

令和 6 年 7 月 2 日現在

機関番号：83901

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K08193

研究課題名（和文）免疫チェックポイント阻害剤による液性免疫応答ダイナミクスの解明と効果予測への応用

研究課題名（英文）In depth proteomic profiling of humoral immune response for prediction of response to immune checkpoint blockade

研究代表者

清水 淳市（Shimizu, Junichi）

愛知県がんセンター（研究所）・分子診断TR分野・研究員

研究者番号：80796889

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000円

研究成果の概要（和文）：免疫チェックポイント阻害剤（ICI）単独療法の奏効率は10-40%と限定的である。また、ICIの特徴として免疫関連有害事象（irAE）が起こることが知られている。重篤なirAEは致死的になりうることから、irAEを予測可能なバイオマーカーの開発が求められている。本研究では、非小細胞肺癌患者のICI投与前における血漿抗原-自己抗体複合体の網羅的プロファイリングから、免疫チェックポイント阻害剤に対する治療反応性やirAE予測に有用な血液バイオマーカーの探索同定を行う。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、既存研究では見出しえなかったICI効果・副作用予測バイオマーカーの同定から革新的なICIの効果・副作用予測法の開発につながり、より効率的かつ効果的な個別化ICI治療と医療コストの抑制が期待できる。また、一般に、癌抗原に対する血中自己抗体の出現は、良好な予後とも関連することが知られている。このことは、腫瘍に対する液性免疫応答は、がん細胞の排除に働きうることを示唆している。本研究で腫瘍特異性が高い抗原分子が同定されれば、その抗原を標的とする、抗体薬物複合体や癌抗原ワクチン、CAR-T療法など、癌免疫療法のさらなる革新につながる。

研究成果の概要（英文）：The response rate to immune checkpoint inhibitor (ICI) monotherapy is limited to 10-40%. In addition, ICIs can induce immune-related adverse events (irAEs), which may result in treatment discontinuation. Therefore, there is a growing need to develop biomarkers that can predict response to ICIs and irAEs. In this study, we aim to explore humoral immune response that are associated with response to ICIs and irAEs by in-depth proteomic analysis of autoantibody-bound antigens in the plasmas from non-small cell lung cancer patients prior to ICI treatment and identify blood-based biomarkers that can predict response to ICIs and irAEs.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：免疫チェックポイント阻害薬 免疫関連有害事象 血液バイオマーカー プロテオミクス 自己抗体  
癌抗原 間質性肺炎 大腸炎

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤 (immune checkpoint inhibitor; ICI) の登場により、生体の免疫が癌を拒絶し得ることが明らかとなり、癌免疫療法は、癌の4大治療法のひとつとしてその地位を確立した。しかし、ICI 単独療法での奏効率は10-40%と限定的である。また、ICI の特徴として、使用後に腫瘍が急速に増大する症例 (Hyperprogressive disease; HPD) や、自己免疫性の免疫関連有害事象 (immune-related adverse event; irAE) として内分泌傷害、間質性肺炎、大腸炎、肝炎、腎炎、皮膚障害などを起こす症例があることが知られている。これらの副作用には用量依存性がなく治療レジメンから予測することは困難である上に、重篤な場合は致死的になりうることから、ICI の効果だけでなく、HPD や irAE の発症を、その使用前に予測できるバイオマーカーの開発は、喫緊の課題である。今までに、ICI の効果予測因子として、腫瘍の体細胞突然変異数 (Tumor mutational burden; TMB)、腫瘍内免疫細胞浸潤量、腫瘍細胞における PD-L1 発現などが、抗腫瘍効果と関連することが示唆されてきた。また、自己免疫疾患や血中自己抗体の存在は、ICI の効果や、irAE の発症と強く関連していることが報告されている。しかしながら、ICI の効果予測を臨床で行うために必要な感度と特異度を達成した血液バイオマーカーはいまだ確立されていない。また、irAE に特異的で irAE の発症臓器を予測できるようなバイオマーカーの網羅的な探索同定も行われていない。

### 2. 研究の目的

愛知県がんセンター分子診断 TR 分野では、肺癌を含む様々な癌腫において、早期診断や治療個別化に有用な血液バイオマーカーの探索同定を行っており、最近極めて高感度な抗原 自己抗体複合体解析法を開発した。そこで、本研究では、ICI が一次治療として単剤で用いられた非小細胞肺癌患者において、ICI 投与前での、血漿抗原 自己抗体複合体の網羅的プロファイル解析し、ICI に対する治療反応性や irAE 予測に有用なバイオマーカーの探索同定を行う。

### 3. 研究の方法

非小細胞肺癌患者 12 例 (irAE 大腸炎 3 例と臨床因子を可能な限りマッチさせた irAE 非発症 3 例、irAE 間質性肺炎 3 例と臨床因子を可能な限りマッチさせた irAE 非発症 3 例) において、ICI 投与前の各血漿から Protein A/G Beads を用いて免疫グロブリン複合体を回収する。これをトリプシン消化し、サンプル毎に質量分析を行い、免疫グロブリンに結合した抗原タンパク質を同定し、自己抗体プロファイルを得る。自己抗体プロファイルと irAE の発症の有無との関連から、irAE の効果予測バイオマーカー候補を同定する。さらに、The Human Protein Atlas、BioGPS などの公開データベースに基づき、非小細胞肺癌における遺伝子発現、irAE を発症した臓器での遺伝子発現を検討し、バイオマーカーを絞り込む。有望なバイオマーカーについては、ICI 投与を受けた非小細胞肺癌患者 186 例からなる、独立した血漿サンプルセットを用いてバイオマーカーの初期検証を行う。

### 4. 研究成果

自己抗体結合抗原の解析については、当初のプロトコルでは、抗原 自己抗体複合体分画に含まれる微量な抗原と多量に存在する免疫グロブリンを精度よく分離することができず、同定される抗原数は1検体当たり150個程度と十分な感度とは言えなかった。しかし、pH 勾配液体クロマトグラフィーを応用して抗原を溶出することで、従来の7倍超の高感度化を達成して1,000個超の抗原同定が可能なハイスループット自己抗体結合抗原解析法を開発した (特願 2022-152089) (図1)。

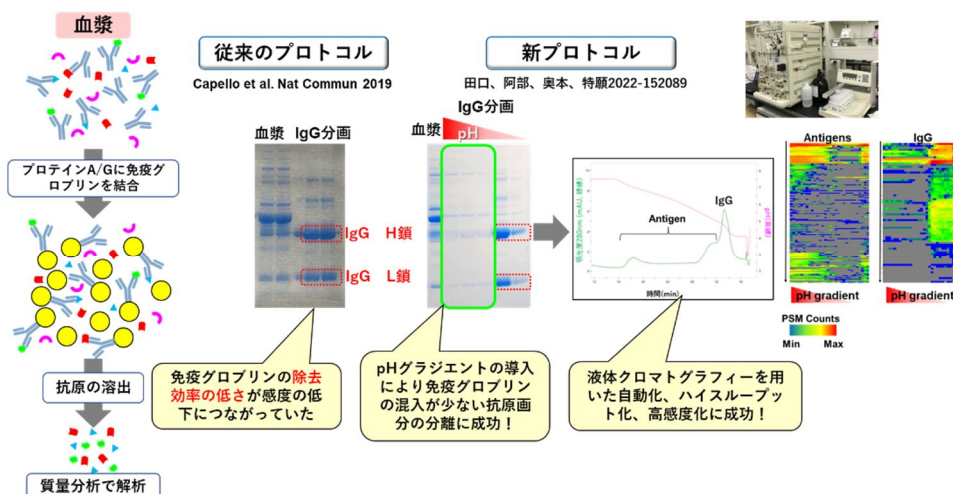


図1 血中抗原 自己抗体複合体の網羅的プロファイリング

非小細胞肺癌患者 12 例 ( irAE 大腸炎 3 例と対照 irAE 非発症 3 例、 irAE 間質性肺炎 3 例と対照 irAE 非発症 3 例 ) において、自己抗体結合抗原解析を行った。1 検体当たり、1379 ~ 1473 個、トータル 2682 個の自己抗体結合抗原が同定できた。

これらの自己抗体結合抗原プロファイルについてクラスター解析を行ったところ、 irAE 発症例と非発症例が明瞭に区別されたことから、ICI 投与前の自己抗体結合抗原プロファイルに irAE 発症を予測可能なバイオマーカーが含まれていることが示唆された ( 図 2 )。

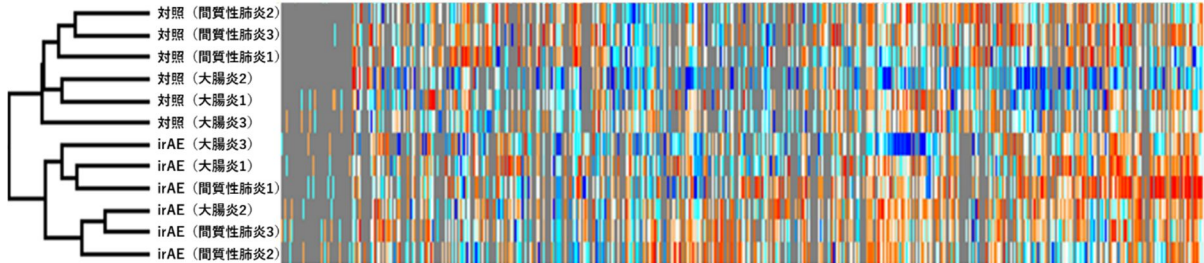


図2 自己抗体結合抗原のクラスター解析

この中で興味深い一群の自己抗体については、ICI 投与を受けた非小細胞肺癌患者 186 例からなる、独立した血漿サンプルセットを用いてバイオマーカーの初期検証を進めている。初期検証には、ELISA ベースの自己抗体アッセイプラットフォームを用いているが、我々は、抗原の種類にかかわらずバックグラウンドを極めて低く抑えるアッセイの開発に最近成功している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 田口歩	4. 巻 39
2. 論文標題 腫瘍免疫と免疫チェックポイント阻害薬	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Medical Practice	6. 最初と最後の頁 384-388
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計10件（うち招待講演 6件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yuichi Abe, Hisanori Isomura, Zhou Shuang, Taisuke Kajino, Rui Yamaguchi, Waki Hosoda, Kazuo Hara, Ayumu Taguchi
2. 発表標題 A proteogenomic approach for identification of novel IgG-bound antigens in pancreatic cancer
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術集会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ayumu Taguchi
2. 発表標題 In-depth proteomics to decipher the complexity of the blood cancer proteome
3. 学会等名 第82回日本癌学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Ayumu Taguchi
2. 発表標題 In-depth Plasma Proteomics for Cancer Biomarker Discovery
3. 学会等名 HUPO 2023（招待講演）（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 田口 歩、飯田琢也
2. 発表標題 がん早期診断に「光」を！
3. 学会等名 第10回光科学異分野横断萌芽研究会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 阿部雄一，磯村久徳，田口 歩
2. 発表標題 免疫グロブリン結合抗原の高深度プロテオーム解析による新規がんバイオマーカー探索
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2023年大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 阿部 雄一、磯村 久徳、田口 歩
2. 発表標題 免疫グロブリン結合タンパク質の高深度プロテオーム解析と、新規がんバイオマーカー探索研究への応用
3. 学会等名 第42回日本分子腫瘍マーカー研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 阿部雄一、磯村久徳、田口 歩
2. 発表標題 免疫グロブリン結合タンパク質の高深度プロテオーム解析と、新規がんバイオマーカー探索研究への応用
3. 学会等名 日本プロテオーム学会2022年大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 田口 歩
2. 発表標題 光濃縮による血中がんバイオマーカーの超高感度測定法の開発および新規バイオマーカー探索
3. 学会等名 第48回 光科学異分野横断セミナー（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田口 歩
2. 発表標題 血液は何を語るのか：光濃縮によるがん早期診断への挑戦
3. 学会等名 LAC-SYS 研究所第3回シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 田口 歩
2. 発表標題 クリニカルプロテオミクスが拓くがん研究の近未来
3. 学会等名 第53回藤田医科大学医学会シンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 抗原分子の単離方法	発明者 田口 歩、阿部雄一、奥本泰秀	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-152089	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	田口 歩  (Taguchi Ayumu)  (50817567)	愛知県がんセンター(研究所)・分子診断TR分野・分野長    (83901)	

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