

令和 3 年 5 月 20 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08143

研究課題名(和文)末梢血を用いたがん免疫療法の効果予測診断法の開発

研究課題名(英文)Development of companion diagnostics for cancer immunotherapy

研究代表者

岩堀 幸太 (Iwahori, Kota)

大阪大学・医学系研究科・特任講師(常勤)

研究者番号：80566448

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、腫瘍微小環境におけるT細胞機能を予測する末梢血中の因子の探索を行った。まず、T細胞活性の測定方法として、T細胞およびがん細胞双方に結合する二重特異性分子(Bispecific T-cell engager)を用いたT細胞のがん細胞傷害活性測定系を構築した。この測定系を用いて、非小細胞肺癌手術症例について腫瘍組織のT細胞活性と末梢血中の各因子との相関を解析した。その結果、腫瘍組織のT細胞活性と最も高い相関がみられたのは末梢血T細胞活性であった。これらの結果から末梢血T細胞活性測定により腫瘍組織のT細胞機能が予測可能であることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究において末梢血T細胞活性測定法が腫瘍組織のT細胞機能の予測につながることを示唆されたことから、今後この測定法が免疫チェックポイント阻害薬の効果予測診断法として有用であることが示されれば、免疫チェックポイント阻害薬の効果がある患者さんを事前に予測して適切な治療を提供することにつながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：In the present study, we evaluated detailed immunological aspects in clinical specimens from non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. By using bispecific T-cell engager technology to assess the cytotoxicity of T cells, we found that the cytotoxicity of tumor-infiltrated T cells closely correlated with that of peripheral T cells. These results imply further applications to blood-based immune monitoring systems and predictive biomarkers for cancer immunotherapy.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：BiTE T細胞 コンパニオン診断薬 がん免疫療法 PD-1 肺癌 リキッドバイオプシー

### 1. 研究開始当初の背景

非小細胞肺癌をはじめとして多くのがん種について免疫チェックポイント阻害薬の適応拡大が進んでいるが、その奏効率は20%前後であるのが現状である。非小細胞肺癌についてはコンパニオン診断薬としてがん組織の PD-L1 染色がペンプロリズマブで用いられているが、がん組織における PD-L1 発現がん細胞が50%以上の患者群においてもペンプロリズマブ初回治療の奏効率は約50%であり、効果予測マーカーとしては十分とは言えないのが現状である。そのため、より有用なコンパニオン診断薬の開発が喫緊の課題となっている。さらに、がん組織の PD-L1 染色は生検が必要なため、患者に対する侵襲が大きい検査となっている。そのため、患者に対する負担の少ない血液検査での有効なコンパニオン診断薬の開発が切望されている。

血液検査によって、固形がんの免疫療法の効果予測マーカーを開発するにあたっての本研究課題の核心をなす学術的な「問い」は、「腫瘍内の免疫状態を末梢血の因子から予測できるか」である。がん免疫において腫瘍内と末梢血との関連を示唆する研究は複数の報告がなされている。がん抗原特異的細胞傷害性 T 細胞を末梢血中で検出した報告、末梢血と腫瘍内 T 細胞の T 細胞受容体レパトアに共通するものが存在することを見出した報告などがある。解剖学的には腫瘍内 T 細胞が末梢血に出現しうることから、これらの報告もふまえると、がん患者において腫瘍内の多様ながん抗原特異的細胞傷害性 T 細胞が末梢血に出現していることが推測される。そのため、末梢血中 T 細胞によるがん細胞傷害活性を測定することによって、腫瘍内の免疫状態を予測できるという仮説のもとに本研究を計画している。

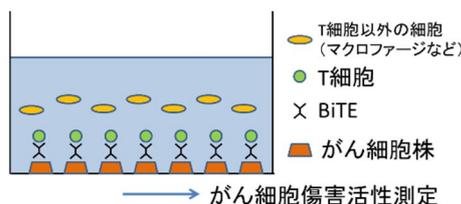
### 2. 研究の目的

本研究は、腫瘍内の免疫状態を末梢血の因子から予測できるという仮説のもとに、末梢血による免疫チェックポイント阻害薬の治療効果予測マーカーを開発することを目的としている。

### 3. 研究の方法

腫瘍内の免疫状態を表す重要な指標は、腫瘍微小環境におけるがん抗原特異的細胞傷害性 T 細胞によるがん細胞傷害活性である。この作用が免疫チェックポイント阻害薬の治療効果につながっていると考えられる。しかしながら、がん患者の腫瘍微小環境に存在する多様ながん抗原特異的細胞傷害性 T 細胞のがん細胞傷害活性を評価するのは困難であるのが現状である。そこで、これまで研究を進めてきた二重特異性分子 Bispecific T-cell Engager (BiTE) を用いて腫瘍微小環境における T 細胞によるがん細胞傷害活性を評価する方法を開発した(図1)。BiTE は T 細胞表面抗原 CD3 およびがん細胞表面のがん抗原の双方に結合する二重特異性分子であり、T 細胞およびがん細胞の存在下で BiTE を加えることにより、T 細胞ががん抗原特異的ながん細胞傷害活性を示す。この過程は原理的にがん抗原特異的細胞傷害性 T 細胞によるがん細胞傷害と類似している。そこで、非小細胞肺癌患者の外科的切除検体を用いて腫瘍内 T 細胞のがん細胞傷害活性を BiTE を用いて測定し、末梢血中 T 細胞によるがん細胞傷害活性をはじめとする末梢血の因子との関係を調べた。

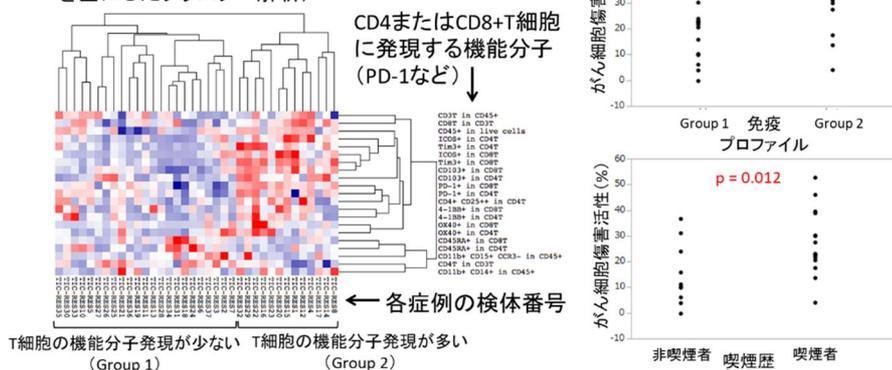
図1 T細胞によるがん細胞傷害活性の測定



### 4. 研究成果

まず、非小細胞肺癌患者の外科的切除検体を用いて腫瘍内 T 細胞のがん細胞傷害活性を BiTE を用いて測定した。その結果、腫瘍内 T 細胞のがん細胞傷害活性が腫瘍内細胞の免疫プロファイルおよび喫煙歴と関連することを確認しており、BiTE を用いた評価系が腫瘍内の免疫状態を表す指標となることを示唆する結果を得た(図2)。

図2 腫瘍内T細胞の免疫プロファイルとT細胞機能(各症例におけるT細胞に発現する機能分子の頻度を基にしたクラスター解析)



次に、腫瘍内 T 細胞のがん細胞傷害活性と相関する末梢血の因子を調べた結果、末梢血中 T 細胞によるがん細胞傷害活性との相関が認められた (図 3)。さらに、腫瘍内 T 細胞のニボルマブによる活性増強効果を測定した結果、末梢血中 T 細胞によるがん細胞傷害活性との相関が認められた (図 4)。

図 3

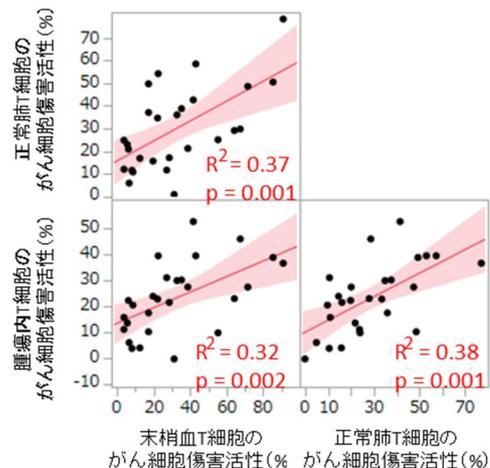
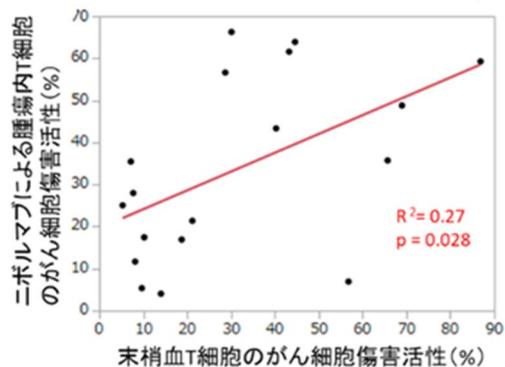


図 4 末梢血 T 細胞活性とニボルマブの効果



本研究において末梢血 T 細胞活性測定法が腫瘍組織の T 細胞機能の予測につながることを示唆されたことから、今後この測定法が免疫チェックポイント阻害薬の効果予測診断法として有用であることが示されれば、免疫チェックポイント阻害薬の効果がある患者さんを事前に予測して適切な治療を提供することにつながることを期待される。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Iwahori Kota	4. 巻 1224
2. 論文標題 Cytotoxic CD8+ Lymphocytes in the Tumor Microenvironment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advances in Experimental Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 53～62
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/978-3-030-35723-8_4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto Yoko, Iwahori Kota, Funaki Soichiro, Matsumoto Mitsunobu, Hirata Michinari, Yoshida Tetsuya, Kanzaki Ryu, Kanou Takashi, Ose Naoko, Minami Masato, Sato Eiichi, Kumanogoh Atsushi, Shintani Yasushi, Okumura Meinoshin, Wada Hisashi	4. 巻 10
2. 論文標題 Immunotherapeutic potential of CD4 and CD8 single-positive T cells in thymic epithelial tumors	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 4064
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-61053-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Iwahori Kota, Shintani Yasushi, Funaki Soichiro, Yamamoto Yoko, Matsumoto Mitsunobu, Yoshida Tetsuya, Morimoto-Okazawa Akiko, Kawashima Atsunari, Sato Eiichi, Gottschalk Stephen, Okumura Meinoshin, Kumanogoh Atsushi, Wada Hisashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Peripheral T cell cytotoxicity predicts T cell function in the tumor microenvironment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2636
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-39345-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岩堀幸太、新谷康、舟木壮一郎、山本陽子、奥村明之進、熊ノ郷淳
2. 発表標題 末梢血T細胞活性測定による腫瘍免疫効果予測
3. 学会等名 第59回日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

抗PD-1抗体によるがん治療効果の予測につながる技術を開発  
[http://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2019/20190222\\_1](http://resou.osaka-u.ac.jp/ja/research/2019/20190222_1)

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------