

令和 3 年 6 月 7 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08681

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント阻害剤併用がんペプチド療法におけるバイオマーカーの探索

研究課題名(英文) Identification for biomarkers in cancer peptide vaccine therapy with immune checkpoint inhibitors

研究代表者

鈴木 伸明 (Suzuki, Nobuaki)

山口大学・大学院医学系研究科・講師

研究者番号：50526910

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：HSP70およびGPC3抗原を発現する腫瘍病変へのCD8+T細胞およびPD1+T細胞の強い浸潤を認めた。またマスマイトメトリー(CyTOF)から探索的に解析した結果、ワクチン接種後のPBMCのT細胞疲弊マーカー(BTLAとCCR4)の減少( $p=0.03$ ,  $p=0.06$ )並びにTILのPD1発現亢進とグランザイムBとパーフォリンの低発現が明らかになった。本免疫療法は、T細胞を局所に誘導してcold tumorからhot tumorへ変える働きがあることが示唆された。また、TILにおけるPD1発現や免疫疲弊状況が確認され、次の新規免疫療法としてICIと本ワクチン療法併用の理論的根拠が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

この研究で、固形癌(食道癌、胃癌、大腸癌、肝癌、膵癌、乳癌)に対するこれまでのペプチドワクチン療法と新規ペプチドワクチン療法を比較することにより、各種バイオマーカー(詳細は下段に記載)探索として、免疫染色、flowcytometry、ELISPOTならびにTCR(T細胞抗原認識受容体)レパトワ解析を行い、ペプチドワクチンのバイオマーカーを探索・同定すると同時に、固形癌患者における負の免疫病態を解明し、制御すべき病態を解明する基盤的研究を行う。さらには、免疫チェックポイント阻害剤と本ワクチン療法併用の科学的根拠を導出し、次世代の新規免疫療法として実用可能性を探索する。

研究成果の概要(英文)：Strong infiltration of CD8 + T cells and PD1 + T cells into tumor lesions expressing HSP70 and GPC3 antigens was observed. In addition, as a result of exploratory analysis from mass cytometry (CyTOF), the decrease in T cell exhaustion markers (BTLA and CCR4) of PBMC after vaccination ( $p = 0.03$ ,  $p = 0.06$ ), the increase in PD1 expression of TIL, and Granzyme B And low expression of perforin was revealed. It was suggested that this immunotherapy has the function of locally inducing T cells to change from cold tumor to hot tumor. In addition, PD1 expression and immune exhaustion status in TIL were confirmed, and the rationale for the combined use of ICI and this vaccine therapy was obtained as the next novel immunotherapy.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：ペプチドワクチン療法 免疫チェックポイント阻害剤 バイオマーカー

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

日本でも 2000 年前後から各種がんに対するペプチドワクチン療法が行われてきたものの、いまだ必要十分な効果が得られているとはいえない。一方、免疫チェックポイント阻害剤を用いた新たな免疫療法は、近年その成果が報告されている。我々は今回、LAG3-Ig と Poly-ICLC という 2 つのアジュバントを用いた新規ペプチドワクチン療法第 I 相試験を施行した。がん局所微小環境に着目し、免疫チェックポイント阻害分子である LAG3 をブロックして免疫疲弊を防ぐ LAG3-Ig をアジュバントに用いた新規がんペプチドワクチンと、以前治験で行った従来の IFA を用いたペプチド療法を比較し、PD-1, PD-L1, TIM-3, Treg など抑制性免疫因子の測定、ELISPOT assay 並びに TCR レパトワ解析を行う。このような研究は初めての試みであり、固形癌患者における負の免疫病態を解明し、制御することにより、次世代のがんペプチドワクチン開発に繋げる。

### 2. 研究の目的

我々はこれまでに、厚労省科研費による治験として「治癒切除不能な膵癌患者に対するペプチドワクチン療法の第 I/II 相試験」を筆頭に、各種固形癌に対するペプチドワクチン療法を医師主導治験や臨床研究として行ってきた。現在、正確な臨床データとワクチン投与前、各コース終了時の血漿・末梢血単核球(PBMC)、ならびに検体を保存している。我々は、当該治験までは、ワクチンのアジュバント(免疫補助剤)として Incomplete Freund's adjuvant (以下 IFA) を用いてきたが、今回 LAG3-Ig と Poly-ICLC という 2 つのアジュバントを用いた新規ペプチドワクチン療法を行い、これまでに 20 例の検体を得ており、今後さらに集積する予定である。LAG-3Ig は LAG-3 の細胞外ドメインと IgG の Fc 領域を融合させた分子で、T 細胞における抑制性 LAG-3 シグナルを阻害し、免疫疲弊を防ぐ。つまり、LAG-3Ig は、CD4 よりも高い親和性で MHC クラス II に結合し、抑制性のシグナルを防ぐことで、DC の成熟および活性化を誘導する(図 1)。Poly-ICLC は、DC を活性化して、I 型 IFN および IL-12 を産生し、その両方が抗腫瘍 T 細胞応答に対する刺激効果を惹起する。この研究で、固形癌(食道癌、胃癌、大腸癌、肝癌、膵癌、乳癌)に対するこれまでのペプチドワクチン療法と新規ペプチドワクチン療法を比較することにより、各種バイオマーカー(詳細は下段に記載)探索として、免疫染色、flowcytometry、ELISPOT ならびに TCR(T 細胞抗原認識受容体)レパトワ解析を行い、ペプチドワクチンのバイオマーカーを探索・同定すると同時に、固形癌患者における負の免疫病態を解明し、制御すべき病態を解明する基盤的研究を行う。

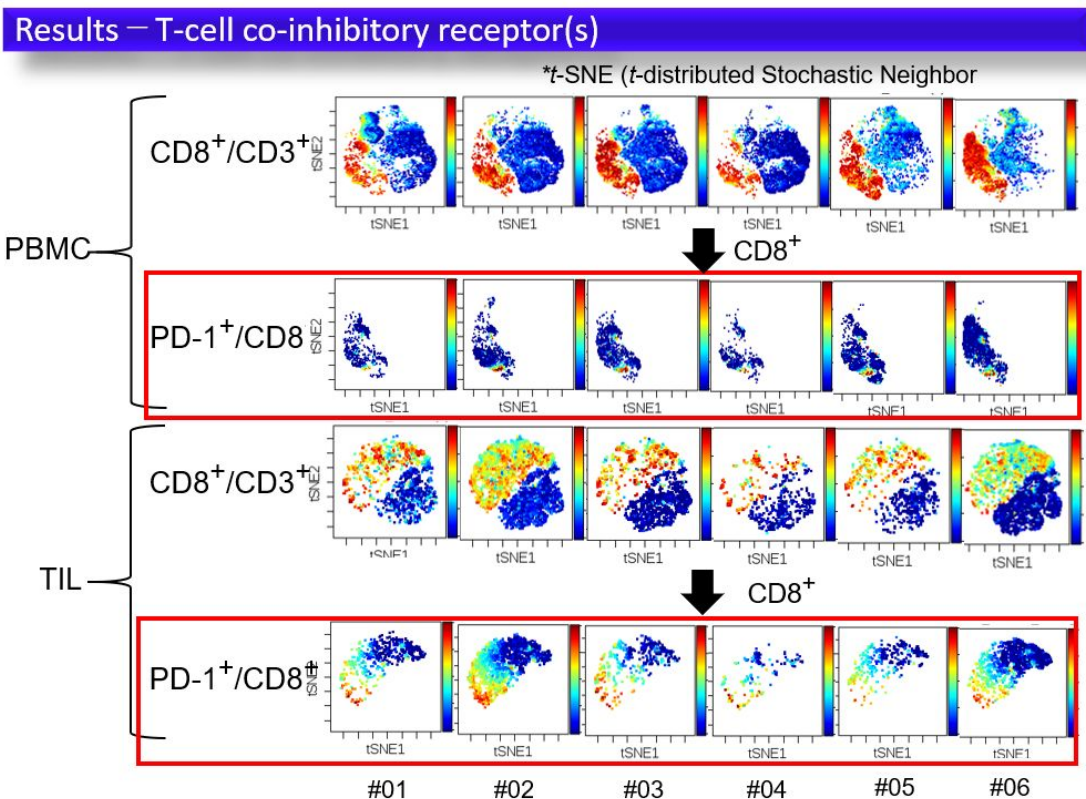
### 3. 研究の方法

flowcytometry および ELISPOT assay の測定系を調整する。regulatory T cell、MDSC の flowcytometry は予備実験で行っており、良好な染色判定ができ、測定可能であることが確認されている。研究代表者(鈴木)、研究分担者(裕、友近、恒富)および研究協力者(研究助手:佐野、兼安)が固形癌(食道癌、胃癌、大腸癌、肝癌、膵癌、乳癌)に対するこれまでのペプチドワクチン療法と新規ペプチドワクチン療法を比較することにより、各種バイオマーカー探索として、免疫染色、flowcytometry、ELISPOT ならびに TCR レパトワ解析を行い、ペプチドワクチンの有効・無効のバイオマーカーを探索・同定する。また、それらを解析・総括(鈴木、裕)して、固形癌患者における負の免疫病態を解明し、免疫チェックポイント阻害剤との併用も視野に入れ

で、がん局所微小環境における負の免疫応答の制御を行うことにより、新しいがんペプチドワクチン療法の開発に繋げて行く。

#### 4. 研究成果

【結果】サイトカインや免疫細胞等の抑制性腫瘍微小環境の解析で、疲弊マーカー（PD-1、TIM-3）が有効性の重要なバイオマーカーであり、Poly- ICLC と LAG-3Ig は、これら免疫疲弊を回復させ、がん特異的免疫を活性化することを確認した。これらの前臨床試験の後、さまざまな消化器癌に対するこれらの免疫アジュバントと新規腫瘍抗原（HSP70 および GPC3）由来マルチ HLA-class I 結合性ペプチドを用いた第 I 相試験を実施し、安全性、比較的早い段階での強力な CTL 誘導、並びに 17 症例中 10 症例での腫瘍マーカーの減少を認めた。さらに、切除可能な HCC 患者の周術期において同じ免疫療法の第 I 相試験を開始した。最終的に、HSP70 および GPC3 抗原を発現する腫瘍病変への CD8+T 細胞および PD1+T 細胞の強い浸潤を認めた。また約 50 種の抗体を用いたマスマイトメトリー（CyTOF）から PBMC と TIL の T 細胞疲弊・活性化マーカーや effector Tregなどを探索的に解析した結果、ワクチン接種後の PBMC の T 細胞疲弊マーカー（BTLA と CCR4）の減少（ $p=0.03$ ,  $p=0.06$ ）並びに TIL の PD1 発現亢進とグランザイム B とパーフォリンの低発現が明らかになった。【結語】本免疫療法の、T 細胞を局所に誘導して cold tumor から hot tumor へ変える働きがあることが示唆された。また、TIL における PD1 発現や免疫疲弊状況が確認され、次の新規免疫療法として ICI と本ワクチン療法併用の理論的根拠が得られた。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 Masao Nakajima, Shoichi Hazama, Koji Tamada, Nobuaki Suzuki, Hiroaki Nagano	4. 巻 5
2. 論文標題 A phase I study of multi-HLA-binding peptides derived from heat shock protein 70/glypican-3 and a novel combination adjuvant of hLAG-3lg and Poly-ICLC for patients with metastatic gastrointestinal cancers: YNP01 trial.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Immunology, Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 5-10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s00262-020-02518-7.	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 Matsui H, Hazama S, Tamada K, Udaka K, Irie A, Nishimura Y, Miyakawa T, Doi S, Nakajima M, Kanekiyo S, Tokumitsu Y, Shindo Y, Tomochika S, Yoshida S, Iida M, Suzuki N, Takeda S, Yamamoto S, Yoshino S, Ueno T, Nagano H.	4. 巻 42
2. 論文標題 Identification of a Promiscuous Epitope Peptide Derived From HSP70.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of immunotherapy	6. 最初と最後の頁 244-250
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/CJI.0000000000000274.	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 鈴木伸明
2. 発表標題 新規アジュバントを用いたマルチHLA結合 がんペプチド療法の第I相試験
3. 学会等名 第39回癌免疫外科研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木伸明
2. 発表標題 消化器癌に対する新規複合免疫・ペプチドワクチン療法における細胞性免疫の解析
3. 学会等名 第31回日本バイオセラピー学会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	恒富 亮一 (Tsunedomi Ryoichi)  (10420514)	山口大学・医学部附属病院・講師  (15501)	
研究分担者	友近 忍 (Tomochika Shinobu)  (30403679)	山口大学・医学部附属病院・助教  (15501)	
研究分担者	裕 彰一 (Hazama Shoichi)  (50253159)	山口大学・医学部・教授(寄附講座等)  (15501)	

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
---------	---------