

研究報告書
令和4年度：A課題

令和6年5月16日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀田 知光 殿

研究施設 岡山大学病院

住 所 岡山県岡山市北区鹿田町 2-5-1

研究者氏名 大橋 圭明

(研究課題)

EGFR-TKI が誘導する抗腫瘍免疫を最大化させるための EGFR 肺癌と腫瘍微小環境の空間的遺伝子発現解析

令和5年4月1日付助成金交付のあった標記A課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【背景】

肺癌は癌死亡の第一位であり、その中で上皮成長因子受容体 (EGFR) 変異を有する肺癌 (EGFR 肺癌) は、非喫煙者に発生する肺癌の半数以上を占める極めて重要な疾患である。しかし、EGFR 肺癌は免疫チェックポイント阻害薬の効果が乏しいタイプであり、近年目覚ましい発展を遂げている腫瘍免疫療法の恩恵を享受できていない。第一選択治療薬である EGFR チロシンキナーゼ阻害薬 (TKI) によって、EGFR 肺癌を一過性に制御することは可能だが根治的な効果には至らない。EGFR-TKI 投与後に残存する persister 癌細胞が根治の障壁として注目されており、細胞株を用いて *in vitro* モデルで活発に研究されているが、persister 癌細胞の生存戦略としての腫瘍微小環境の相互関係について *in vivo* では評価が十分されていない。申請者は、独自に *Egfr* 遺伝子改変肺癌マウスを樹立し (Ohashi Cancer Sci 2008, Ohashi Cancer Res 2009, 特許第 5255216 号)、さらにマウス 2 型肺胞上皮から発生する肺癌を皮下移植、継代できるシンジェニックマウスモデル、*in vivo* persister 癌細胞マウスモデルを作製した (Higo Ohashi Lung Cancer 2019)。このモデルを用い第一世代 EGFR-TKI であるゲフィチニブの抗腫瘍効果に CD8⁺T 細胞による抗腫瘍免疫が介在することを発見した (Nishii, Ohashi Cancer Immunol Res 2021)。しかし抗腫瘍免疫の誘導にもかかわらず、このマウスモデルにおいても実診療と同様に EGFR-TKI では腫瘍根絶は得られないため、persister 癌細胞の腫瘍微小環境には腫瘍免疫逃避機構が存在する可能性が想起された。

【目的】

本申請課題は、独自のシンジェニック *Egfr* 肺癌マウスモデルを用い、(1) persister 癌細胞及び腫瘍微小環境を RNA シーケンスに加え空間的遺伝子発現解析を通して包括的に解析し、EGFR-TKI が誘導する抗腫瘍免疫を最大化するための治療標的の同定、および (2) *in vivo* でその治療標的の腫瘍免疫活性化効果を検証する。

【結果】

1. オシメルチニブは CD8⁺T 細胞関連した抗腫瘍免疫を誘導する
実診療における標準治療、第一選択薬である第 3 世代 EGFR-TKI のオシメルチニブによる抗腫瘍効果を評価した。シンジェニック *Egfr* 肺癌マウスモデルにおいて、オシメルチニブは *Egfr* 肺癌を縮小させるも、persister 癌細胞が残存した。免疫染色 (IHC)、フローサイトメトリー (FCM) で評価したところ、活性化マーカーである PD-1 などの発現上昇した CD8⁺T 細胞が誘導された。CD8⁺細胞を抗体で除去することでオシメルチニブの効果は減弱することも確認した。
2. オシメルチニブ投与により、CD206⁺M2-like マクロファージが増多する
EGFR-TKI の投与後 Day4, Day14 サンプルと Day0 サンプルを用いて、bulk RNA-sequencing 及び NanoString 社の GeoMX による空間発現解析を行った。CIBERSORT により疑似的に腫瘍微小環境中の免疫細胞がオシメルチニブ投与によりどのように変化するかについて検証したところ、CD8⁺T 細胞が増多する以外に、M2 マクロファージの腫瘍微小環境での増多が示唆された。IHC、FCM で確認したところ、オシメルチニブにより CD206⁺M2-like マクロファージの増多が確認された。
3. CSF-1R 阻害薬は、オシメルチニブが誘導する抗腫瘍免疫を増強する。
オシメルチニブが誘導する抗腫瘍免疫に対して M2 マクロファージが抑制的に作用している可能性を考え、CSF-1R 阻害薬の効果を検討した。CSF-1R 阻害薬単剤では、*in vivo* でも *in vitro* でも抗腫瘍効果は認めなかった。オシメルチニブと CSF-1R 阻害薬を併用すると、*in vitro* ではオシメルチニブの抗腫瘍効果は増強されなかったが、*in vivo* ではオシメルチニブの抗腫瘍効果が増強された。オシメルチニブに CSF-1R 阻害薬を併用することで、腫瘍微小環境中の M2 マクロファージが減少し、グランザイム B の増加が確認された。
以上より、CSF-1R 阻害薬は、オシメルチニブが誘導する抗腫瘍免疫を増強すると考えた。

【考察・展望】

EGFR 肺癌に対する標準治療であるオシメルチニブの効果は、癌増殖シグナルを阻害する直接的な抗腫瘍効果のみならず、CD8⁺T リンパ球が介在する抗腫瘍免疫による間接的な抗腫瘍効果も併存することがわかった。しかし、根治的な抗腫瘍効果でなく persister 癌細胞には抗腫瘍免疫から逃避する機構を有する可能性がある。今回の研究により、免疫チェックポイント阻害薬など既知の抗腫瘍免疫療法が確立していない EGFR 肺癌に対し、抗腫瘍免疫を活性化させるための新たなアプローチを基礎的に示すことができた。新規抗腫瘍免疫療法の臨床開発に繋がる基盤データとなりうる。一方で、CSF-1R 阻害薬による抗腫瘍免疫の活性化は、依然として根治的な抗腫瘍効果の増強まではならず、腫瘍免疫の最大活性化を阻害する別経路の存在が示唆される。今後マルチオミクス解析により、EGFR 肺癌の腫瘍微小環境に潜在する腫瘍免疫逃避機構を紐解き、根治的な効果が期待できる次世代抗腫瘍免疫療法に繋がる治療標的の探索を続ける予定である。

【謝辞】

公益財団法人がん研究振興財団の関係者の皆様、篤志で財団へご寄付いただいた方々へ、本研究に対して助成金の支援を下されたことに心より感謝申し上げます。ご支援いただくことができて、非常に励みになりました。社会に研究成果を還元できるように精進致します。