

## 固形がんにおける免疫治療の耐性機序と克服方法の解明

Dana Farber Cancer Institute Department of Medical Oncology

近畿大学医学部 内科学教室腫瘍内科部門

原谷 浩司

### 1. 諸言

免疫治療は、患者自身の体内の抗腫瘍免疫機構を利用することで長期の抗悪性腫瘍効果を発揮し、それにより長期生存が期待できることが特徴であり、現在の悪性腫瘍の治療において欠かせない要素となっている<sup>1)</sup>。しかし、現在利用可能な免疫治療法によって長期的な治療成果を得られるのはいまだ一部の患者のみであり、そのような耐性機序の解明とその克服によるさらなる免疫治療法の開発は重要な科学的かつ臨床的課題である<sup>1)</sup>。本研究では、腫瘍細胞に内在する免疫機構を操作することで、新たな免疫治療標的を探索することを試みており、今回はその研究結果の途中経過を報告する。なお、研究内容の独自性と機密性を深く考慮した内容となることを御容赦頂きたい。

われわれは、腫瘍細胞が免疫細胞の標的となるために必要な抗原提示機構に注目している。特に、PD-1/PD-L1 抗体が治療効果を発揮するための機序の主体となっている CD8 陽性 T 細胞を始めとした、適応免疫の最終標的であるネオアンチゲン/ネオエピトープの特定は重要な課題と考えている。新たなネオエピトープを発見し、そのネオエピトープを特異的に攻撃することができ、本来は体内に備わっていないような治療法を開発することで、従来の免疫治療への抵抗性を克服することができると考えられる。

これまでに、複数のネオアンチゲン/ネオエピトープの特定に成功しており、現在はそのネオエピトープの発現を上昇させるための新規治療戦略の探索・解明と、ネオエピトープを直接標的とする免疫細胞の開発を進めている。

### 2-3. 方法/結果

われわれの研究計画では、ネオエピトープ候補としてタンパク A (独自性・機密性のために具体的な情報は非開示) に注目した。タンパク A のうち、ヒト悪性腫瘍において再現的に報告されている変異を Dana-Farber Cancer Institute の genome database、NIH の genome database などを元に複数以上リストアップし、ヒトにおいて高頻度に報告されている HLA クラス I アレルと高い結合親和性を有するペプチドを、データベースに基づいたニューラ

ルネットワークにより探索した。治療標的となりうるエピトープとして数十から数百の候補が見つかった。次に、これらのエピトープの理論的候補が、実際に物理的に細胞膜表面に発現されることが可能かどうかをマスマスペクトロメトリーにより検討した。該当する HLA アレルを内在的に有する腫瘍細胞に、レンチウイルス系を用いてタンパク A を安定的に過剰発現させ、HLA ペプチド複合体を免疫沈降し、マスマスペクトロメトリーによりペプチド配列を同定した。なお、われわれの用いているマスマスペクトロメトリーはハイスループットかつ特異度が非常に高いアッセイであり、きわめて信頼度が高いものであることが特徴である。結果的に、数十から数百の理論的候補のうち、2 つのネオエピトープが再現性をもって検出された。その他の理論的候補は検出されなかったこと、すなわちニューラルネットワークを用いたエピトープの予想は生物学的には不十分であることに注目されたい。なお、この 2 つのネオエピトープはこれまでに報告されたことのないものであり、世界初の新規発見である。現在、このネオエピトープが、タンパク A を内在的に有する腫瘍細胞においても同様に発現されるかどうかを、患者由来腫瘍組織ならびに樹立済細胞株を用いて確認中である。また、並行して、同ネオエピトープを標的とする T 細胞受容体の同定を試みているところである。

一方で、同ネオエピトープの細胞膜表面発現を上昇させる治療戦略の開発にも取り組んでいる。細胞内に備わっている機構 B に注目し、その機構 B を促進するためのいくつかの介入を行っている。まず、一つ目の介入では、結果的に同ネオエピトープの細胞膜表面発現が増加することがマスマスペクトロメトリーにより確認された。この発見は、過去に類を見ない発見であり、新規の発見である。現在、一つ目の介入を支持するための二つ目の介入を行っているところである。また、これらの介入により増加した細胞膜表面のエピトープ発現が、実際にそのエピトープに特異的な T 細胞受容体を有する T 細胞の免疫活性を改善させるかどうかを検討した。タンパク A 由来で細胞膜表面に発現されることがすでに報告されているネオエピトープを標的とする T 細胞受容体を、ヒト末梢血由来 CD8 陽性 T 細胞に導入し、タンパク A を発現する腫瘍細胞に対する反応性を検討した。結果として、上記介入を行うことにより、T 細胞がネオエピトープを認識する能力が向上することが、IFN-g や TNF-a の産生能向上により確認できている。現在は、腫瘍細胞殺傷能の向上につながるかどうかを検討しており、確認できた場合には、in vivo や ex vivo のモデルを用いた前臨床の検討に移行する予定である。

#### 4.考察

われわれの高性能のマスマスペクトロメトリーにより 2 つの新規ネオエピトープを発見することができた。変異の頻度や、ペアとなる HLA アレルの頻度から察するに、実際の臨床においても相当数の患者で、これらのネオエピトープが発現されていることが予想される。現在は、全エキソーム解析、RNA-seq の大規模データベースを用いて、実際にわれわれの

新規ネオエピトープペアを有する対象患者が、実臨床においてどの程度存在するかを検証したいと考えている。また、これらの新規ネオエピトープを標的とする T 細胞受容体の同定に成功した場合には、治療方法開発に直結させることができ、将来的には臨床試験への進展を念頭に置いている。機構 B を用いた新規治療戦略との併用も非常に有望であると考えている。

## 5.結語

本研究では、2 つの新規ネオエピトープを世界で初めて同定した。また、同ネオエピトープを標的とする新規治療方法の開発に取り組んでいる。

## 6.文献

1) Waldman AD et al. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. Nat Rev Immunol. 2020 Nov; 20(11): 651-668.

## 7.成果発表

未発表（全ての解析が完了次第、発表予定）