

令和元年10月18日

がん免疫療法時の最適なステロイド剤投与により 生存率アップへ！

名古屋大学大学院医学系研究科分子細胞免疫学（国立がん研究センター研究所腫瘍免疫研究分野 分野長兼任）の西川博嘉教授、杉山大介特任助教らの研究グループは、ステロイド剤が免疫関連有害事象^{※1}に関連するような自己抗原^{※2}に対する親和性^{※3}が低いCD8陽性T細胞に対して選択的に脂肪酸酸化代謝^{※4}経路を阻害することでCD8陽性記憶前駆T細胞^{※5}への分化を抑える一方で、がん細胞を殺傷するようながん抗原特異的T細胞^{※6}の中の記憶免疫細胞^{※7}を阻害しないことで、長期的ながん殺傷効果が維持されることを明らかにしました。

がん免疫療法^{※8}を受ける患者さんの一部では、過剰な免疫反応によって引き起こされる免疫関連有害事象があります。これらの免疫関連有害事象を抑えるためにステロイド剤が投与されますが、このステロイド剤投与が、がん細胞傷害性T細胞^{※9}にどのような影響を与えるかについては、あまり分かっていませんでした。本研究では、担がん^{※10}マウスモデルを用いて免疫チェックポイント阻害剤（抗CTLA-4抗体^{※11}および抗PD-L1抗体^{※12}）治療時にステロイド剤の一種であるメチルプレドニゾロンを投与することで、がんに対する免疫反応にどのような影響が見られるかを検討しました。その結果、免疫チェックポイント阻害剤の治療による長期的ながん退縮効果に対するステロイド剤投与による抑制に選択性があることが明らかになりました。この長期的ながん退縮効果はがん抗原を標的とするがん細胞傷害性T細胞の中の記憶免疫細胞の作用によって発揮されるもので、ステロイド剤によるT細胞の中の記憶免疫細胞に対する作用に選択性があることを見出しました。T細胞の中の記憶免疫細胞は脂肪酸酸化代謝を利用して前駆記憶T細胞から分化しますが、ステロイド剤はこの脂肪酸酸化代謝を阻害することを明らかにし、その結果としてT細胞の中の記憶免疫細胞が形成されないことが解明されました。この作用は免疫関連有害事象に関連するような自己抗原に対する親和性が低いCD8陽性T細胞に対して選択的に脂肪酸酸化代謝経路を阻害することでCD8陽性記憶前駆T細胞への分化を抑える一方で、がん細胞を殺傷するようながん抗原特異的T細胞の中の記憶免疫細胞を阻害しないことで、長期的ながん殺傷効果が維持されました。この結果を元に、実際に抗CTLA-4抗体治療を受けた悪性黒色腫（メラノーマ）患者さんの治療効果を検討したところ、がん細胞の体細胞変異が多い患者ではステロイド剤による免疫抑制は認められないものの、少ない患者さんでは早期のステロイド剤投与により生存率が低くなる傾向があることが分かりました。これらの研究成果により、今後はがん免疫療法を受けた患者さんで、免疫関連有害事象が見られたとしても治療効果に影響を与えない最適なステロイド剤投与方法を実現できる可能性があります。

本研究成果は、2019年9月19日付け米国科学雑誌「The Journal of Experimental Medicine」電子版に掲載されました。

本研究は、文部科学省科学研究費助成事業の基盤研究S（17H06162）の支援によって行われたものです。

ポイント

- 免疫チェックポイント分子阻害剤を用いたがん免疫療法は様々な難治性のがん患者に治療効果を示しますが、同時に正常細胞に対する免疫細胞の攻撃を活性化することで免疫関連有害事象を発症します。
- 免疫関連有害事象を抑えるために免疫抑制ステロイド剤が投与されますが、ステロイド剤が抗腫瘍免疫応答に与える影響についてはあまり知られていません。
- ステロイド剤が、免疫関連有害事象に関連するような自己抗原に対する親和性が低い CD8 陽性 T 細胞に対して選択的に脂肪酸酸化代謝経路を阻害することで CD8 陽性記憶前駆 T 細胞への分化を抑えることを本研究で解明しました。

1. 背景

現在、がんに対する治療法として、体内の免疫反応を利用した「がん免疫療法」が注目されています。その中でも、本来なら過剰な免疫反応を抑える免疫チェックポイント分子^{*1,3}が、がん細胞に対する特異的な T 細胞で発現していることから、「免疫チェックポイント分子阻害剤」が開発され、様々ながん種で治療効果を示すことが明らかになりました。免疫チェックポイント分子阻害剤は、体内の様々な免疫反応の抑制を解除するため、がんに対する免疫反応を増強し、がんの縮小が見られる反面、過剰な免疫反応が正常な細胞を攻撃してしまい、間質性肺炎や内分泌障害といった免疫関連有害事象を引き起こすことも知られています。この過剰な免疫反応を抑えるために、免疫抑制作用のあるステロイド剤が投与されます。しかし、ステロイド剤投与による免疫抑制作用によって免疫チェックポイント分子阻害剤によるがんに対する免疫応答の増強効果が弱まる可能性もあります。

本研究では、ステロイド剤が免疫チェックポイント分子阻害剤の治療効果に与える影響について検討し、ステロイド剤が免疫を抑制する仕組みを解明することで、免疫チェックポイント分子阻害剤治療時の最適なステロイド剤投与方法の確立を目的としました。

2. 研究成果

マウス線維肉腫細胞株 CMS5a-NYESO-1 を移植した担がんマウスモデルを用いて、ステロイド剤の一種であるメチルプレドニゾロンを投与することで、免疫チェックポイント分子阻害剤の一種である抗 CTLA-4 抗体の治療効果にどのような影響を与えるかを検討しました。この時、ステロイド剤の投与量による影響も考慮し、低容量と高容量を設定しました。その結果、抗 CTLA-4 抗体治療開始時にステロイド剤を投与した場合には、ステロイド剤の投与量を縮小したがんが悪化してきましたが、がんが完全に消失してからステロイド剤を投与した場合には投与量に関係なくがんの再発は認められませんでした（図 1）。

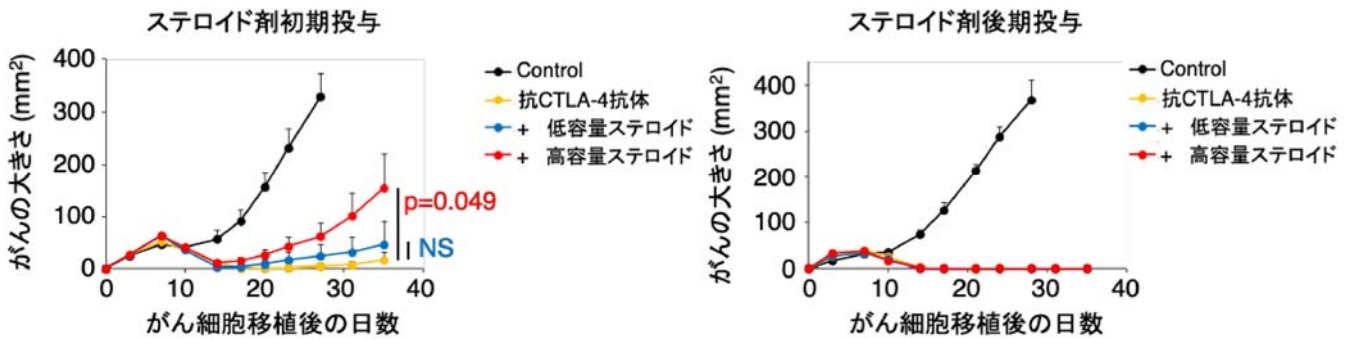


図 1. 抗 CTLA-4 抗体治療におけるステロイド剤投与の影響

CMS5a-NYESO-1 担がんマウスに抗 CTLA-4 抗体治療をおこなった。ステロイド剤は低容量 (20 μg / マウス) あるいは高容量 (2000 μg / マウス) を投与し、それぞれ抗 CTLA-4 抗体投与開始時 (左図: 早期投与実験) およびがん消失 2 週間後 (右図: 後期投与実験) の 2 通りの投与方法を検討した。

がん免疫療法治療の特徴の一つとして抗腫瘍効果が長期間持続することが知られており、これはがん細胞に対する細胞傷害性 CD8 陽性 T 細胞 (CD8+ T 細胞) が記憶免疫細胞に分化し、がん細胞を持続的に排除しているためと考えられています。そのため、ステロイド剤は抗 CTLA-4 抗体治療で誘導/活性化される CD8+ T 細胞の中でも記憶免疫細胞への分化に影響を与えていると考え、がんが完全に消失した後に再度がん細胞を移植しました。この時、CMS5a-NYESO-1 と CMS5a という強いがん抗原が存在するものと存在しないマウス線維肉腫細胞株を使用しました。NYESO-1 はヒトがん・精巢抗原として知られ、マウスにとっては外来抗原であるため、CD8+T 細胞は強い反応性を示します。この二回目のがん細胞株移植実験の結果、CMS5a-NYESO-1 を移植した場合、がん細胞は完全に拒絶されましたが、CMS5a を移植した場合は容量に関わらずステロイド剤を投与されていたマウスにおいて、がんの増殖抑制効果が認められませんでした (図 2)。この結果から、ステロイド剤は抗原への反応性が低い CD8+T 細胞 (低親和性 CD8+T 細胞) の記憶免疫細胞への分化を選択的に阻害していることが示唆されました。

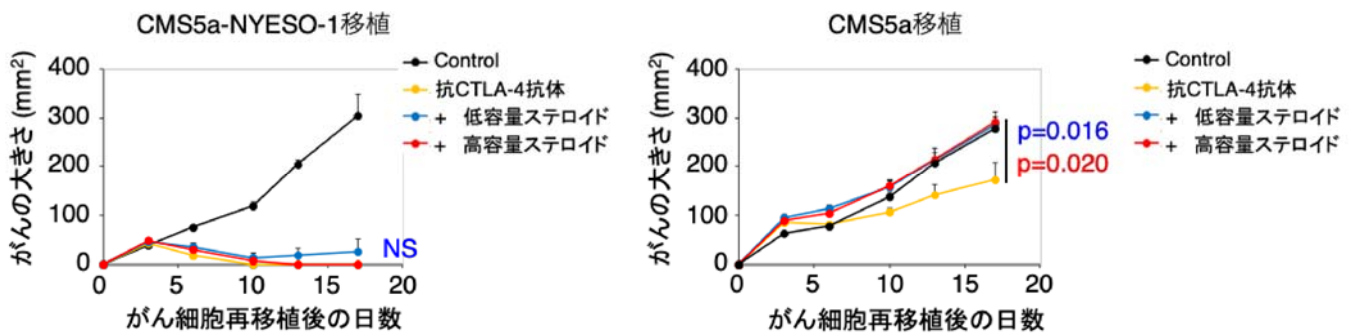


図 2. がん消失マウスへのがん細胞再移植実験

抗 CTLA-4 抗体治療でがんが消失したマウスにがん細胞の再移植を行なった。がん消失時の CD8+T 細胞の機能を解析するために、低容量および高容量ステロイド剤を投与されたグループを含めて検討した。再移植実験ではマウスの左右のそれぞれの背側に異なるがん細胞株を移植し、がんの大きさを経時的に測定した。左図は CMS5a-NYESO1 細胞株、右図は CMS5a 細胞株由来のがんの大きさを示している。

次に、ステロイド剤がどのようにして CD8+T 細胞の記憶免疫細胞への分化を阻害しているかを検討するため、抗 CTLA-4 抗体治療後のがん組織浸潤 CD8+T 細胞^{*14}の記憶免疫細胞への分化を解析しました。その結果、ステロイド剤を投与することで CD127^{high}KLRG1^{low} を示す記憶前駆細胞（memory precursor effector cells; MPECs^{*15}）のうち低親和性 CD8+T 細胞の数ががん組織中で減少していることが分かりました。一方で、がん細胞への反応性が高い CD8+T 細胞（高親和性 CD8+T 細胞）の MPECs はステロイド剤の影響を受けませんでした（図 3）。

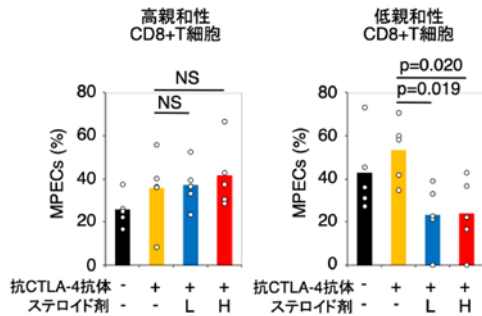


図 3. がん組織に浸潤する CD8+T 細胞における MPEC 解析

CMS5a-NYESO-1 担がんマウスに抗 CTLA-4 抗体治療をおこない、抗体投与終了後のがん組織浸潤 CD8+T 細胞を採取し、ステロイド剤による MPECs への影響を検討した。がん細胞に対する反応性の違いから、高親和性（左図）および低親和性（右図）の

CD8+ T 細胞における MPEC の頻度を解析した。

さらに、ステロイド剤が MPECs を減少させるメカニズムを解明するため、低親和性抗原特異的 CD8+T 細胞の機能に関係している遺伝子を網羅的に解析しました。その結果、ステロイド剤を作用させることで脂肪酸酸化代謝に関係する遺伝子の発現が低下していることが分かりました（図 4）。

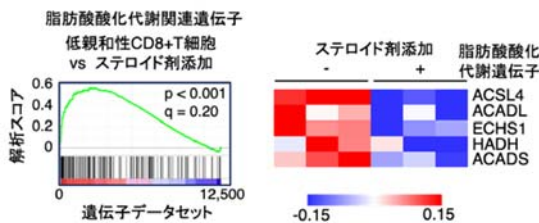


図 4. ステロイド剤による低親和性 CD8+ T 細胞の遺伝子発現変化解析

左図：ステロイド剤を作用させた低親和性 CD8+ T 細胞の網羅的遺伝子解析結果。GSEA 解析を実施したところ、脂肪酸酸化代謝関連遺伝子群の有意な発現差があった。右図：脂肪酸酸化代謝関連遺伝子群についてのステロイド剤による遺伝子発現変化を解析した。

この遺伝子解析結果を元に、CMS5a-NTESO-1 を移植した担がんマウスにおけるがん組織浸潤 CD8+T 細胞の詳細な解析を行ったところ、低親和性 CD8+T 細胞の脂肪酸酸化代謝関連遺伝子の発現が低下していることが明らかになりました（図 5）。

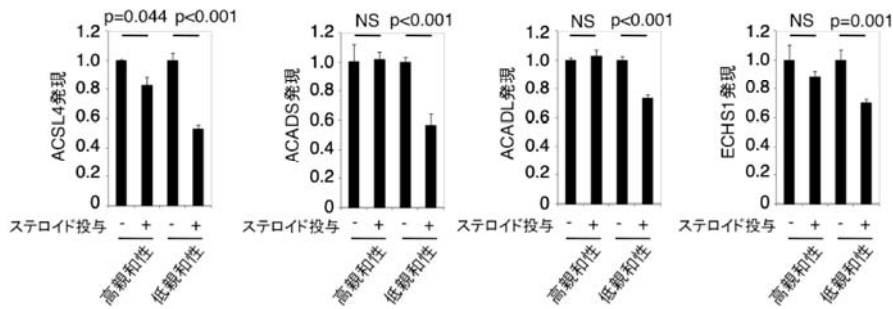


図 5. ステロイド剤によるがん抗原特異的低親和性 CD8+ T 細胞の遺伝子発現変化解析

CMS5a-NYESO-1 担がんマウスに抗 CTLA-4 抗体治療およびステロイド剤投与をおこない、投与終了後に低親和性 CD8+ T 細胞を採取した。その後、細胞から RNA を抽出し、リアルタイム PCR 法にて脂肪酸酸化代謝遺伝子発現を解析した。

最後に、このマウスモデルでの実験結果をヒトで検証するため、抗 CTLA-4 抗体治療を受けた悪性黒色腫患者さんの検体を解析しました。がん細胞の体細胞遺伝子変異^{※16}量が多いほど治療効果が良い傾向にあり、これは免疫系が、体細胞遺伝子変異量が多いがん細胞を異物と認識しやすいため、攻撃する高親和性 CD8+ T 細胞が多数誘導されるからと考えられています。よって、体細胞遺伝子変異解析とステロイド剤の投与歴を元に患者さんの生存率を調べたところ、体細胞遺伝子変異量が低い患者さんでステロイド剤投与を早期に受けた患者さんの生存率が低いことが分かりました (図 6)。よって、ヒトにおいてもステロイド剤は低親和性 CD8+ T 細胞の記憶免疫細胞機能を抑制することで、長期的な免疫チェックポイント分子阻害剤の治療効果を弱めることが示唆されました。

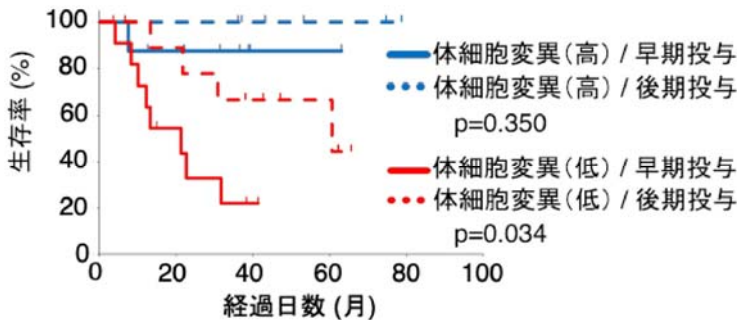


図 6. 抗 CTLA-4 抗体治療を受けた悪性黒色腫患者の生存率解析

抗 CTLA-4 抗体治療を受けた悪性黒色腫患者検体を用い、体細胞遺伝子変異量とステロイド投与方法を元に生存率解析をおこなった。青線は体細胞変異が多い患者を、赤線は体細胞変異が少ない患者を示している。また実線はステロイド剤を早期投与された患者を、点線はステロイド剤を後期投与された患者を示している。

また実線はステロイド剤を早期投与された患者を、点線はステロイド剤を後期投与された患者を示している。

3. 今後の展開

今回の研究成果は、がん免疫療法を受ける患者さんで免疫関連有害事象が見られた場合、体細胞遺伝子変異量や投与時期を考慮した上で、適切なステロイド剤を投与する必要があることを示しています。今後は、大規模な臨床研究を実施し、ステロイド剤によるがん免疫療法の治療効果に対する影響を解明し、将来的にはそれぞれの患者さんに適したステロイド剤投与方法の確立を目指します。

4. 用語説明

(1) 免疫関連有害事象

免疫チェックポイント阻害剤などのがん免疫療法により体内の免疫系が過剰に反応して正常な細胞を攻撃することで、様々な臓器の機能障害が生じて起こる事象の総称です。

(2) 自己抗原

自分の細胞や組織に発現する分子です。

(3) 親和性

T細胞と異物（反応相手）との反応性です。親和性が高いこと、すなわち高親和性であることは、T細胞が異物と反応し易いことを示します。これに対して、親和性が低いこと、すなわち低親和性であることは、T細胞が異物と反応し難いことを示します。

(4) 脂肪酸酸化代謝

生体内のエネルギー産生のために脂肪酸を利用する代謝です。細胞内で酸化された脂肪酸はミトコンドリア内に輸送され、そこで大量のエネルギーに変換されます。

(5) CD8 陽性記憶前駆 T 細胞

CD8 陽性 T 細胞のうち、免疫細胞へと分化する前段階の細胞集団です。

(6) がん抗原特異的 T 細胞

がん細胞が持つ抗原に対して反応する T 細胞です。

(7) 記憶免疫細胞

T細胞やB細胞は、異物を認識し活性化することで細胞増殖や異物を排除する機能が向上します。やがて異物が排除されると、活性化した細胞のほとんどが死滅しますが、一部は記憶免疫細胞として体内に存在します。これらは同じ異物が再度侵入する時に即座に反応し、迅速に排除する能力を持っています。

(8) がん免疫療法

免疫細胞ががん細胞を異物として認識し攻撃することを利用したがん治療法です。従来の標準治療法として知られている化学療法・外科的治療・放射線療法よりも副作用が少なく長期的な治療効果が期待できます。

(9) 細胞傷害性 T 細胞

体内の免疫細胞のうち、CD3 分子陽性かつ CD8 分子陽性である細胞集団です。がん細胞に発現するがん抗原を認識してがん細胞を殺傷します。CD3 や CD8 は細胞表面に存在する分子です。

(10) 担がん

がん細胞をマウスに移植し、マウスにがんを発症させることです。

(11) 抗 CTLA-4 抗体

Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4)に対する抗体です。CTLA-4 は抗原提示細胞の CD80/86 分子と相互作用することで細胞傷害性 T 細胞の活性化を阻害しますが、抗 CTLA-4 抗体はこの相互作用をブロックし、細胞傷害性 T 細胞の活性化を維持します。また免疫抑制細胞の一種である制御性 T 細胞に発現し、免疫抑制機能を発揮します。ヒトではイピリムマブ (Ipilimumab) として悪性黒色腫および腎細胞がん治療に承認されています。

(12) 抗 PD-L1 抗体

Programmed death-ligand 1 (PD-L1)に対する抗体です。PD-L1 はがん細胞や免疫細胞に発現し、T 細胞に発現する PD-1 と相互作用します。これにより、PD-1 が活性化すると T 細胞の機能が低下します。抗 PD-L1 抗体は、PD-1 と PD-L1 との相互作用をブロックすることで細胞傷害性 T 細胞の活性化を維持します。ヒトではアテゾリムマブ (Atezolizumab) として非小細胞肺癌治療に承認されています。

(13) 免疫チェックポイント分子

免疫細胞に発現する分子で、この分子シグナルにより免疫細胞の機能が抑制されます。通常では生体内の過剰な免疫応答を防ぐために機能しています。

(14) がん組織浸潤 CD8+T 細胞

がんの中に入り込んでいる CD8+T 細胞のことです。

(15) MPEC

記憶前駆免疫細胞として知られ、活性化した細胞傷害性 T 細胞は MPEC を経て真の免疫細胞へと分化します。

(16) 体細胞遺伝子変異

がん細胞は、遺伝子変異の蓄積によって生じます。この遺伝子変異によって正常細胞では存在しない遺伝子産物を生み出す可能性があります。この遺伝子変異が多いほど異物として免疫細胞に認識されやすくなり、がん免疫療法が効果的になると考えられています。

5. 発表雑誌

掲載紙 : The Journal of Experimental Medicine

論文名 : Selective inhibition of low-affinity memory CD8+ T cells by corticosteroids

著者 : Akihiro Tokunaga^{1,2}, Daisuke Sugiyama³, Yuka Maeda¹, Allison Betof Warner^{4,5},

Katherine S. Panageas⁶, Sachiko Ito³, Yosuke Togashi¹, Chika Sakai¹, Jedd D. Wolchok^{4,5} and Hiroyoshi Nishikawa^{1,3}

所属 : 1. Division of Cancer Immunology, Research Institute/Exploratory Oncology Research & Clinical Trial Center (EPOC), National Cancer Center, Japan.

2. Oncology R&D Unit, Kyowa Kirin Co., Ltd., Japan.

3. Department of Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Japan.

4. Parker Institute for Cancer Immunotherapy, Swim Across America-Ludwig Collaborative Lab, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, NY.

5. Weill Cornell Medical College, NY.

6. Departments of Epidemiology and Biostatistics, Memorial Sloan Kettering Cancer Center, NY.

DOI : 10.1084/jem.20190738

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/jou_exp_med_190919en.pdf