

平成 28 年 6 月 8 日現在

機関番号：35303

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26830117

研究課題名(和文) 肺癌の免疫逃避機構の解明と、次世代免疫逃避解除型がんワクチン療法の臨床開発

研究課題名(英文) Clinical development of the next-generation cancer immunotherapy against lung adenocarcinoma

研究代表者

大植 祥弘 (OHUE, YOSHIHIRO)

川崎医科大学・医学部・講師

研究者番号：70435014

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：XAGE1は肺腺癌に発現するがん精巢抗原であり、肺腺癌で約40%にその発現を認め、高い免疫原性を有している。本研究ではXAGE1に対する抗体反応を免疫バイオマーカーとして用い、肺腺癌の自然経過を前向き研究により観察した。

XAGE1に対する潜在的な免疫応答を有する患者は、免疫応答がない患者と比較し、有意に生存期間の延長が認められた。(免疫応答あり：中央生存期間31.5ヶ月、免疫応答なし：15.6ヶ月 HR:0.53, P=0.006)。すなわち、進行期肺腺癌においてXAGE1抗体反応陽性患者は予後が著明に延長することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：XAGE is a cancer/testis antigen expressed mainly in non-small cell lung cancer. In this study, we investigated correlation of intensity of humoral and cellular immune responses against XAGE1 and its clinical relevance. Frequency of XAGE1 antibody positive patients in NSCLC was 9.2% (46/500). The frequencies of Th1 and Th17 were significantly higher and immunosuppressive populations as activated Tregs and MDSC were significantly lower in antibody positive patients compared to antibody negative patients. Median OS were 31.5 and 15.6 months in antibody-positive and negative patients (P=0.006) with 145 stage IIIB/IV lung adenocarcinoma. Multivariable analyses showed XAGE1 antibody response was independent prognostic factor. Our findings indicate that XAGE1 antibody response is a prognostic biomarker in the patients with advanced lung adenocarcinoma.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：肺癌 がん精巢抗原 抗体 がん免疫

1. 研究開始当初の背景

本邦のがん死亡は死因の第一位となり、新規の癌診断と治療法の開発が急務である。近年、次世代のがん治療法として免疫原性の高いがん特異抗原を用いたワクチン療法や免疫制御分子に対する抗体療法などががん免疫療法の有用性が報告された。

がん精巣 (CT, cancer/testis) 抗原は、その発現が精巣とがん組織に限定されていることからがん免疫療法の有用な標的である。XAGE1(GAGED2a)はCT抗原であり、肺癌患者の血清を用いた SEREX 法により同定し、特異抗体を用いた検討で、主に肺腺癌に発現する事を報告してきた。

進行期肺腺癌患者で、XAGE-1b に対する液性免疫は約 18%と高頻度で検出し、血清抗体価陽性患者で CD4 および CD8 T 細胞免疫応答を世界で初めて証明した。また、種々の T 細胞エピトープの同定にも成功し、同成果は特許として取得した。

一方で近年、腫瘍局所の CD4,8T 細胞免疫を負に制御する分子として PD-1/PD-L1、TIM-3/Galectin-9、LAG-3/MHC-II、BTLA/HVEM 経路などの免疫チェックポイント分子が報告され、免疫抑制細胞としては、制御性 T 細胞や、骨髄由来抑制細胞が注目されている。

2. 研究の目的

進行期肺腺癌で、XAGE1 に対する潜在的な免疫が誘導されている患者では予後が延長する可能性がある。XAGE1 免疫を指標に肺腺癌の予後を検討し、さらに、XAGE1 免疫における免疫抑制因子を免疫抑制細胞の頻度や免疫チェックポイント分子の発現を指標に解析する。

3. 研究の方法

XAGE1 に対する特異的免疫応答について、抗原特異的抗体を ELISA 法で、CD4 および CD8 T 細胞の検出には、細胞内染色法を用いて検討した。またフローサイトメトリー法で、制御性 T 細胞、骨髄由来性細胞の免疫抑制細胞の頻度を解析した。さらに、T 細胞表面に発現する免疫チェックポイント分子をフローサイトメトリー法で解析した。

4. 研究成果

XAGE1 に対する抗体反応は、肺癌で 46/537 (8.6%)、非小細胞肺癌 46/500 (9.2%)、進行期肺腺癌 34/167 (20.4%) で認められ、進行期肺腺癌で高頻度に XAGE1 に対する特異的な免疫応答が認められた。抗体陽性患者 11 名において、XAGE1 抗原特異的な CD4 および CD8 細胞の反応を検討した。CD4 T 細胞では、抗原特異的な IFN- γ /TNF の産生は 7/11 (64%)、IL-5/IL-13 は 1/11 (9%)、IL-17A/IL-17F は 3/11 (27%)、IL-10 は 0/11 (0%) で認めた。

XAGE1 免疫陽性者は、陰性者に比べ、制御

性 T 細胞および骨髄由来性抑制細胞の頻度が有意に低下していた。さらに、抗体陽性者は陰性者に比べ、末梢血 CD4 T 細胞で、ICOS、PD-1 の上昇、BTLA の低下がみられ、末梢血 CD8 T 細胞では、GITR の発現低下が認められた。

次に我々は、XAGE1 免疫が肺腺癌患者の予後に及ぼす効果を前向き臨床試験で検討した。その結果、進行期肺腺癌において、XAGE1 抗原の陽性と陰性での全生存期間の差は認めなかったが、XAGE1 抗原陽性で XAGE1 に対する潜在的な免疫応答を有する患者は、免疫応答がない患者と比較し、有意に生存期間の延長が認められた。(抗原陽性かつ免疫応答あり: 中央生存期間 33.3 ヶ月、抗原陽性かつ免疫応答なし: 13.7 ヶ月 HR:0.34, P<0.0001)(図 1)。

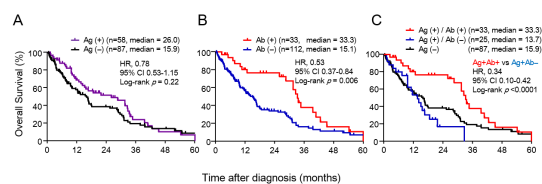


図 1. 進行期肺腺癌における XAGE1 を指標とした予後

また EGFR 遺伝子変異のある肺腺癌患者では、XAGE1 抗原の発現は、抗体反応を伴わない場合、予後不良因子であることが明らかとなった(HR:3.0, P<0.006)(図 2)。EGFR 遺伝子変異のない肺腺癌患者では予後不良因子とはならないことから、XAGE1 抗原分子と変異 EGFR 分子との間に、特異的な作用が有ることを示唆している。この前向き臨床試験の見解は、進行期癌でもなお、XAGE1 に対する宿主免疫応答は免疫監視効果を発揮していることを示唆している。

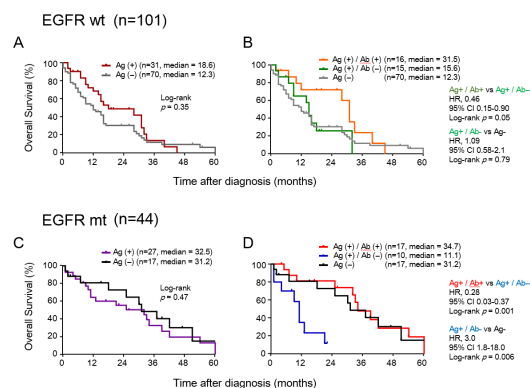


図 2. 進行期肺腺癌における EGFR 遺伝子変異別の、XAGE1 を指標とした予後

また、診断初期に XAGE1 に対する強い免疫応答が誘導されているにも関わらず、終末期で XAGE1 免疫が減弱している患者では(図 3)、末梢血中の骨髄由来抑制細胞の頻度が上昇し、免疫チェックポイント分子である TIM-3 の有意な発現上昇が CD8 T 細胞で確認された。これらの事実は、XAGE1 免疫の免疫抑制機構

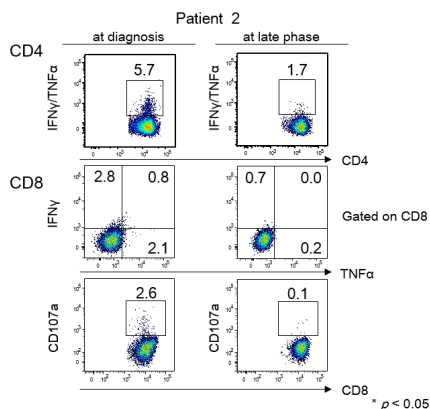


図3. 診断時(左)と終末期(右)における XAGE1 免疫の減弱

として、骨髄由来性抑制細胞や、免疫チェックポイント分子が重要であることを意味している(図4)。

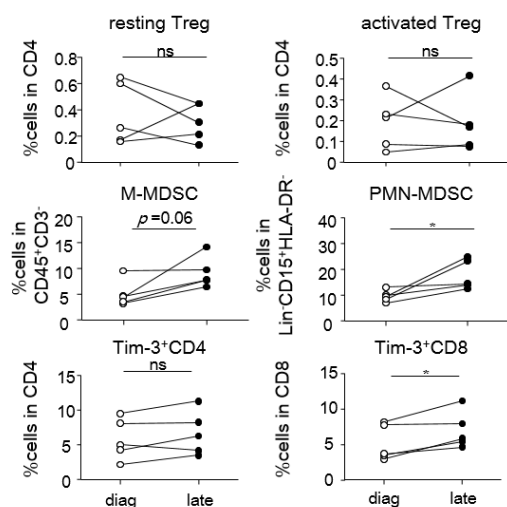


図4. 診断時と終末期における制御性T細胞(上段)骨髄由来性抑制細胞(中段)免疫チェックポイント分子の発現(下段)

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Kurose K*, Ohue Y*(* equal contributor), Wada H, Iida S, Ishida T, Kojima T, Doi T, Suzuki S, Isobe M, Funakoshi T, Kakimi K, Nishikawa H, Uono H, Oka M, Ueda R, Nakayama E. Phase Ia Study of FoxP3+ CD4 Treg Depletion by Infusion of a Humanized Anti-CCR4 Antibody, KW-0761, in Cancer Patients. Clin Cancer Res. 査読有 19:4327-36 2015. doi: 10.1158/1078-0432.

Katoh S, Ikeda M, Shimizu H, Abe M, Ohue Y, Mouri K, Kobashi Y, Oka M. Increased Galectin-9 Concentration and Number of CD4+Foxp3high+Cells in Bronchoalveolar Lavage Fluid of Patients with Cryptogenic Organizing Pneumonia. Lung. 査読有 5:683-9 2015.

doi: 10.1007/s00408-015-9775-x.

Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, Nishio Y, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an antihuman CCR4 mAb (KM2760). J Thorac Oncol. 査読有 1:74-83 2015

doi: 10.1097/JTO.0000000000000364.

Ohue Y, Wada H, Oka M, Nakayama E. Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in cancer patients. Oncoimmunology. 査読有 11:e970032 2014.

eCollection 2014 Nov.

Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Prolongation of overall survival in advanced lung adenocarcinoma patients with the XAGE1 (GAGED2a) antibody. Clin Cancer Res. 査読有 19:5052-63 2014.

doi: 10.1158/1078-0432.

Mizote Y, Wakamatsu K, Ito S, Uenaka A, Ohue Y, Kurose K, Isobe M, Ito A, Tamura Y, Honda H, Yamashita T, Nohara S, Oka M, Jimbow K, Nakayama E. TLR4 and NLRP3 inflammasome activation in monocytes by N-propionyl

cysteaminyphenol-maleimide-dextran (NPCMD). J Dermatol Sci. 査読有 3:209-15 2014.

doi: 10.1016/j.jdermsci.2013.11.006.

[学会発表](計14件)

大植祥弘, 黒瀬浩史, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 中山睿一, 岡三喜男: 腫瘍PD-L1, Gal-9, XAGE1 発現及びT細胞浸潤を指標とした肺腺癌の予後予測, 第56回日本肺癌学会学術集会, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市, 2015年11月26日

大植祥弘, 黒瀬浩史, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 岡三喜男, 中山睿一: Survival predicting discriminant function with immune parameters for lung adenocarcinoma patients, 第74回日本癌学会学術総会, 名古屋国際会議場, 愛知県名古屋市, 2015年10月8日

Ohue Y, Kurose K, Oka M, Nakayama E: Discriminant function for predicting survival of lung adenocarcinoma

patients developed by using immune parameters of PD-L1, Gal-9, and XAGE1 expression on tumor cells and T cell infiltration score, The Inaugural International Cancer Immunotherapy Conference, New York, USA, Sep 26, 2015

Ohue Y: Discriminant function for predicting survival of lung adenocarcinoma patients developed by using immune parameters of PD-L1, Gal-9 and XAGE1 expression on tumor cells and T cell infiltration score, 第 19 回日本がん免疫学会総会, 東京大学伊藤国際学術研究センター 伊藤謝恩ホール, 東京都文京区, 2015 年 7 月 9 日

Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Nakayama E, Oka M: Clinical effect of XAGE1(GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma, 55th Annual Meeting of The Japanese Respiratory Society, Tokyo International Forum, Chiyoda, Tokyo, April 17, 2015

大植祥弘, 黒瀬浩史, 磯辺みどり, 上中明子, 福田実, 中山睿一, 岡三喜男: 肺腺癌で XAGE1 に対する宿主免疫応答の解析と予後延長効果の証明, 第 112 回日本内科学会講演会, みやこメッセ, 京都府京都市, 2015 年 4 月 10 日

大植祥弘, 黒瀬浩史, 岡三喜男, 中山睿一: Clinical effect of XAGE1 (GAGED2a) immunity in advanced lung adenocarcinoma, 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会, 東京ガーデンパレス, 東京都文京区, 2015 年 2 月 28 日

大植祥弘, 黒瀬浩史, 岡三喜男, 中山睿一: 進行期肺腺癌における XAGE1 (GAGED2a) 免疫と予後, 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会, 東京ガーデンパレス, 東京都文京区, 2015 年 2 月 28 日

大植祥弘, Janardan Pandey, Aryan Namboodiri, 中山睿一, 岡三喜男: 非小細胞肺癌患者で、免疫グロブリン鎖および鎖の遺伝的変異が XAGE1 免疫に及ぼす影響, 第 55 回日本肺癌学会学術集会, 国立京都国際会館, 京都府京都市, 2014 年 11 月 14 日

大植祥弘, 黒瀬浩史, 溝手雄, 松本博文, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 福田実, 中山睿一, 岡三喜男: 非小細胞肺癌における XAGE1 免疫の予後延長効果, 第 55 回日本肺癌学会学術集会, 国立京都国際会館, 京都府京都市, 2014 年 11 月 14 日

Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto

H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M and Nakayama E: Clinical effect of XAGE1 (GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma, 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium, New York, USA, Oct 5, 2014
Ohue Y, Kurose K, Matsumoto H, Mizote Y, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E: Clinical effect of XAGE1 immune response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma, 第 73 回日本癌学会学術集会, パシフィコ横浜, 神奈川県横浜市, 2014 年 9 月 25 日

Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E: Clinical effect of XAGE1(GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type and advanced lung adenocarcinoma, 第 18 回日本がん免疫学会総会, ひめぎんホール, 愛媛県松山市, 2014 年 7 月 30 日

大植祥弘, 黒瀬浩史, 溝手雄, 松本博文, 磯辺みどり, 上中明子, 福田実, 中山睿一, 岡三喜男: Prolonged overall survival in XAGE-1b (GAGED2a) antibody positive NSCLC patients, 第 54 回日本呼吸器学会学術講演会, 大阪国際会議場, 大阪府大阪市, 2014 年 4 月 25 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 1 件)

名称: 免疫因子を指標とした肺腺癌の予後演算式作成方法と予後推定方法

発明者: 大植祥弘、岡三喜男、黒瀬浩史、中山睿一

権利者: 学校法人 川崎学園

種類: 特許

番号: 特願 2016-052644、PCT / JP2016 / 063687

出願年月日: 平成 28 年 3 月 16 日

国内優先: 平成 27 年 5 月 8 日 (特願 2015-096013)

平成 27 年 10 月 28 日 (特願 2015-212393)

国内外の別: 国内外

取得状況 (計 1 件)

名称: XAGE-1b 特異的免疫反応を誘導するペプチドおよびその利用

発明者: 中山睿一、大植祥弘

権利者: 国立大学法人 岡山大学

種類：特許
番号：第 5709108 号
取得年月日：205 年 3 月 13 日
国内外の別：国内

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.kawasaki-m.ac.jp/resp/>

6．研究組織

(1)研究代表者

大植 祥弘 (YOSHIHIRO, Ohue)
川崎医科大学 呼吸器内科学 講師
研究者番号：70435014