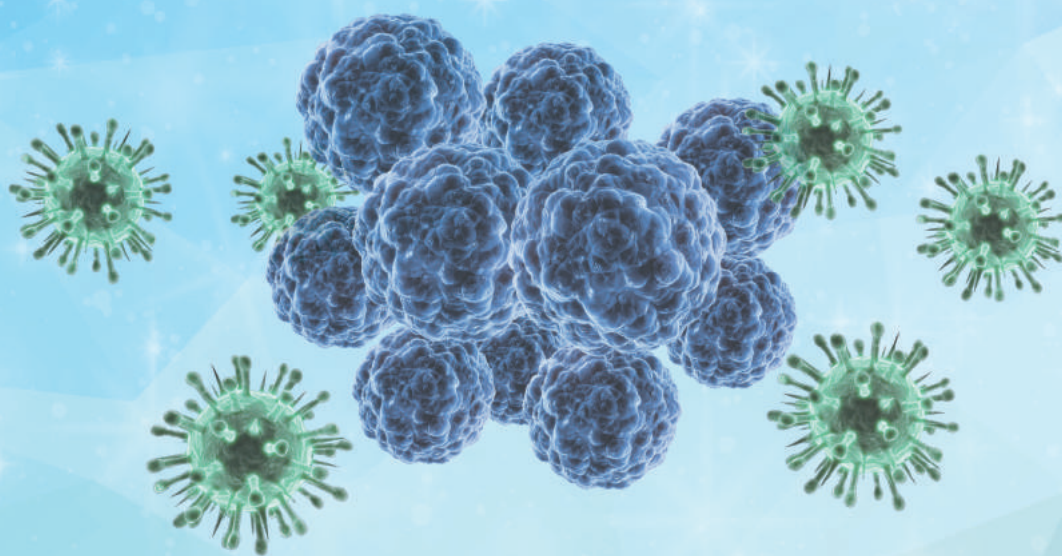


第12回 In vivo実験医学シンポジウム

# ヒト腫瘍免疫研究の新展開と がん免疫療法の開発

The 12th Annual Symposium on In Vivo Experimental Medicine

【講演抄録集】



日時

2018年11月21日(水)

13:00～17:35 シンポジウム 18:00～19:30 懇親会

場所

学士会館 210号室 シンポジウム 202号室 懇親会

オーガナイザー

河上 裕 (慶應義塾大学 医学部)



## はじめに

本シンポジウム「ヒト腫瘍免疫研究の新展開とがん免疫療法の開発」では、本分野の第一線の研究者に最新の知見を議論していただく企画でした。そのような時、本当にタイムリーに、本年度ノーベル生理学・医学賞は「Discovery of cancer therapy by inhibition of negative immune regulation」の成果で、京都大学の本庶佑博士とテキサス大学MD AndersonがんセンターのJames P Allison博士が、それぞれPD-1とCTLA-4の研究で共同受賞されました。私たちががん免疫研究者にとって喜ばしいかぎりです。

免疫チェックポイント阻害薬は、がん治療に貢献しただけでなく、がん免疫の研究にも新しい展開をもたらしました。特にPD-1/PD-L1抗体は、広く多くのがんに、抗がん剤が効かない進行がんに対しても効く場合があり、しかも効果が比較的長く続くことが示されました。一方、皆に効くわけではなく、多くのがんでの奏効率は20%前後であり、患者さんによっては重篤な自己免疫性副作用が起こる場合もあります。そこで臨床の現場では、効く方を早くに見分けるバイオマーカーの同定、また治療効果増強のために、他のがん治療や免疫制御法を併用する複合免疫療法、あるいは遺伝子改変T細胞などの新しい免疫療法の開発が期待されています。これらの課題の解決のためには、さらなるがん免疫病態の解明が必須です。ゲノムDNA, RNAから腸内細菌叢まで、コンピューターを用いたマルチオミックス解析などの新技術を駆使したヒトがん免疫病態の解明、および遺伝子改変技術などを駆使した動物実験などの基礎研究が必要です。

2018年11月

第12回 In vivo 実験医学シンポジウム オーガナイザー 河上 裕

# ヒトがんの免疫サブタイプと複合免疫療法

河上 裕 (慶應義塾大学 医学部 先端医科学研究所 所長)

私たちは、ヒト悪性黒色腫において、CD8+T細胞ががん細胞の排除に重要なことを示し、その免疫応答機構の解明を進めてきた。最近、免疫チェックポイント阻害薬は、CD8+T細胞を主要エフェクターとして、悪性黒色腫を超えて、肺がんなど広くさまざまながんに治療効果を示し、がん治療に変革をもたらした。しかし、多くのがんでの奏効率は20%程度であり、効果予測バイオマーカーの同定、またT細胞応答の重要な調節ポイントを複数制御する複合免疫療法による治療効果の改善が期待されている。

PD-1/PD-L1阻害で治療効果を得るためには、治療前に腫瘍抗原特異的CD8+T細胞が誘導されて腫瘍組織に浸潤(T cell inflamed, hot tumor)していることが重要であるが、患者ごとにT細胞浸潤状態は異なる。このような免疫状態の違いは、がん細胞の遺伝子異常(高免疫原性ネオ抗原を生成するDNA変異、免疫を抑制するがん遺伝子活性化など)、患者の免疫応答体質(HLAタイプや免疫関連分子のSNPs)、環境因子(喫煙、UV、腸内細菌叢など)に規定される。PD-1/PD-L1阻害の治療効果を増強するためには、特に、T細胞の標的抗原は十分存在するがCD8+T細胞の誘導・浸潤状態が低い免疫病態の機序を解明し、それを克服することが重要となる。

私たちは、腫瘍組織の網羅的遺伝子発現解析を中心とした各種遺伝子・免疫解析により、各種ヒトがんにおいて免疫サブタイプ分類を行い、各サブタイプの免疫病態とその機序の解明、その診断・治療への応用を試みている。例えば、大腸がんでは、CD8+T細胞浸潤が比較的高いサブタイプ(DNAミスマッチ酵素異常マイクロサテライト不安定サブタイプなど)と低いサブタイプ( $\beta$ -cateninシグナル亢進、代謝亢進、間葉系サブタイプなど)に分けられるが、それぞれ免疫病態も治療後予後も異なるので、その診断への応用だけでなく、サブタイプごとに適切な治療(適切な併用薬による複合がん免疫療法など)が必要と考えられる。がん横断的な免疫サブタイプ解析により、がんに共通な機序、またがん種ごと、同じがんでもサブタイプごとに異なる特有な免疫病態があることが明らかになっており、個別化・複合がん免疫療法の開発を進めている。



# がん微小環境における免疫抑制機構の制御による 新規がん免疫療法への展開

西川 博嘉

名古屋大学大学院 医学研究科 微生物・免疫学講座 分子細胞免疫学 教授  
国立がん研究センター研究所 腫瘍免疫研究分野/先端医療開発センター 免疫TR分野 分野長

1世紀程前にW. Coleyが免疫応答により悪性腫瘍が退縮することを見いだしてから、がん免疫研究はup and downを繰り返しながら発展を遂げてきた。その研究成果の一つである免疫チェックポイント阻害剤の非小細胞肺癌、胃癌をはじめとする様々ながん種への臨床導入により、がん免疫分野は新たな局面を迎えている。しかし、これらの免疫チェックポイント阻害剤単剤で臨床効果が認められる患者は20-30%程度であるため、レスポンドを識別するバイオマーカーの同定およびノンレスポンドで過剰もしくは不足している免疫応答を解明し、より効果的ながん免疫療法を開発することが求められている。

がん免疫編集説(Cancer Immunoediting)に従えば、がん細胞は免疫系からの攻撃を受けにくい免疫原性の低い(自己もどきの)がん細胞を選択する(免疫選択)とともに、生体に備わっている様々な免疫抑制機構を用いて免疫系から逃避(免疫逃避)することで、生体内で増殖し臨床的「がん」となる。よって遺伝子変異が多いがんでは、様々な免疫抑制機構を備える必要がある。我々は、遺伝子変異を多数有する患者群で、T細胞のがん微小環境への浸潤を阻害することにより抗腫瘍免疫応答を回避していることを明らかにした。これらの患者群では、遺伝子変異に由来する抗原(ネオ抗原)に対する免疫応答が末梢では認められることから、がん微小環境への浸潤を阻害するシグナル阻害剤と免疫チェックポイント阻害剤との併用の必要性が示唆された。

また、がん細胞が持つ遺伝子変異が直接的に免疫細胞浸潤をコントロールすることも明らかになっている。EGFR変異非小細胞肺癌では、免疫チェックポイント阻害剤の治療効果が低いことが示されている。EGFRシグナルが免疫系に及ぼす影響を検討したところ、EGFRシグナルは直接的にエフェクターT細胞浸潤を阻害し、免疫抑制性の制御性T細胞浸潤をがん局所に誘導していることを解明し、適切な併用療法の必要性が示唆された。

本講演では、個々のがん患者のがん細胞の特性をゲノム解析により明らかにするとともに、がん局所での免疫応答を統合的に検討することで、個々の患者のがん微小環境に十分に配慮した治療開発が必要であることを中心に議論したい。

# 腸内細菌とがん免疫療法

本田 賢也

慶應義塾大学 医学部 微生物学・免疫学教室 教授

ほ乳類の腸管には数百の腸内細菌（マイクロバイオータ）が存在し、宿主の生理機能に深く影響を及ぼしている。従ってマイクロバイオータを人為的に改善することが出来れば、複数の疾患に対する新たな治療戦略となり得る。我々は、消化管の恒常性維持機構を理解すると共に、個々の腸内細菌種が免疫システムにどのように影響を与えているかを還元化して把握して行く独自の研究手法を樹立してきた。この方法によってこれまでに、制御性T細胞、Th17細胞、Th1細胞、CD8 T細胞を特異的に誘導する腸内細菌種の同定に成功した<sup>1-5</sup>。

本研究では、健康人の便から、インターフェロン $\gamma$  (IFN $\gamma$ )陽性(+)のCD8 T細胞を誘導する11菌株を単離することに成功した。IFN $\gamma$ +CD8 T細胞は、マウス腸管に多く恒常的に存在しているが、無菌マウスではその数が著減していることから、腸内細菌がその数を増やしていると考えられた。そこで、健康人6名の便をそれぞれ無菌マウスに投与したところ、それぞれの便でIFN $\gamma$ +CD8 T細胞誘導能が異なることがわかった。そこで最も強力にIFN $\gamma$ +CD8 T細胞誘導が見られたマウスを選択し、その腸内容物を別の無菌マウスに投与し、異なる抗生物質を投与した。その結果、アンピシリンを投与した際に誘導が増強されることがわかった。再び最も強力にIFN $\gamma$ +CD8 T細胞誘導が見られたマウスを選択し、腸内容物を培養し、26菌株を単離した。そこからIFN $\gamma$ +CD8 T細胞誘導能を損なわずに11菌株にまで絞り込むことが出来た。

IFN $\gamma$ +CD8 T細胞は、以前より、細胞内に感染する微生物の感染防御に非常に重要な働きをしていることが報告されている。さらに、IFN $\gamma$ +CD8 T細胞は、がん免疫において、エフェクター細胞として働くことが知られている。そこで我々は、免疫チェックポイント阻害薬と同定した11菌株の併用効果を検証した。マウスMC38がん移植モデルを用いた実験では、11菌株投与の抗腫瘍効果は抗PD-1抗体に匹敵するものであり、かつ抗PD-1抗体と11菌株を併用投与すると抗腫瘍効果が増強することがわかった。こうした11菌株と免疫チェックポイント阻害薬の併用効果は、抗CTLA-4抗体との併用や、メラノーマのマウスモデルにおいても確認できた。今後、この11菌株を臨床応用したいと考えている。

- 1 Ivanov, I. et al. Induction of intestinal Th17 cells by segmented filamentous bacteria. *Cell* 139, 485-498, (2009).
- 2 Atarashi, K. et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous *Clostridium* species. *Science* 331, 337-341, (2011).
- 3 Atarashi, K. et al. Treg induction by a rationally selected mixture of *Clostridia* strains from the human microbiota. *Nature* 500, 232-236, (2013).
- 4 Atarashi, K. et al. Th17 Cell Induction by Adhesion of Microbes to Intestinal Epithelial Cells. *Cell* 163, 367-380, (2015).
- 5 Atarashi, K. et al. Ectopic colonization of oral bacteria in the intestine drives TH1 cell induction and inflammation. *Science* 358, 359-365, (2017).

# 免疫代謝から見るがん病態とその克服

鵜殿 平一郎

岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 免疫学分野 教授

腫瘍微小環境の病態生理に関する研究の目的は、腫瘍組織の増大と退縮のメカニズムを解明し、最終的には腫瘍を消退させる方法を開発することにある。昨今の腫瘍免疫学の進歩は、免疫を負に制御する制御性T細胞 (regulatory T cell: Treg) や骨髄由来抑制細胞 (Myeloid derived suppressor cells: MDSCs)、創傷治癒の際に免疫抑制的に作用するM2マクロファージに類似の腫瘍関連マクロファージ (Tumor-associated Macrophages: TAMs) が腫瘍内に増加し、抗腫瘍免疫応答を抑制することを明らかにしている。これらの細胞集団が腫瘍内に増加することが、免疫でがんを退縮できない原因であることは、個々の実験事実で明白である。しかし、腫瘍を攻撃するエフェクター・メモリーCD8 T細胞 (TEM) による免疫監視と、免疫を負に制御し腫瘍の増大を許してしまう免疫寛容のバランスはどのように決定されるのか、についてはほとんどわかっていない。恐らく腫瘍細胞と免疫細胞のコミュニケーションの結果に依存すると推測されるが、その実態はよくわからない。

従って、腫瘍微小環境の病態生理を理解するためには、少なくとも対峙するがん細胞と複数の免疫細胞群を同時に解析する必要がある。しかしながら、そのような研究は多くはない。いずれか一方、或いは、限られた免疫細胞集団のみにフォーカスした研究がほとんどである。がん細胞だけをみてしまうと、免疫細胞による介入を見逃してしまう。逆に、免疫細胞だけに注力すれば、がん細胞の企てる免疫逃避機構の本質的な原因がわからない。我々は、2型糖尿病治療薬メトホルミンがミトコンドリアに作用し、抗酸化ストレス応答を介して解糖系を促進し、腫瘍に浸潤した免疫細胞の性質を大幅に変化させて固形がんを退縮に導くことを見出した。これまでに得られた知見に関してご紹介したい。

# がんに対するT細胞輸注療法の臨床開発

池田 裕明

長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 腫瘍医学分野 教授

100年以上前から提唱されてきた「腫瘍に対する免疫応答」のコンセプトが近年ついに免疫チェックポイント阻害剤の臨床的成功という形で結実しつつあり、すでに多くの難治性がんの治療薬として承認されている。大きなインパクトを示しつつある免疫チェックポイント阻害療法ではあるが決して万能ではない。そこで、免疫チェックポイント阻害療法抵抗性腫瘍の治療法の一つとして、がんに対するT細胞輸注療法が期待されている。2017年には遺伝子改変T細胞の輸注療法の一つであるCAR-T療法が白血病やリンパ腫の治療薬として米国で承認された。腫瘍反応性T細胞の輸注療法は、腫瘍の進展を抑制するのみならず、場合によってはがん患者を治癒させ得る可能性さえ期待されている。

我々は、進行期の固形癌や造血器腫瘍の患者を対象にがん抗原反応性のTCR遺伝子を導入したリンパ球の輸注療法、いわゆるTCR-T療法の臨床試験、医師主導治験を多施設共同臨床試験として実施してきた。最近、NY-ESO-1抗原特異的な高親和性TCR遺伝子を導入した患者リンパ球の輸注療法の多施設共同医師主導治験において、滑膜肉腫の患者に顕著な腫瘍縮小効果を認めつつある。また、本治験では抗腫瘍効果と共にサイトカイン遊離症候群を示す症例を経験している。

さらに将来的な「Off-the-shelf製薬」としてのT細胞製薬の開発を目指しており、独自開発したベクターによって非自己のT細胞を利用可能とする技術の開発を行っている。現在、このベクターを利用して骨髄移植後再発の白血病に対して遺伝子改変T細胞を用いたドナーリンパ球輸注療法を行う医師主導治験を開始している。将来的には完全な非自己T細胞を第三者に輸注可能とする技術の開発を目指している。

また、近年有望ながん抗原として注目されるがんの遺伝子変異由来抗原、いわゆるネオアンチゲンを標的としたTCR-T療法の開発にも取り組んでいる。

本講演では我々が現在開発を進めるTCR-T療法を中心に、T細胞輸注療法について将来の展望について議論したい。

# 固形がんに対するCAR-T細胞の課題と新戦略

玉田 耕治

山口大学大学院 医学系研究科 免疫学講座 教授

近年、遺伝子改変T細胞を利用したがん治療法の開発が進んでいる。その手法として、腫瘍特異的なT細胞受容体やキメラ抗原受容体 (Chimeric Antigen Receptor: CAR) が利用されており、特にCAR-T細胞療法はB細胞性急性リンパ性白血病を始めとする造血器腫瘍に対して極めて優れた治療効果を発揮することが示された。このような血液がんを対象として、米国では2017年8月と10月にCD19 CAR-T細胞が医薬品として承認を受けた。一方で、現在のCAR-T細胞技術には克服すべき問題点も多く存在している。例えば、がん細胞に特異性の高い標的分子が必要であることやサイトカイン放出症候群の発症などである。また、CAR-T細胞療法は固形がんに対しては未だ十分な治療効果を示すことが出来ていない点も大きな課題である。我々はCAR構造にさまざまな技術改良を加えることで、固形がんに対しても有効性を示すことのできる次世代型CAR-T細胞療法の開発を推進している。本講演では我々の試みを紹介すると同時に、遺伝子改変技術を利用したがん免疫細胞療法の課題と新戦略について紹介する。



# 遺伝子改変ヒト免疫化マウスを用いた腫瘍免疫研究の展望

高橋 武司

実験動物中央研究所 動物実験研究部 免疫研究室 室長

ヒト免疫細胞の生体内での発生分化、機能解析を可能にするヒト化マウス技術は腫瘍免疫の分野においても利用されつつある。実中研では重度免疫不全NOGマウスを基に様々な遺伝子改変を行い、ヒト細胞の多様な血液系譜の分化を再現するとともに、これらのモデルが腫瘍免疫学および腫瘍免疫療法に関する治療薬開発の現場使用に耐えうるのかについて検討をしている。

従来NOGマウスを用いてヒト腫瘍を移植し、この担癌モデルに対して薬剤を投与する、あるいは細胞治療を試みるという実験が数多く行われてきた。他方、腫瘍と宿主免疫細胞の複雑な相互作用（腫瘍微小環境）の理解が腫瘍治療には不可欠であるという認識から、ヒト化マウスにおいてもよりヒトの病態に即したモデルの開発が望まれている。NOGマウスを基に作成されたヒト化マウスにおいて腫瘍微小環境の再現は乏しく、その理由の一端はヒト骨髄系細胞の分化効率の低さにあると考えられる。実中研ではヒト骨髄系細胞を誘導するために様々なヒトサイトカイン遺伝子を導入したモデルを作製している。NOG-human IL-6 (hIL-6)Tg マウスはその一系統である。NOG-hIL-6マウスではヒト造血幹細胞移植後にヒト単球・マクロファージの分化がNOGマウスに比較して亢進する。このモデルでは担癌後にヒト腫瘍局所に浸潤したヒトマクロファージがCD163を発現し、かつARG-1やIL-10を発現するなど腫瘍随伴マクロファージ(TAM)と呼ばれる細胞に類似した性質を示す。さらに、この細胞は試験管内でT細胞の分裂に対して抑制的に働くことを明らかにした。

ヒト腫瘍担癌ヒト化マウスを用いて抗PD-1やCTLA-4抗体などの免疫チェックポイント阻害剤の薬効を評価する、あるいは併用薬の開発に利用する試みも盛んである。その一方で、これらの薬の効果はNOGマウスでは必ずしも明瞭でない場合が多く、混乱をもたらしている。実中研ではこのメカニズムを明らかにするべく、新しいモデルマウスを樹立した。本マウスではNOGマウスで抗PD-1抗体による腫瘍退縮効果が認められない腫瘍細胞株に対しても、抗PD-1抗体投与により優位な腫瘍退縮効果を示すことを確認している。

本発表ではこれらのモデルを中心にヒト化マウスの腫瘍免疫研究への応用について話を予定である。