20～30%程度であり、効果予測バイオマーカーや効果を高める新規治療法の開発が喫緊の課題である。抗腫瘍免疫応答の中心的な役割を担うのは CD8 陽性 T 細胞であるが、自己への過剰な免疫応答を防ぐ機構として制御性 T 細胞（eTreg）の役割が知られており、がん免疫分野においても、その腫瘍浸潤の程度は患者予後不良と関連するなど、重要性が明らかになっている。これまで我々は、協同研究者らと収集した様々ながん種の臨床検体を解析し、腫瘍遺伝子異常が CD8 陽性 T 細胞や eTreg に直接的に与える影響を明らかにしてきた［1，2］。RHOA 変異胃癌では脂肪酸合成の経路が亢進し、腫瘍局所において eTreg の生存・機能に有利な低糖高脂肪酸環境が形成され、がん免疫治療耐性を示し、PI3K 阻害剤を併用することで耐性を解除できることを解明した［1］。EGFR を始めとした ERBB シグナルの異常な亢進ががん免疫からの逃避に強く影響を及ぼすことを提唱した［2］。

また PD-1 阻害剤治療を実施した進行悪性腫瘍患者の腫瘍浸潤リンパ球の免疫関連分子発現を網羅的に解析して artificial intelligence（AI）を用いて評価したところ、eTreg 上の PD-1 高発現が治療耐性に関わることを見出した［3］。PD-1 阻害剤治療により PD-L1 からの抑制性のシグナルが解除され PD-1 陽性 CD8 陽性 T 細胞が活性化し抗腫瘍活性を示すが、PD-1 陽性 eTreg でも同様に、抗 PD-1 抗体治療により免疫抑制活性が亢進することを明らかにし、抗腫瘍活性を示す CD8 陽性 T 細胞と免疫抑制を示す eTreg の PD-1 発現のバランスが PD-1 阻害剤治療の効果に強く関わり、マルチカラーフローサイトメトリーを用いたバイオマーカーとして極めて有用であることを解明し、それをもとにした企業導出のバイオマーカー治験に展開した。さらに我々は、肝転移病変では原発巣と比較して、低酸素状態を介して解糖系が亢進し、最終代謝産物である乳酸濃度が高まり、エフェクターT 細胞とは異なる乳酸代謝機構を持つ eTreg に有意に PD-1 発現が高まり抗 PD-1 抗体治療に耐性を示すことを見出した［4］。肝転移病変と並び、患者予後不良にかかわる病変として骨転移病変が知られている［5］。これまで、同一患者においても、腫瘍間もしくは腫瘍内のゲノムの不均一性があることは報告されてきた［6］。ただ、これらの報告では臨床検体のシークエンスを実施し解析することに留まっているものがほとんどである。骨転移病変や脳転移病変固有の免疫応答や代謝産物を含めた微小環境の観点から、がんの進化とそれに伴う病変内もしくは病変間の不均一性を包括的に機能解析し、さらにはがん免疫治療の治療効果との関連を解き明かそうとする報告は限られている。本研究課題では原発巣および骨転移巣や脳転移病変などの転移性病変を比較検討し、転移巣の ICI 治療抵抗性をもたらす因子をゲノム異常、免疫応答、代謝環境などの観点から明らかにする。これにより、がんゲノム異常に加えて骨転移病変や脳転移病変に特異的な免疫応答の詳細を検討することで、環境に応じてがんが持つ免疫逃避機構を打破する機構を明らかにし、新たな患者層別化バイオマーカーや治療標的を見出すための基盤とすることを目的とした。

方法および結果

進行非小細胞肺癌の内、抗がん剤併用 ICI 治療を実施した 218 症例の治療効果を検討した。図 1 のように骨転移がある症例では治療抵抗性を示すことが判明した。さらには骨転移性病変と肺原発病変を同時に手術した 6 症例に関して

多重免疫染色を用いて腫瘍浸潤免疫細胞を検討したところ、図 2 のように転移性骨腫瘍病変では原発性病変と比較して CD3 陽性 T 細胞の浸潤が低く免疫応答が惹起されづらいことが判明した。今後その機構の解明を深めるべく検討を進めている。

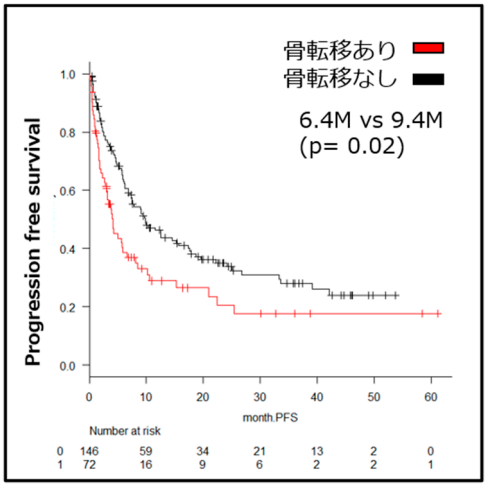


図 1. 骨転移と免疫治療

非小細胞肺癌骨転移は免疫チェックポイント阻害薬治療における予後不良因子である。

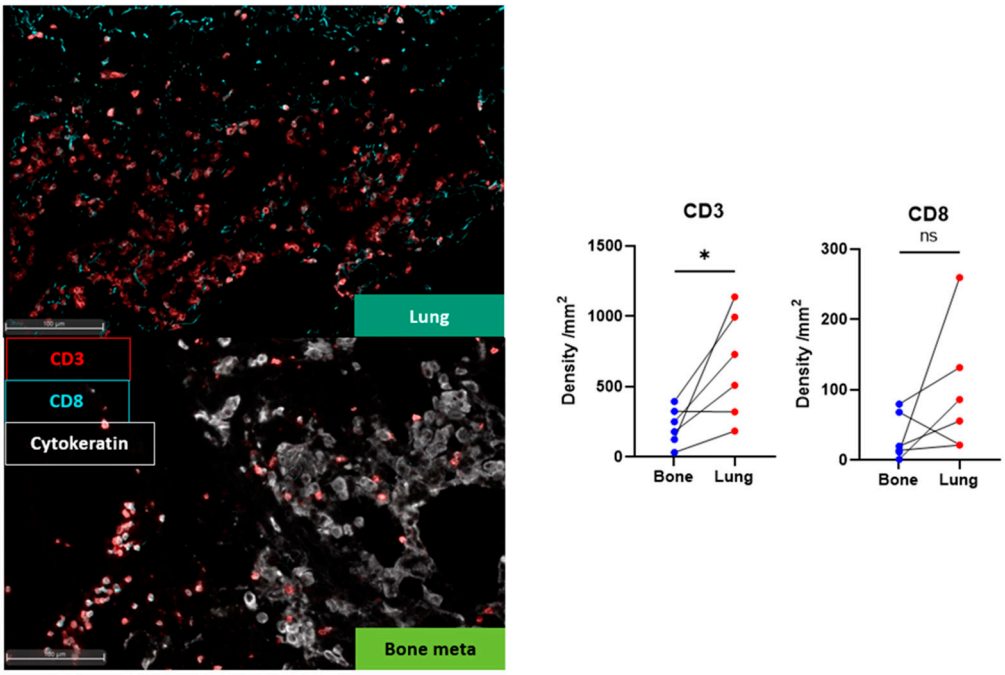


図 2. 骨転移性病変における免疫応答

転移性骨腫瘍病変では原発性病変と比較して CD3 陽性 T 細胞の浸潤が低く免疫応答が惹起されづらいことが判明した。スケールバー：100 μm。

転移性骨転移病変の検討からさらにすすめ、PD-1 抗体治療を受けた転移性脳病変を持つ非小細胞肺がん患者の病変ごとの治療反応性を検討したところ、脳転移病変では原発性病変と比較して progressive disease（PD）と判定される

頻度が高いこと、また野生型マウスに肺がん細胞株を頭蓋内に接種したモデルと胸腔内に接種したモデルでは、頭蓋内病変モデルではPD-1抗体治療に抵抗性を示すことが判明した。さらに非小細胞肺がん同一患者での脳転移病変と原発性病変を比較した。多重免疫染色の結果、脳転移病変では制御性 T 細胞の浸潤が有意に高いことが判明し、さらにはRNAseq の結果からは脳転移病変ではグルタミン酸シグナルが亢進することが判明した。腫瘍に浸潤する制御性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞の網羅的遺伝子発現解析を実施したところ、制御性 T 細胞ではグルタミン酸受容体である Grik1 とそのアクセサリー分子である Neto2 の発現が高まっていることが判明した。その発現機構として制御性 T 細胞のマスター転写因子である FOXP3 が Neto2 の発現を直接的に高めることを、FOXP3 の Chip-seq の結果から見出し、そして Neto2 が Grik1 を細胞膜上に保ちグルタミン酸存在下では pAKT シグナル活性化を介して抑制活性を高めていた。制御性 T 細胞特異的に Grik1、Neto2 をノックアウトしたマウスを作製し、頭蓋内病変モデルで検討したところ、PD-1 抗体治療抵抗性が改善した。

考　察

非小細胞肺癌患者において、骨転移性病変や脳転移病変は治療抵抗性を生み出すことが判明した。さらにその重要なメカニズムとして制御性 T 細胞が中心的な役割を担うことが判明した。今後そのメカニズムをさらに深堀し新規治療戦略を開発すべく精進したいと考えている。

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は国立がん研究センター中央病院呼吸器内科の福田滉仁先生である。また、貴重な研究の機会を与えてくださった公益財団法人上原記念生命科学財団の皆様に感謝申し上げます。

文　献

1) Kumagai S, Togashi Y, Sakai C, Kawazoe A, Kawazu M, Ueno T, et al. An Oncogenic Alteration Creates a Microenvironment that Promotes Tumor Progression by Conferring a Metabolic Advantage to Regulatory T Cells. Immunity. 2020;53(1):187-203.e8. Epub 2020/07/09. doi: 10.1016/j.immuni.2020.06.016. PubMed PMID: 32640259.

2) Kumagai S, Koyama S, Nishikawa H. Antitumour immunity regulated by aberrant ERBB family signalling. Nat Rev Cancer. 2021;21(3):181-97. Epub 2021/01/20. doi: 10.1038/s41568-020-00322-0. PubMed PMID: 33462501.

3) Kumagai S, Togashi Y, Kamada T, Sugiyama E, Nishinakamura H, Takeuchi Y, et al. The PD-1 expression balance between effector and regulatory T cells predicts the clinical efficacy of PD-1 blockade therapies. Nat Immunol. 2020;21(11):1346-58. Epub 2020/09/02. doi: 10.1038/s41590-020-0769-3. PubMed PMID: 32868929.

4) Kumagai S, Koyama S, Itahashi K, Tanegashima T, Lin YT, Togashi Y, et al. Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments. Cancer Cell. 2022. Epub 2022/01/30. doi: 10.1016/j.ccell.2022.01.001. PubMed PMID: 35090594.

5) Satcher RL, Zhang XH. Evolving cancer-niche interactions and therapeutic targets during bone metastasis. Nat Rev Cancer. 2022;22(2):85-101. Epub 20211005. doi: 10.1038/s41568-021-00406-5. PubMed PMID: 34611349; PubMed Central PMCID: PMC10281546.

6) Gerstung M, Jolly C, Leshchiner I, Dentro SC, Gonzalez S, Rosebrock D, et al. The evolutionary history of 2,658 cancers. Nature. 2020;578(7793):122-8. Epub 20200206. doi: 10.1038/s41586-019-1907-7. PubMed PMID: 32025013; PubMed Central PMCID: PMC7054212.