

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08614

研究課題名(和文) 乳がんのネオアンチゲンにおけるHLA Class II拘束性ペプチドの網羅的探索

研究課題名(英文) Comprehensive search for HLA Class II-restricted peptides in breast cancer neoantigens

研究代表者

坂東 裕子 (Bando, Hiroko)

筑波大学・医学医療系・准教授

研究者番号：00400680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：抗腫瘍免疫には細胞傷害性T細胞だけでなくHLA class II(ヒト白血球抗原クラスII)とヘルパーT細胞(CD4陽性T細胞)による免疫応答も重要な役割を担うことが広く知られている。本研究で我々は、日本人集団に高頻度に認められるHLA class IIアレルと、ホルモン感受性(HR+)難治性乳癌で多く認められるpublic neoantigenの一部の領域のペプチドとの相互作用について解析し、ワクチンの標的となりうる変異領域を探索した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん免疫療法の治療効果は、遺伝子変異が多く免疫原性の高いがんに対して効果的であることが知られているが、近年では免疫原性の低い固形がん領域でも、ネオアンチゲンワクチン併用により効果が高まることが報告され、今まで対象とされなかった癌腫においても効果の高い免疫療法の開発が期待されている。乳癌全体の約7割を占めるホルモン受容体陽性乳癌において免疫原性を示すネオアンチゲンの情報は十分に得られていないことから、本研究では我々はそのような変異を含む領域を見出すことを目的に研究を行った。

研究成果の概要(英文)：The importance of HLA class II and helper T cells in anti-tumor immunity has been well recognized, but not fully investigated whether there are neoantigens in hormone receptor positive (HR+) breast cancer with poor prognosis. To find a potential target neoantigens, we measured the interaction of HLA class II and public neoantigens commonly found in HR+ breast cancer. We selected frequent missense mutations in ESR1 and PIK3CA from the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (COSMIC) database and searched for peptides that can be presented by the common HLA class II alleles in Japanese, using in silico HLA-peptide binding prediction (NetMHCIIpan4.0). For the selected peptides, we measured their interaction with HLA class II. Among the candidate peptides, we identified seven ESR1 and ten PIK3CA mutated peptides that could be presented by HLA class II. These findings indicate a possibility that these peptides would be candidates for peptide-vaccine.

研究分野：乳癌

キーワード：Neoantigen HLA 乳癌 T細胞エピートープ

## 1. 研究開始当初の背景

近年、本邦で乳癌に罹患する患者は増加の一途をたどっており、現在では9人に1人の日本人女性が生涯で乳癌に罹患する(国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」(全国がん登録)2017年)。元来、乳癌は免疫原性の低い癌腫であると考えられていたが、予後不良なサブタイプであるトリプルネガティブ乳癌において腫瘍組織浸潤リンパ球が多い症例が存在することや、programmed death ligand 1 (PD-L1)陽性トリプルネガティブ乳癌に対する抗PD-L1抗体の有効性が示されていることから、乳癌領域においてもがん免疫療法の開発が期待されている。

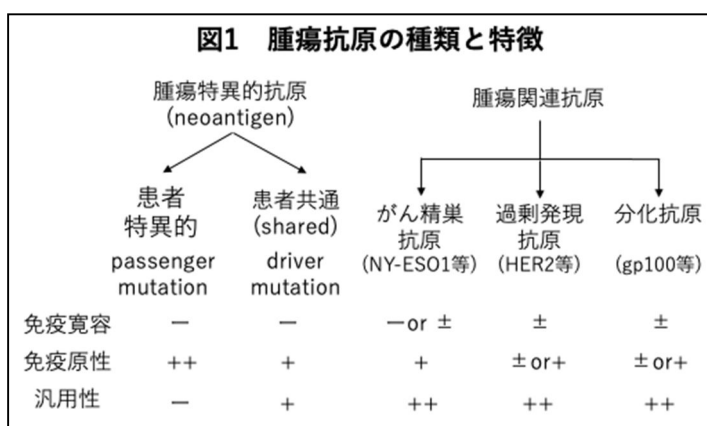
がん免疫療法の開発において最も重要な課題の1つは、効果的な標的抗原を同定することである。腫瘍抗原には腫瘍関連抗原と腫瘍特異的抗原が存在し、後者には患者特異的なネオアンチゲン(主に passenger mutation)と、患者間で共通して見られるネオアンチゲン

(public neoantigen)が含まれる(図1)。高い免疫原性を有し off-target 効果も少ない患者特異的ネオアンチゲンは理想的な治療ターゲットと言えるが、個々の患者に対して異なるワクチンを作成するには膨大な開発費用を要することなど、汎用性の低さが臨床応用への障壁となっている。

一方、多くの患者間で共通に認め

られる public neoantigen は典型的には driver mutation に由来し、免疫原性は passenger mutation に由来する抗原と比べ低いと考えられているが、免疫応答を誘導する共通抗原も複数報告されている。がん遺伝子パネル検査が保険適応となったこと等により、public neoantigen は汎用性の高い治療ターゲットとなりうると考えられる。

これらの抗原について、免疫原性のある変異領域を高精度に同定する手法の開発は長年試みられているものの未だ課題は多く残されており、その一つとして HLA class II 拘束性ペプチドの同定精度の低さが挙げられる。HLA とペプチドの相互作用測定で最も用いられているのは IC50 (50%結合阻害濃度)であり、多くの予測ツール(NetMHCIIpan など)がこれを指標として用いるが、IC50 は相対値であり実験条件により変動しうる等の課題がある。また、HLA class II は class I に比べ、結合予測が困難であることも知られている。これまで、がんワクチンの開発は HLA class I 拘束性ペプチドを主として設計されることが多かったが、近年の研究で HLA class II による抗原提示が抗腫瘍免疫応答において重要な役割を担うことが明らかとなっている。これらのことから、共通抗原(public neoantigen)に関する HLA class II 結合ペプチドのデータセットは今後の免疫療法開発において有益な情報となると考えた。



## 2. 研究の目的

本研究では以下のことを目的として研究を進めた。

乳癌で頻度の高い somatic mutation ( public neoantigen ) について頻度の高い HLA class II アレルとの結合解析を行い、HLA class II に提示されうるペプチド配列のデータを得ることを目的とした。

## 3. 研究の方法

臨床応用されているがん遺伝子パネル検査である FoundationOne CDx( Foundation Medicine, Inc.), NCC oncopanel(Agilent) 等に登録されている遺伝子を中心に、COSMIC(Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)のデータベースから乳癌で頻度の高いミスセンス変異を選出した。機械学習を用いた HLA Class II 結合予測アルゴリズム (NetMHCIIpan-4.0)を用いて in silico 予測を行い、ペプチド配列を設計した。日本人で高頻度に認められる HLA class II アレルとペプチドの結合アッセイを行い、HLA class II に提示されうる public neoantigen のペプチド配列のデータを得た。

## 4. 研究成果

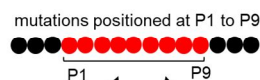
ホルモン感受性難治性乳癌の約 30-40%程度が保有するとされる ESR1、PIK3CA 遺伝子変異のうち、ミスセンス変異領域を対象として、日本人で保有頻度の高い HLA class I/II 認識部位を in silico 予測し( 図 2 )、結合測定を行い、HLA class II 提示領域を数箇所同定した。現在までに ESR1 変異 7 候補、PIK3CA 変異 10 候補と 3 種類の HLA class II アレルについて解析を行い、ネオアンチゲン候補となる領域を同定した。

図2 In silico HLA-peptide binding prediction

### Neoantigens in breast cancer

COSMIC(Catalogue of Somatic Mutations in Cancer)  
→ frequent missense mutations of ESR1 and PIK3CA  
→ long peptides(15mer)

mutations positioned at P1 to P9



NetMHCIIpan-4.0<sup>1)</sup>

NetMHCpan-4.1<sup>2)</sup>

HLA class II

HLA class I

1) NetMHCIIpan-4.0. <https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCIIpan-4.0>  
2) NetMHCpan-4.1. <https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?NetMHCpan-4.1>

### ➤ Peptide design

Select 1 peptide for each mutation

DRB4*01:03-E380Q	%Rank
HL <sup>1</sup> LC <sup>1</sup> AWLEILMIGL	95
VHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWLEILMIG	91.1
QVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWLEILMI	91.7
DQVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWLEILM	89
HDQVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWLEIL	83.5
LHDQVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWLEI	79.6
TLHDQVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWLE	72
LTLHDQVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AWL	52.1
DLTLHDQVHLL <sup>1</sup> QC <sup>1</sup> AW	21.5

↑ mutations positioned at P9

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Yukari Ando, Hiroko Miyadera, Sachie Hashimoto, Hiroko Bando, Emiko Noguchi
2. 発表標題 MHC density assay for public neoantigen in breast cancer and HLA class II
3. 学会等名 第81回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤有佳里、宮寺浩子、橋本幸枝、原尚人、坂東裕子、野口恵美子
2. 発表標題 HLA class II拘束性T細胞エピトープとなりうる乳癌のpublic neoantigenの探索
3. 学会等名 第27回 日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yukari Ando, Hiroko Miyadera, Sachie Hashimoto, Hisato Hara, Hiroko Bando, Emiko Noguchi
2. 発表標題 Exploration of public neoantigen in breast cancer that could be an HLA class II restricted T cell epitope
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2023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	宮寺 浩子  (Miyadera Hiroko)  (40361464)	筑波大学・医学医療系・助教    (12102)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	安藤 有佳里  (Ando Yukari)	筑波大学・大学院・博士課程  (12102)	

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