

## 論文の内容の要旨

論文題目 胃がんにおける腫瘍内免疫応答の解析

氏名 佐藤 靖祥

胃がん患者 31 症例の、手術検体（腫瘍組織・正常組織）と末梢血検体に対して、次世代シーケンサー解析、フローサイトメトリー解析、液性因子解析を行い、胃がんにおける腫瘍内免疫応答を多層的に解析した。

網羅的トランスクリプトームの情報から、腫瘍内免疫応答の誘導に関する、がん免疫サイクル (Cancer-Immunity Cycle) の各ステップに関わる因子と、腫瘍の代謝や増殖に関わる因子を抽出し、single sample Gene Set Enrichment Analysis (ssGSEA)を用いてスコア化した。Cancer-Immunity Cycle に関して、1. Innate immunity (自然免疫系細胞の有無)、2. Priming & activation (T 細胞のプライミング・活性化)、3. T cells (T 細胞の多寡)、4. IFN $\gamma$  response (インターフェロン  $\gamma$  放出の多寡)、5. Inhibitory cells (抑制性免疫細胞)、6. Inhibitory molecules (抑制性因子)、7. Recognition of tumor cells (T 細胞による腫瘍の認識) の 7 つの軸と、腫瘍の代謝や増殖に関する 8. Glycolysis (解糖系)、9. Proliferation (細胞増殖) の 2 つの軸を統合して、がん-免疫相互作用にも着目した 9 つの軸を持ったイムノグラムを患者個々に作成した。

さらに、イムノグラムスコア (IGS) のクラスター解析結果から、31 症例は、Innate immunity (自然免疫系細胞の有無)、Priming & activation (T 細胞のプライミング・活性化)、T cells (T 細胞の多寡)、IFN $\gamma$  response (インターフェロン  $\gamma$  放出の多寡) のスコアが高く、腫瘍内免疫応答が活性化されている“Immune Hot”と、それらのスコアが低く、腫瘍内免疫応答が抑制されている“Immune Cold”の 2 つのクラスターに大別された。

さらに、“Immune Hot” は、Recognition of tumor cells (T 細胞による腫瘍の認識)、Glycolysis (解糖系)、Proliferation (細胞増殖) のスコアがいずれも高い “hot1”、Glycolysis (解糖系) のスコアが低い “hot2”、Recognition of tumor cells (T 細胞による腫瘍の認識)、Glycolysis (解糖系)、Proliferation (細胞増殖) のスコアが低い “middle” の 3 つのクラスターに分かれた。31 症例の腫瘍内免疫応答を、最終的に “hot1”, “hot2”, “middle”, “cold” の 4 つのクラスター (IGS cluster) に分類した。

IGS cluster は従来の臨床分類とは相関を認めなかったが、腫瘍内免疫応答のそれぞれの特徴がよく反映されており、腫瘍内免疫応答の評価に有用と考えられた。

“hot1” 群は、手術予後が不良な一方で、the Cancer Genome Atlas (TCGA)での分子生物

学的分類の MSI 型が多く、ヌクレオチド変異数およびネオアンチゲン数が高値であった。こうした症例は先行研究でも免疫チェックポイント阻害薬の奏効が期待されており、周術期での免疫チェックポイント阻害薬治療などが選択肢となる可能性がある。

“hot2” 群は、手術予後が良好なだけでなく、先行研究で免疫チェックポイント阻害薬の奏効が期待される TCGA 分類の EBV 型が多く含まれていた。また、TIL(tumor infiltrating lymphocyte) の機能不全 (dysfunction) 症例が多いことから免疫チェックポイント阻害薬による機能回復の効果が期待される。一方で、抗腫瘍免疫応答の存在下での、免疫編集 (immunoediting) による免疫逃避を伴うがん細胞の選択が認められている。切除不能進行例や再発例には、immunoediting が生じる前のより早期での免疫チェックポイント阻害薬治療が選択肢となる可能性がある。

“middle” 群は、上皮間葉転換をきたした Mesenchymal 型が多く集まっていた。また cancer associated fibroblast (CAF) の発現が高く、上皮間葉転換によって CAF が増殖している可能性が考えられる。TIL は機能不全 (dysfunction) かつ浸潤排除 (exclusion) されており、免疫チェックポイント阻害薬の奏効は期待できない。CAF が産生する TGF- $\beta$  は、腫瘍内への T 細胞浸潤を妨げるバリアを形成することが知られており、TGF- $\beta$  の阻害と免疫チェックポイント阻害薬とを併用などの対策を講じる必要性を認めた。

“cold” 群は、抗原提示経路およびインターフェロン  $\gamma$  経路の loss of function (LOF) を認め、MDSC (myeloid-derived suppressor cell), TAM (tumor-associated macrophage) M2 などの抑制性分子の発現が亢進し TIL は浸潤排除 (exclusion) されている。さらに高発現の CT 抗原が免疫抑制性に作用している可能性もあり、免疫チェックポイント阻害薬は奏効が期待できない。手術予後も不良である。そのため、患者毎に Cancer-Immunity Cycle で障害されてステップを明らかにし、複数のステップを統合的に制御することが必要と考えられる。

また、“cold” 群には、適切な刺激を与えることでサイトカイン産生を増強させることが可能な症例と、TIL に細胞内  $\text{Ca}^{2+}$  濃度を直接上昇させる強力な刺激を加えてもインターフェロン  $\gamma$  を産生できない、T 細胞が完全に疲弊した症例が含まれていた。“cold” 群内での解析から、T 細胞の疲弊に、CT 抗原や B 細胞が関与している可能性が示され、またこれらの症例では immunoediting を認め、一度誘導された免疫応答が疲弊した結果と考えられた。

T 細胞が疲弊しきっているため、免疫チェックポイント阻害剤のように、T 細胞上の免疫抑制分子を介したシグナルを制御する治療だけでは、免疫応答を再活性化することは不可能である。Cancer-Immunity Cycle の上流のメカニズムに着目し、新しい抗腫瘍免疫応答

を誘導する必要がある。CT 抗原やネオアンチゲンを認識できる TCR 遺伝子やキメラ抗原受容体 (CAR, Chimeric antigen receptor) を T 細胞に遺伝子導入した TCR 遺伝子 (TCR-T) 療法や CAR-T 療法、ネオアンチゲンワクチン療法などの抗腫瘍エフェクター細胞を直接増やす治療と免疫チェックポイント阻害薬の併用療法などが選択肢となる可能性がある。

本研究では、Cancer-Immunity Cycle の各ステップに関わる因子に加え、腫瘍の代謝や増殖に関する因子を統合し、がん-免疫相互作用にも着目したイムノグラムを作成した。未評価の項目をイムノグラムの評価軸に統合し、胃がんのがん免疫の全体像を解明していくことが今後の課題である