

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15584

研究課題名（和文）胸部悪性腫瘍における急性炎症および悪液質による免疫抑制機構の解析

研究課題名（英文）Acute phase protein and cachexia on adaptive immunity in thoracic malignancy

研究代表者

吉田 達哉（Yoshida, Tatsuya）

国立研究開発法人国立がん研究センター・中央病院・医師

研究者番号：10729338

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：胸部悪性腫瘍患者において、悪液質自体が全身性免疫に影響を与え、免疫チェックポイント阻害剤の治療効果に影響を与えていることを報告した。さらに遺伝子変異との関係についても検討を行い、非小細胞肺癌のドライバー遺伝子変異であるEGFR遺伝子変異を有する患者では、悪液質の合併の頻度が有意に少ないことを同定した。ドライバー遺伝子変異以外としては、TP53、CDKN2AおよびSMARCA4の遺伝子変異を有する症例では、悪液質の合併頻度が有意に高いことを同定した。引き続き遺伝子発現解析を行い、急性炎症および急性炎症および悪液質によって特異的な遺伝子発現が亢進するかを網羅的な解析を行う予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によって、急性炎症および悪液質の状態下での免疫応答に関する基盤データを構築することができた。悪液質の発症と関係する遺伝子変異も同定によって、急性炎症や悪液質の状態を克服するための新たな治療標的の同定につながることを期待される。一方で、急性炎症および急性炎症および悪液質によって特異的な遺伝子発現が亢進するかについては不明であるため、網羅的な解析が重要である。

研究成果の概要（英文）：We reported that the status of cancer cachexia affected the clinical outcomes of immune checkpoint inhibitors in patients with thoracic malignancies. Additionally, we evaluated whether the mutation status was associated with the presence of cancer cachexia. EGFR, TP53, CDKN2A, and SMARCA4 mutation status were associated with the cancer cachexia. We are planning to evaluate how the cancer cachexia affects the gene expression profiles on tumor cells.

研究分野：呼吸器内科学

キーワード：悪液質 急性炎症 胸部悪性腫瘍 免疫チェックポイント阻害剤 腫瘍免疫応答

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

肺がんなど様々ながん腫において、抗 PD-1 阻害薬や抗 CTLA-4 抗体などの免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibitor; ICI) が、従来の抗がん剤治療や分子標的薬と比較して良好な治療効果を示すことが報告され、標準治療の一つとなってきた。しかし、有効性を示すのは一部の患者であり、これまで腫瘍細胞上の PD-L1 蛋白の発現や体細胞変異数など様々な治療効果予測因子が報告されてきたが、現状で明確なバイオマーカーは存在しない。

生体内で急性炎症をきたした際に産生される C-reactive protein (CRP), serum amyloid A, Serum amyloid P などの急性炎症性蛋白の血液中濃度が高値の癌患者は、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果が不良であるとともに予後が不良であることが報告されている。また我々は急性炎症性蛋白である CRP 血液中濃度が高値の患者で、抗 PD-1 抗体の治療効果が有意に不良であることを報告すると同時に、抗 PD-1 抗体を使用した悪性黒色腫患者の治療前血清を質量分析法で解析し、急性炎症性蛋白や補体系蛋白といった急性炎症に関わる蛋白質群が治療効果と有意に関連があることを同定した。また急性炎症性蛋白の状態と関連する悪液質の状態下にある肺がん患者においては、免疫チェックポイント阻害薬の治療効果が不良であること報告してきた。

このため、免疫療法の治療適応と生存期間延長を考える上で、急性炎症および悪液質の状態を理解することが重要である。これまで急性炎症性所見が各種癌腫の予後に相関することについては数多くの研究が行われている。しかし一方で、急性炎症および悪液質状態下での生体内の免疫応答機構は明確になっていないことが多い。

急性炎症例蛋白による生体内の免疫抑制機構に関する研究は、1990 年代後半まで盛んに行われてきたが明確な結論はなく、生体内における詳細な機能については不明である。悪液質についても、急性炎症性蛋白やその産生を刺激するそれぞれの炎症性サイトカインに関わる研究は行われているが、悪液質による免疫抑制機構に関する研究はほとんど行われていないのが現状である。

申請者は、これまで急性炎症性蛋白や補体系蛋白の獲得免疫への影響については、患者由来の末梢血単核球を用いて解析を行い、CRP 自体が活性化した T 細胞の増殖や機能を有意に抑制するとともに、樹状細胞の抗原提示能を抑制し、抗原特異的 T 細胞の誘導を阻害することを明らかにしてきた。

これらの先行研究のデータに基づくと、CRP 高値など急性炎症の状態やそれと関連する悪液質状態下では、免疫抑制機構が誘導されるとともに免疫老化に類似した免疫環境であることが想定された。このため本研究で、実際の生体内の免疫応答を詳細に解析することで、免疫チェックポイント阻害剤のバイオマーカーの同定および治療効果の向上、急性炎症や悪液質を克服するための新たな治療標的の同定、ひいては胸部悪性腫瘍患者の予後改善への臨床応用につなげることができるのではないかとこの着想に至った。

### 2. 研究の目的

本研究では、胸部悪性腫瘍患者の生体試料 (血液検体、末梢血単核球、手術検体の病理組織など) を用いて、急性炎症および悪液質の状態下での生体内の免疫抑制機能の解明を目的とする。

本研究の遂行により、下記を解明して胸部悪性腫瘍患者の新規免疫療法の開発促進、そして胸部悪性腫瘍患者の予後改善を目指す。

- (1) 急性炎症および悪液質の状態下での免疫応答に関する基盤データを構築できる。
  - (2) 免疫チェックポイント阻害薬のバイオマーカーおよび治療効果の向上
  - (3) 急性炎症や悪液質の状態を克服するための新たな治療標的の同定
- などの成果が得ることができる。

この成果は、この成果は、胸部悪性腫瘍患者の新規免疫療法の開発促進、そして胸部悪性腫瘍患者の予後改善の一助となることが多いに期待される。

### 3. 研究の方法

本研究では、急性炎症および悪液質状態下の全身性免疫応答解析 (全身性免疫) およびの腫瘍の免疫微小環境解析 (局所免疫) の 2 つに分けて研究を行った。

- (1) 悪液質における全身性炎症、炎症性サイトカインおよび ICI 治療効果の関連:

急性炎症および悪液質状態の胸部悪性腫瘍患者より採取した検体を用いて、マルチプレックスサイトカインアッセイおよび T 細胞フェノタイプ解析を行い、急性炎症および悪液質の胸部悪性腫瘍患者の全身性免疫応答の検討を行う。また実臨床で ICI 治療を行った患者の検体を用

いて ICI 治療効果との関連も検討する。

また免疫老化がむとマクロファージやリンパ球などから IL-6, IL-1b, TNF のような炎症性サイトカインが産生されることがことで、より免疫抑制側に誘導されることが報告されている。そのため免疫老化と悪液質の関連についても、血球のテロメア長を測定することで評価を行う。

#### (2) 悪液質に関連した遺伝子変異および免疫微小環境解析との関連

急性炎症および悪液質自体が、腫瘍および腫瘍局所の免疫微小環境に影響を与えるかどうかは不明である。まず本研究では、胸部悪性腫瘍患者より腫瘍組織を用いて、遺伝子変異解析を行い、悪液質と遺伝子変異プロファイルとの関連を検討した。また急性炎症および悪液質状態下の腫瘍局所の免疫微小環境を遺伝子発現解析 (RNA-seq など) で評価を行い、腫瘍局所においても急性炎症および悪液質による免疫抑制機構が働いているかどうかを検討する。

### 4 . 研究成果

#### (1) 悪液質における全身性炎症、炎症性サイトカインおよび ICI 治療効果の関連 :

未治療胸部悪性腫瘍の検体を用いて、悪液質の関わる炎症性サイトカインおよび悪液質関連蛋白質 (グレリン、レプチンなど) の血液中濃度および悪液質との関連を検討した。悪液質患者では、悪液質がない患者と比較して、有意に IL-1, IL-6, TNF など炎症性サイトカイン濃度が高値であることを報告した。さらに ICI の治療効果との相関も検討を行い、悪液質自体は、ICI の奏効割合には影響を与えないが、有意に無増悪生存期間および全生存期間と関連していることを報告した。このことは、悪液質が全身性免疫に影響を与え、治療効果に影響を与えている可能性を示唆している結果であった。

悪液質と免疫老化の関連の検討については胸部悪性腫瘍患者の血球由来の DNA を用いて、免疫老化の指標としてテロメア長解析を行い、免疫老化と悪液質および ICI 治療効果の検討を行った。本検討では、ICI の治療効果と免疫老化との関連性は認められなかった。そのため患者由来の末梢血単核球検体を用いて、Flow-FISH を用いた解析を行っている。

#### (2) 悪液質に関連した遺伝子変異および免疫微小環境解析との関連 :

国立がん研究センター中央病院で治療を行った胸部悪性腫瘍患者 200 例度を対象として、腫瘍組織を用いて NGS による遺伝子変異の検討を行った。非小細胞肺癌のドライバー遺伝子変異である EGFR 遺伝子変異を有する患者では、悪液質の合併の頻度が有意に少ないことを同定した。ドライバー遺伝子変異以外としては、TP53、CDKN2A および SMARCA4 の遺伝子変異を有する症例では、悪液質の合併頻度が有意に高いことを同定した。

我々は、腫瘍側の遺伝子変異と腫瘍免疫微小環境は、密接と関連していることを報告しており、さらに遺伝子発現解析 (RNAseq) を行い、急性炎症および急性炎症および悪液質によって特異的な遺伝子発現が亢進するかを網羅的な解析を行っている。現在、悪液質に関わる遺伝子発現解析の最終解析を行っており、論文を執筆中である。

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 0件）

1. 著者名 Jo Hitomi, Yoshida Tatsuya, Horinouchi Hidehito, Yagishita Shigehiro, Matsumoto Yuji, Shinno Yuki, Okuma Yusuke, Goto Yasushi, Yamamoto Noboru, Takahashi Kazuhisa, Motoi Noriko, Ohe Yuichiro	4. 巻 71
2. 論文標題 Prognostic significance of cachexia in advanced non-small cell lung cancer patients treated with pembrolizumab	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Immunology, Immunotherapy	6. 最初と最後の頁 387 ~ 398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00262-021-02997-2	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 Shirasawa Masayuki, Yoshida Tatsuya, Shimoda Yukiko他	4. 巻 16
2. 論文標題 Differential Immune-Related Microenvironment Determines Programmed Cell Death Protein-1/Programmed Death-Ligand 1 Blockade Efficacy in Patients With Advanced NSCLC	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Thoracic Oncology	6. 最初と最後の頁 2078 ~ 2090
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jtho.2021.07.027	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 Tateishi Akiko, Horinouchi Hidehito, Yoshida Tatsuya, Masuda Ken, Jo Hitomi, Shinno Yuki, Okuma Yusuke, Goto Yasushi, Yamamoto Noboru, Ohe Yuichiro	4. 巻 60
2. 論文標題 Correlation between body mass index and efficacy of anti-PD-1 inhibitor in patients with non-small cell lung cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Respiratory Investigation	6. 最初と最後の頁 234 ~ 240
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.resinv.2021.11.003	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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 徐 仁美, 吉田 達哉
2. 発表標題 進行期 NSCLC における悪液質の病態および Pembrolizumab 治療効果の関係
3. 学会等名 第62回 日本肺癌学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉田 達哉
2. 発表標題 胸膜中皮腫における免疫チェックポイント阻害 剤の位置づけと今後の治療戦略
3. 学会等名 第62回 日本肺癌学会学術集会 (招待講演)
4. 発表年 2021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

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