

**肝転移病変における免疫チェックポイント阻害薬に対する
新規耐性メカニズムの解明
—新規がん免疫療法開発の可能性が期待—**

発表のポイント

- がん組織に存在する制御性 T 細胞^{*1}の PD-1 タンパク質の発現によって、免疫チェックポイント阻害薬 (PD-1^{*2}/PD-L1 阻害薬) の治療耐性が生じることが明らかとなりました。がん組織内の制御性 T 細胞は PD-1 タンパク質を高発現することで治療耐性を引き起こし、組織内の乳酸により、この PD-1 発現が誘導されることを新たに発見しました。
- これにより、乳酸を多く産生する肝転移病変などにおいて、免疫チェックポイント阻害薬に耐性化している機序に関与している可能性が示されました。臨床の場で抗 PD-1 抗体治療によって肝臓転移巣がむしろ増悪することがあることが知られていましたが、その原因の一部が明らかになったと考えられます。
- 乳酸代謝経路を阻害する薬剤によって、免疫チェックポイント阻害薬抵抗性の効果が得られない肝転移腫瘍などで治療効果が改善される可能性が考えられ、今後の研究開発につながることを期待されます。

発表概要

名古屋大学と国立がん研究センター研究所などの研究チームは、肝転移病変を始めとした解糖系^{*3}が亢進した腫瘍において免疫チェックポイント阻害薬治療に耐性が導かれる新たな機構を発見しました。本発見は免疫チェックポイント阻害薬の治療効果を改善する新規治療法の開発につながると考えられます。

免疫チェックポイント阻害薬を用いたがん免疫治療法は、日本では2014年に悪性黒色腫で保険適用されて以降、肺がんや胃がんを始めとした様々ながん種の治療に用いられています。しかしながら治療効果が認められる患者さんが20~30%と少なく、治療効果が認められない原因を解明し、新たな治療法を生み出すための研究が必要です。

これまで研究チームはがん組織に存在するPD-1を発現した制御性T細胞がPD-1/PD-L1阻害薬治療耐性と相関があることを見出して報告してきました(Kumagai S, et al. *Nat Immunol* 2020)。本研究では免疫チェックポイント阻害薬(ニボルマブ、ペンブロリズマブ)による治療もしくは手術治療を受けた悪性黒色腫、肺がん、胃がん患者のがん組織検体を用いて、がん組織に存在する免疫細胞に関する詳細な解析を行いました。その結果、肝転移病変を始めとした解糖系が亢進した腫瘍においては、グルコースが代謝されることによりがん組織内の乳酸濃度が高まり、それに伴い制御性T細胞のPD-1発現が高まり、PD-1/PD-L1阻害薬治療耐性につながっていることを見出しました。また、T細胞の中で制御性T細胞だけが乳酸を代謝して活性化する経路を持っていることを見出し、それにより制御性T細胞が乳酸濃度の高いがん組織で活性化(PD-1発現)していることを明らかにしました。これは、肝臓転移巣が抗PD-1抗体治療でhyper progressionする機序の解明に繋がりました。乳酸の代謝機構の阻害薬を併用することで、制御性T細胞によるがん組織の免疫抑制が解除され、PD-1/PD-L1阻害薬治療への耐性が改善することを示しました。

研究成果は2022年1月27日付(米国時間)米国科学雑誌「Cancer Cell」電子版に掲載されました。

本研究は、名古屋大学大学院医学系研究科 微生物・免疫学講座 分子細胞免疫学 西川博嘉 教授(国立がん研究センター 研究所 腫瘍免疫研究分野、先端医療開発センター 免疫TR分野 分野長 兼任)、国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所 細胞情報学分野 間野博行 分野長、熊谷尚悟 外来研究員(日本学術振興会 PD 特別研究員、先端医療開発センター 免疫TR分野 外来研究員兼任)らの研究チームで行いました。

背景

PD-1/PD-L1阻害薬によるがん免疫療法は、悪性黒色腫、肺がん、胃がんをはじめとした様々ながん種に奏効することが科学的に証明され、臨床現場にがん治療の新たな柱として用いられています。しかしながら、治療を受けた患者さんの70%以上がPD-1/PD-L1阻害薬治療に反応しないため、治療効果を精度高く予測するバイオマーカーが必要です。がん組織におけるPD-L1の発現が有用な治療効果予測バイオマーカーの候補とされていますが、必ずしも治療効果と相関するわけではなく、より確度の高い新規バイオマーカーの同定が待たれていました。これまで、本研究チームはがん組織に存在する制御性T細胞のPD-1発現が高いことがPD-1/PD-L1阻害薬治療耐性につながることを見出し、治療前のがん組織内のリンパ球のPD-1発現バランス(エフェクターT細胞^{*4}に発現するPD-1陽性率と制御性T細胞に発現するPD-1陽性率の比率)がPD-1/PD-L1阻害薬の有用な効果予測バイオマー

カーとなることを報告してきました。

しかしながら、がん組織に存在する制御性 T 細胞が PD-1 を高発現する詳細な機構はこれまでわかっていませんでした。

研究方法・成果

国立がん研究センター東病院において外科的手術により切除された肺がんもしくは胃がん検体から腫瘍浸潤リンパ球を抽出し、フローサイトメリー⁵を用いて解析しました。また、同時に次世代シーケンサーを用いてがん組織での遺伝子発現の網羅的解析を実施しました。腫瘍浸潤制御性 T 細胞の PD-1 発現が高い腫瘍と低い腫瘍とを比較したところ、腫瘍浸潤制御性 T 細胞の PD-1 発現が高い腫瘍で解糖系に関わる遺伝子発現が高いことが明らかになりました。解糖系が高まる病態として肝転移病変が知られていることから、肺がん原発病変と肝転移病変の両方の検体を用いて多重免疫染色を実施しました。肝転移病変では原発病変と比較して制御性 T 細胞の PD-1 発現が高く、網羅的遺伝子発現解析で得られたデータが確認されました(図 1)。

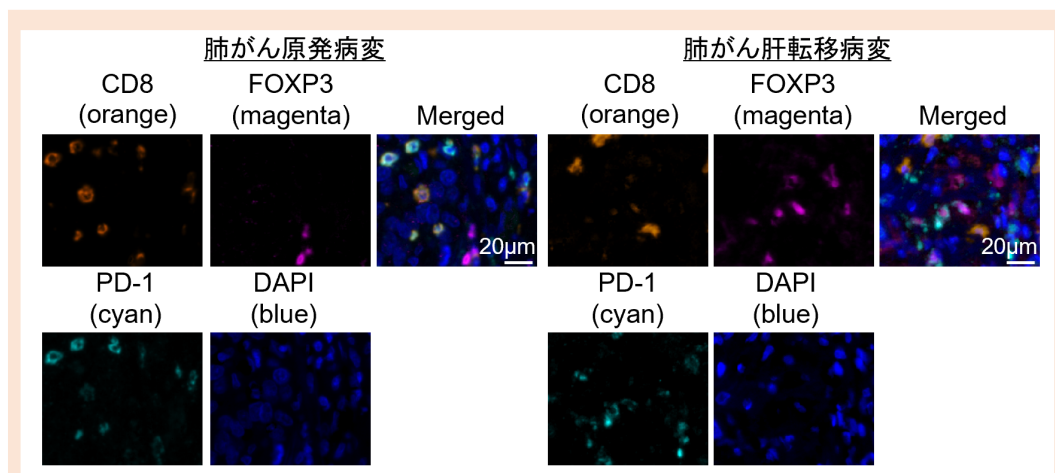


図1. 多重免疫染色を用いた原発病変と肝転移病変における免疫応答

肺がん原発病変と肝転移病変の検体が取得された患者さんを対象に多重免疫染色を実施しました。肝転移病変では原発病変と比較して腫瘍浸潤制御性T細胞にPD-1が高発現していました。

次に解糖系が高まっている腫瘍においてなぜ腫瘍浸潤制御性 T 細胞において PD-1 発現が高まるのかを検討するため、腫瘍浸潤リンパ球の網羅的遺伝子発現解析を実施して比較検討しました。腫瘍浸潤 PD-1 陽性制御性 T 細胞では他のリンパ球と比較して乳酸トランスポーターである MCT1(遺伝子名 SLC16A1)の発現が高まっていることを見出し、腫瘍の解糖系の最終代謝産物である乳酸を制御性 T 細胞が取り込むことでPD-1 発現を高めている可能性が示唆されました。乳酸が制御性 T 細胞上の PD-1 発現を誘導する機序を検討するため、低糖環境下で乳酸濃度を漸増させ様々な T 細胞を刺激しました(図 2)。

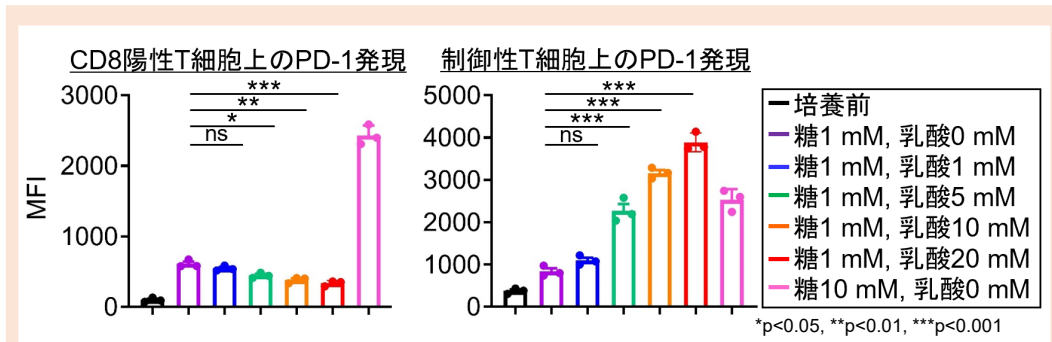


図2. 各リンパ球のPD-1発現と乳酸の関係
 低糖環境下(1 mM)で乳酸濃度を漸増させリンパ球を刺激すると、CD8陽性T細胞ではPD-1発現は低下しましたが、制御性T細胞ではPD-1発現が高まりました。

エフェクターT細胞(CD8陽性T細胞)では低糖環境下で乳酸濃度の上昇に伴いPD-1発現は低下したのに対して、制御性T細胞ではPD-1発現が高まりました。つまり、制御性T細胞ではCD8陽性T細胞とは異なり乳酸を介した特異的なPD-1発現機構を有していることを発見しました。

さらに、肝転移病変において解糖系が亢進し乳酸濃度が高まっているかを、マウスモデルを用いて検討しました。野生型マウスに皮下、胸腔内、肝臓内にマウス消化器がん細胞株であるMC38を接種しました。皮下腫瘍、胸腔内腫瘍に比較して、肝臓内腫瘍ではHIF1 α 発現上昇を介して解糖系関連分子発現が高まり、それに伴いその他の腫瘍と比較して乳酸濃度が上昇していました(図3)。

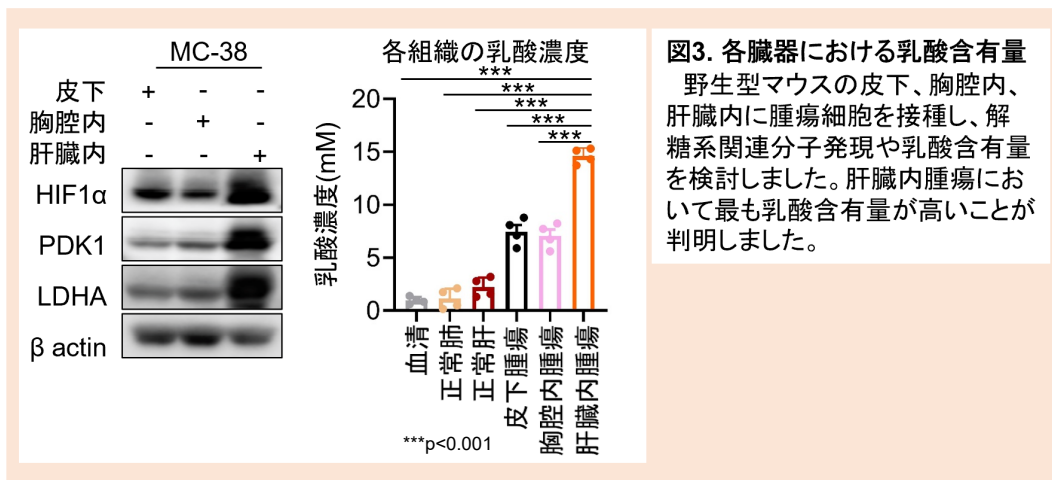


図3. 各臓器における乳酸含有量
 野生型マウスの皮下、胸腔内、肝臓内に腫瘍細胞を接種し、解糖系関連分子発現や乳酸含有量を検討しました。肝臓内腫瘍において最も乳酸含有量が高いことが判明しました。

また、肝臓内腫瘍では腫瘍浸潤エフェクターT細胞(CD8陽性T細胞)のPD-1発現は低下している一方で、制御性T細胞のPD-1発現が高まり、抗PD-1抗体治療に抵抗性を示すとともに、hyper progressionに繋がっていると考えられ、本機序の重要性が示されました(図4)。

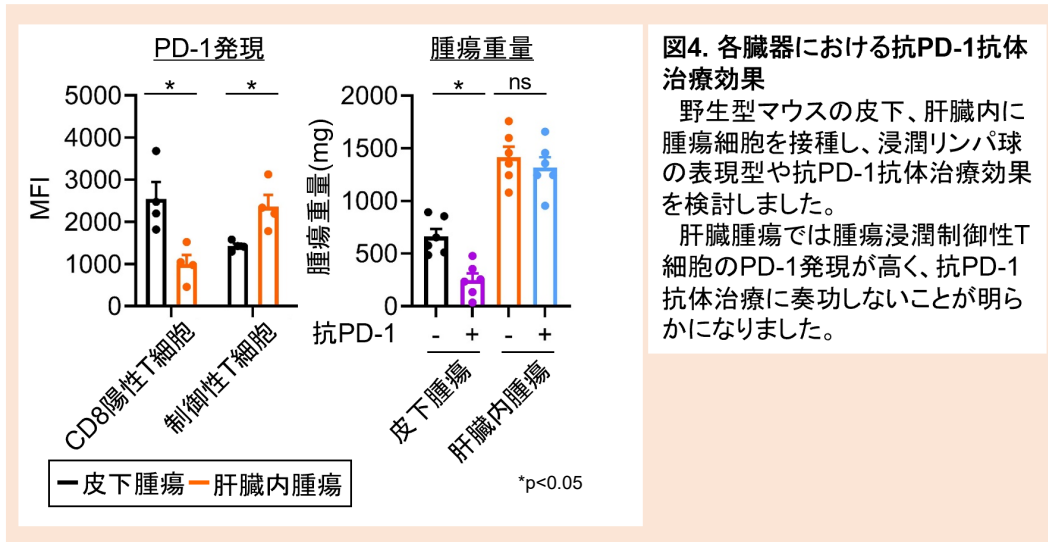


図4. 各臓器における抗PD-1抗体治療効果

野生型マウスの皮下、肝臓内に腫瘍細胞を接種し、浸潤リンパ球の表現型や抗PD-1抗体治療効果を検討しました。

肝臓腫瘍では腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高く、抗PD-1抗体治療に奏功しないことが明らかになりました。

国立がん研究センター中央病院、東病院にて進行胃がんもしくは肺がんがあり、抗PD-1抗体治療を受けた患者さんのデータを後方視的に解析したところ、肝転移病変があると抗PD-1抗体治療の無増悪生存期間^{*6}が有意に短くなることが示されました(図5)。

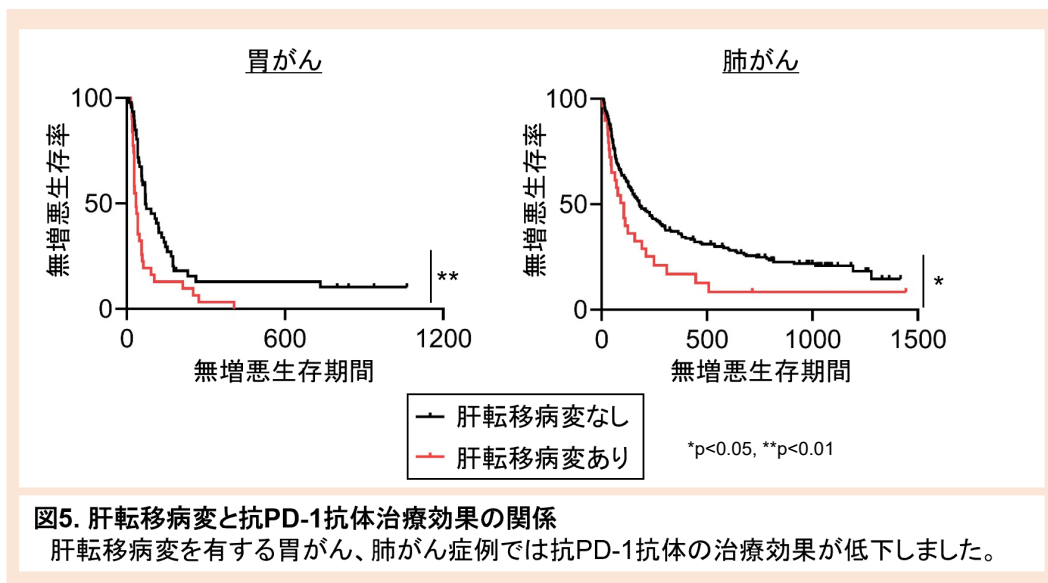


図5. 肝転移病変と抗PD-1抗体治療効果の関係

肝転移病変を有する胃がん、肺がん症例では抗PD-1抗体の治療効果が低下しました。

肝臓にMC38腫瘍を接種したマウスにMCT1阻害薬を投与したところ、腫瘍浸潤エフェクターT細胞(CD8陽性T細胞)のPD-1発現は上昇する一方で、制御性T細胞のPD-1発現は減弱しました(図6)。

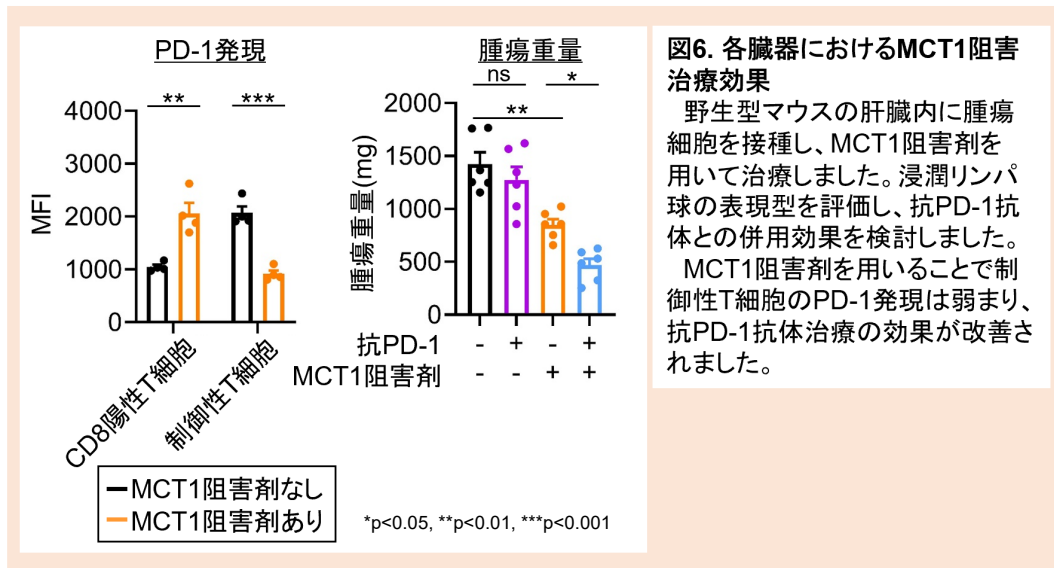


図6. 各臓器におけるMCT1阻害治療効果

野生型マウスの肝臓内に腫瘍細胞を接種し、MCT1阻害剤を用いて治療しました。浸潤リンパ球の表現型を評価し、抗PD-1抗体との併用効果を検討しました。MCT1阻害剤を用いることで制御性T細胞のPD-1発現は弱まり、抗PD-1抗体治療の効果が改善されました。

MCT1 阻害薬を抗 PD-1 抗体と併用することで、肝臓腫瘍において抗 PD-1 抗体治療に対する抵抗性を改善でき、新たな治療標的として臨床開発につながる可能性が示唆されました。

研究結果のまとめ

本研究により、腫瘍浸潤エフェクターT細胞と制御性T細胞上のPD-1発現バランスは、腫瘍の解糖系の最終代謝産物である乳酸により調節されていることが明らかになりました。さらにマウスモデルにおいて肝転移病変を始めとした解糖系が亢進した腫瘍において、乳酸代謝経路を阻害する薬剤を併用することでPD-1/PD-L1阻害薬治療効果を改善できることを見出しました。

展望

これまで、PD-1/PD-L1阻害薬を始めとした免疫チェックポイント阻害薬治療は様々ながん種において、治療効果が証明されてきました。一方で、免疫チェックポイント阻害薬が奏功しない患者さんも多く、治療効果を高める必要があります。特に、肺がんや胃がんの肝転移病変は免疫チェックポイント阻害薬治療が効きづらいことが知られています。本研究により、肝転移病変を始めとした解糖系が亢進した腫瘍においては、乳酸代謝を介して腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高まり、PD-1/PD-L1阻害薬が奏効しづらくなっていることが明らかになりました。

今後、肝転移病変を有する患者さんでは、乳酸代謝経路を阻害する薬剤を併用することで、PD-1/PD-L1阻害薬治療の効果を高められる可能性が期待されます。がん患者さんを対象にした臨床開発に向けて検討を重ね、新たながん免疫治療法への展開を目指します。

発表論文

雑誌名: Cancer Cell

タイトル: Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments

著者: Shogo Kumagai^{1,2,3}, Shohei Koyama^{2,4}, Kota Itahashi², Tokiyoshi Tanegashima², Yi-tzu Lin^{2,3}, Yosuke Togashi², Takahiro Kamada², Takuma Irie², Genki Okumura², Hidetoshi

Kono², Daisuke Ito², Rika Fujii², Sho Watanabe², Atsuo Sai^{2,3}, Shota Fukuoka², Eri Sugiyama², Go Watanabe², Takuya Owari², Hitomi Nishinakamura², Daisuke Sugiyama³, Yuka Maeda², Akihito Kawazoe⁵, Hiroki Yukami⁵, Keigo Chida⁵, Yuuki Ohara⁶, Tatsuya Yoshida⁷, Yuki Shinno⁷, Yuki Takeyasu⁷, Masayuki Shirasawa⁷, Kenta Nakama⁸, Keiju Aokage⁹, Jun Suzuki⁹, Genichiro Ishii⁶, Takeshi Kuwata⁶, Naoya Sakamoto⁶, Masahito Kawazu¹, Toshihide Ueno¹, Taisuke Mori¹⁰, Naoya Yamazaki⁸, Masahiro Tsuboi⁹, Yasushi Yatabe¹⁰, Takahiro Kinoshita¹¹, Toshihiko Doi⁵, Kohei Shitara⁵, Hiroyuki Mano¹ and Hiroyoshi Nishikawa^{2,3}

所属: ¹Division of Cellular Signaling, National Cancer Center Research Institute, Tokyo 104-0045, Japan, ²Division of Cancer Immunology, Research Institute/Exploratory Oncology Research & Clinical Trial Center (EPOC), National Cancer Center, Tokyo 104-0045/Chiba 277-8577, Japan, ³Department of Immunology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya 466-8550, Japan, ⁴Department of Respiratory Medicine and Clinical Immunology, Osaka University Graduate School of Medicine, Osaka, Japan, ⁵Department of Gastroenterology and Gastrointestinal Oncology, ⁶Pathology and Clinical Laboratories, ⁹Department of Thoracic Surgery and ¹¹Department of Gastric Surgery, National Cancer Center Hospital East, Chiba 277-8577, Japan, ⁷Department of Thoracic Oncology, ⁸Department of Dermatologic Oncology, ¹⁰Department of Pathology, National Cancer Center Hospital, Tokyo 104-0045, Japan.

DOI: 10.1016/j.ccell.2022.01.001

URL: [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(22\)00003-4](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(22)00003-4)

掲載日: 2022年1月27日付(日本時間1月28日)

主な研究費

日本医療研究開発機構 (AMED)

次世代がん医療創生研究事業

「がん細胞および免疫応答解析に基づくがん免疫療法効果予測診断法の確立」

日本医療研究開発機構 (AMED)

次世代治療・診断実現のための創薬基盤技術開発事

「患者層別化マーカー探索技術の開発/がん免疫モニタリングによる患者層別化を行う基盤技術の開発」

国立がん研究センター

国立がん研究センター研究開発費

「先端的がん免疫モニタリング法開発体制に関する研究、がん免疫療法抵抗性を解除する新規治療法の臨床展開に向けた開発研究」

日本学術振興会

科学研究費補助金

「発がんの人種差と免疫応答の関わり」の解明

用語解説

*1 制御性 T 細胞:

体内の CD4 陽性細胞の中で FoxP3 を強く発現する T 細胞集団で、抗腫瘍免疫応答を含めたエフェクター T 細胞による免疫応答を抑制する働きがあります。抗腫瘍免疫応答以外にも体内で起こる様々な免疫応答を抑制して免疫系の恒常性を維持しています。

*2 PD-1:

PD-1 は免疫細胞上に発現する免疫チェックポイント分子であり、樹状細胞やがん細胞に発現する PD-L1 や PD-L2 と結合することで、免疫細胞の働きを抑制します。PD-1/PD-L1 阻害薬治療により PD-1 が PD-L1 と結合しなくなることで、免疫細胞が本来の働きを取り戻し、がん細胞を攻撃するようになると考えられています。

*3 解糖系:

生物の体の中にある糖の代謝経路を指します。糖を分解し、細胞のエネルギー源となる ATP を産生する多段階の化学反応です。最終代謝産物として乳酸を細胞外に放出します。一般的にがんでは正常細胞と比較して解糖系が高まると考えられています。

*4 エフェクター T 細胞:

体内の免疫細胞の内、サイトカイン等を産生して標的細胞の排除に関わる細胞。特に抗腫瘍免疫応答では CD8 陽性の T 細胞集団が、標的抗原を発現する細胞を殺傷します。抗腫瘍免疫応答においては、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すると考えられています。

*5 フローサイトメトリー:

フローサイトメトリーは主に細胞一つ一つのタイプを評価するために用いられるシステムであり免疫学の分野の研究では古くから用いられてきました。細胞に発現する分子に抗体で蛍光物質を標識し、一定波長のレーザー光を細胞に当てます。その際にレーザー光によって生じた蛍光を検出器で検出し、細胞に発現する 20 種類以上の分子の発現の強さを同時に評価することができます。現在は臨床現場でも使用可能となっています。

*6 無増悪生存期間:

無増悪生存期間は、ある薬剤の治療を始めた日から、がんの病勢が悪化するか、患者さんが亡くなった日までの期間と定義されます。特にがんに対する薬剤の効果を評価するための指標で、無増悪生存期間が長いほど薬剤の効果があると考えられます。

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Can_Cel_20220128en.pdf