

肺癌における免疫を介した EGFR-TKI 耐性の解明

～EGFR-TKI 耐性を克服する新しい治療選択肢に期待～

ポイント

- ・ EGFR-TKI 治療で EGFR 変異陽性肺癌細胞の CD24 発現が上昇することを発見。
- ・ EGFR-TKI で腫瘍細胞から放出される cfDNA が免疫逃避的な腫瘍微小環境を形成する可能性。
- ・ 肺癌に対する EGFR-TKI 耐性を克服する自然免疫系を標的とした新規治療開発に期待。

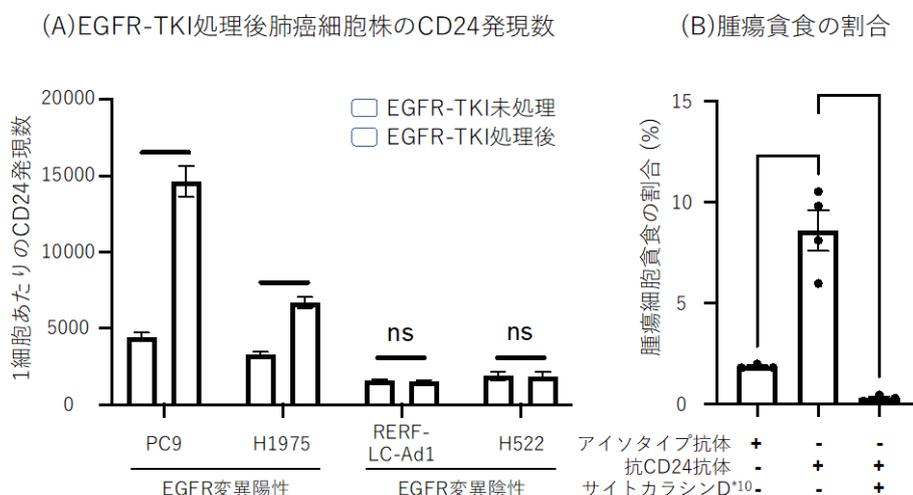
概要

北海道大学大学院医学院博士課程の椎谷研彦氏、同大学院医学研究院腫瘍内科学教室の野口卓郎助教、秋田弘俊教授（研究当時）らの研究グループは、同大学病院呼吸器内科、病理診断科などと共同研究を行い、EGFR-TKI¹ 治療が EGFR 変異陽性肺癌² において自然免疫シグナル伝達経路を介して免疫逃避的な腫瘍微小環境を形成していることを示し、EGFR 変異陽性肺癌患者において自然免疫シグナル伝達経路が治療ターゲットとなる可能性を見出しました。

EGFR 変異陽性肺癌は、EGFR-TKI 治療によって自然免疫チェックポイント³ である CD24 発現を上昇させることが分かりました。抗 CD24 抗体を用いることで、EGFR-TKI 処理した EGFR 変異陽性肺癌細胞株に対してマクロファージによる抗腫瘍免疫応答（抗体依存性細胞貪食⁴）が起きることを明らかにしました。続いて、EGFR-TKI 処理した EGFR 変異陽性肺癌細胞株は cfDNA⁵ の放出を著明に増加することを発見しました。THP-1 単球⁶ を用いて cfDNA が STING⁷ 経路依存性に IRF シグナル伝達経路⁸ を活性化し、マクロファージの CXCL9⁹ 産生能を阻害することを見出しました。

これらの結果から、EGFR 変異陽性肺癌患者の EGFR-TKI 耐性克服において CD24 や cfDNA が新規標的となることが期待されます。

なお、本研究成果は、2022 年 12 月 26 日（月）公開の Cancer Science 誌に掲載されました。



(A) EGFR-TKI 処理で、EGFR 変異陽性肺癌細胞株の細胞表面 CD24 発現が上昇した。

(B) ヒトマクロファージは、EGFR-TKI 処理した EGFR 変異陽性肺癌に対して、抗 CD24 抗体を介して抗体依存性細胞貪食を起こした。

【背景】

EGFR-TKI 治療は現在の EGFR 変異陽性肺癌に対する標準治療ですが、ほとんどの患者さんはいずれ治療が効かなくなります（治療耐性）。この治療耐性の克服のためにたくさんの研究がされていますが、EGFR-TKI 治療がどのように腫瘍微小環境を変化させ、免疫逃避に寄与するかのメカニズムはほとんど分かっていないのが現状です。

そこで研究グループは、公共データベースや腫瘍細胞株、患者さんの組織検体などを用いて、EGFR-TKI が誘導する免疫逃避の仕組みについて検討しました。

【研究手法】

肺癌細胞株の公共データベース、実験室で所持している肺癌細胞株、患者さんの組織検体を用いて、EGFR-TKI 治療前後で発現が変化する遺伝子やタンパクを網羅的に解析しました。EGFR-TKI 処理した EGFR 変異陽性肺癌細胞株とヒトマクロファージを抗 CD24 抗体存在下で共培養し、マクロファージの癌細胞に対する貪食能を検討しました。続いて、EGFR-TKI 処理した EGFR 変異陽性癌細胞から放出される cfDNA 濃度の測定、腫瘍由来 cfDNA が活性化する自然免疫シグナル伝達経路の同定と、腫瘍由来 cfDNA が抑制する腫瘍免疫応答の解析を行いました。

【研究成果】

まず、公共データベースの解析で、EGFR-TKI処理した肺癌細胞株はCD24の遺伝子発現を増強することを見出しました（図1A）。実際にEGFR変異陽性肺癌細胞株をEGFR-TKI処理し、細胞表面のCD24タンパクの発現をフローサイトメトリー法で解析したところ、未処理と比較して処理後のCD24タンパクの発現が上昇していることが分かりました（p1図A）。EGFR-TKIに治療耐性を獲得したEGFR変異陽性肺癌患者さんの組織検体を用いた検討では、6人中5人の患者さんで腫瘍細胞上のCD24の発現が治療前と比較して上昇していたことが判明しました（図1B）。EGFR-TKI処理したEGFR変異陽性肺癌細胞株と、ヒトマクロファージを抗CD24抗体存在下で共培養し、マクロファージが腫瘍細胞に対して抗CD24抗体を介した抗体依存性細胞貪食能を示すことを証明しました（p1図B）。これにより、EGFR-TKIによって腫瘍細胞に発現するCD24は、抗体を用いた治療標的となることが示されました。

続いて、EGFR 変異陽性肺癌細胞株を EGFR-TKI 処理したところ、培養上清中の cfDNA 濃度が上昇し、EGFR-TKI 処理で腫瘍細胞からの cfDNA の放出が著しく増加することが分かりました（図2A）。

さらに、THP-1 単球に腫瘍由来 cfDNA を取り込ませると STING 経路依存性に IRF シグナル伝達経路が活性化することが明らかになりました（図2B）。また、THP-1 単球由来マクロファージの CXCL9 産生能は、腫瘍由来 cfDNA により阻害されることも分かりました（図2C）。これらの結果から、EGFR-TKI で腫瘍細胞から放出される cfDNA が免疫逃避に関連する腫瘍微小環境を形成していることが示唆されました。

【今後への期待】

本研究成果によって、EGFR 変異陽性肺癌に対する EGFR-TKI 治療が、自然免疫シグナル伝達経路を介して免疫逃避的な腫瘍微小環境を形成している可能性が示唆されました。これにより今後、EGFR-TKI 治療抵抗性を獲得した EGFR 変異陽性肺癌患者さんにおいて自然免疫シグナル伝達経路をターゲットとした次世代がん免疫治療法の開発が期待されます。

論文情報

論文名 EGFR inhibition in EGFR-mutant lung cancer cells perturbs innate immune signaling pathways in the tumor microenvironment (EGFR 阻害は EGFR 変異陽性肺癌の腫瘍微小環境における自然免疫シグナル伝達経路を攪乱する)

著者名 椎谷研彦¹、野口卓郎^{2,3}、外丸詩野⁴、有賀 伸²、高島雄太⁵、大原克仁²、田口 純²、竹内 啓²、清水 康²、木下一郎^{2,6}、小泉知展³、松野吉宏⁴、品川尚文⁵、榊原 純⁵、秋田弘俊² (¹北海道大学大学院医学院、²北海道大学大学院医学研究院内科系部門内科学分野腫瘍内科学教室、³信州大学医学部血液・腫瘍内科学教室、⁴北海道大学病院病理部/病理診断科、⁵北海道大学病院呼吸器内科、⁶北海道大学病院がん遺伝子診断部)

雑誌名 Cancer Science (日本癌学会の学会雑誌)

DOI 10.1111/cas.15701

公表日 2022 年 12 月 26 日 (月) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院医学研究院 腫瘍内科学教室 助教 野口卓郎 (のぐちたくろう)

T E L 011-706-5551 F A X 011-706-5077 メール tnoguchi@pop.med.hokudai.ac.jp

U R L <http://hokudai-medicaloncology.jp/>

配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北 8 条西 5 丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

図1

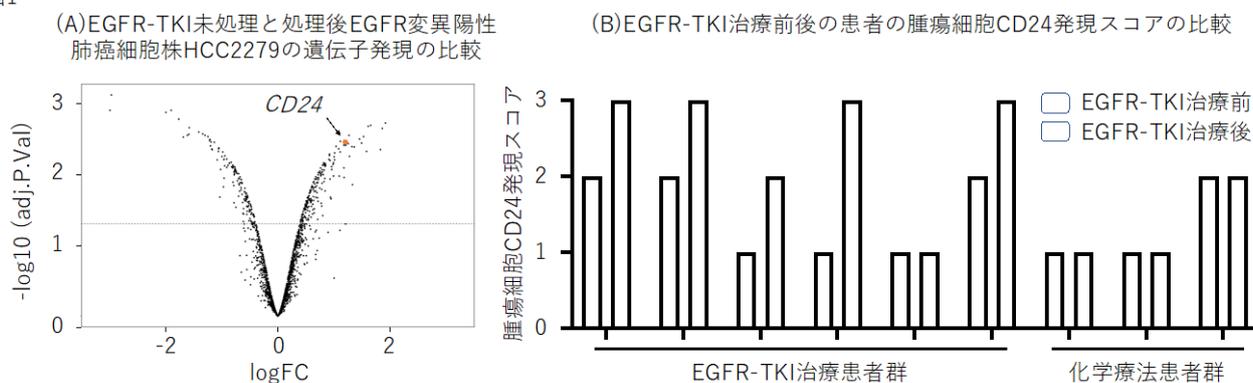
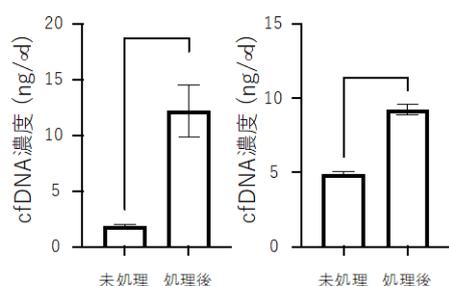


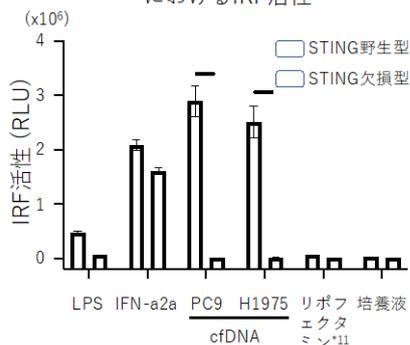
図 1. (A) EGFR-TKI 処理した腫瘍細胞は未処理と比較して統計学的に有意差をもって CD24 遺伝子発現が上昇していることを見出した。横軸は発現の比で、縦軸の点線よりも上にプロットされている点は統計学的有意に差があることを意味する。(B) EGFR-TKI 治療を行った患者組織検体の腫瘍細胞では治療前と比較して CD24 発現スコアが 6 人中 5 人で上昇していた。発現スコアが大きい程腫瘍細胞に占める CD24 発現細胞が多く、細胞毎の発現の強度が高いことを意味する。

図2

(A)EGFR-TKI処理後培養上清中のcfDNA濃度



(B)cfDNAを取り込んだTHP-1単球におけるIRF活性



(C)cfDNAを取り込んだTHP-1マクロファージのCXCL9産生能

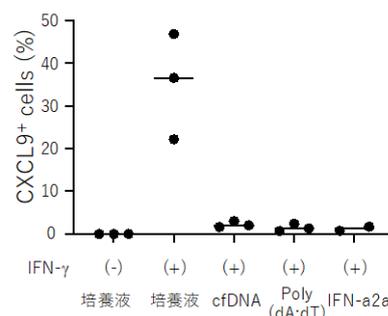


図2. (A) EGFR 変異陽性肺癌（左：PC9、右：H1975）をEGFR-TKI処理すると培養上清中のcfDNA濃度が上昇した。(B) EGFR 変異陽性肺癌由来cfDNAを取り込んだTHP-1単球は、STING経路依存性にIRFシグナル伝達経路を活性化した。LPS: リポポリサッカライド、IFN-a2a: インターフェロンアルファ。(C) EGFR 変異陽性肺癌由来cfDNAを取り込んだTHP-1マクロファージにおいて、IFN-γ刺激によるCXCL9産生が阻害された。Poly(dA:dT)は合成二本鎖DNA。

【用語解説】

- *1 EGFR-TKI … TKI (tyrosine kinase inhibitor: チロシンキナーゼ阻害剤) はEGFRのシグナル伝達に重要なチロシンキナーゼを標的として阻害する、EGFR変異陽性肺癌に対する標準治療薬。
- *2 EGFR 変異陽性肺癌 … EGFR (epidermal growth factor receptor: 上皮成長因子受容体) 遺伝子の異常を持つ肺癌。アジア人肺癌患者の30-40%がこの遺伝子変異を持つとされる。
- *3 免疫チェックポイント … 生体が持つ、免疫応答を制御する分子。腫瘍細胞は免疫系からの攻撃を回避するメカニズムの一つとして免疫チェックポイントを利用している。
- *4 抗体依存性細胞貪食 … 腫瘍細胞などの表面に発現する抗原に抗体が結合することで、免疫複合体が形成され、マクロファージなどによる細胞の貪食が起こること。
- *5 cfDNA … cell-free deoxyribonucleic acid (セルフリーDNA) の略語で、細胞外に放出される、細胞に由来したDNAのこと。
- *6 THP-1 単球 … ヒト急性単球性白血病患者から樹立された細胞株。単球、マクロファージの活性、自然免疫シグナル伝達経路の研究に広く用いられている。
- *7 STING … stimulator of interferon genes (インターフェロン遺伝子活性化因子) の略語で、DNAを検知する自然免疫シグナル伝達経路の一つ。I型インターフェロンの誘導に関わる。
- *8 IRFシグナル伝達経路 … IRF (interferon regulatory factor: インターフェロン調節因子) シグナル伝達経路は、I型インターフェロンの誘導に関わる経路の一つ。
- *9 CXCL9 … C-X-C motif ligand 9 (C-X-Cモチーフリガンド9) の略語で、腫瘍免疫においてT細胞などの腫瘍環境への遊走を促進する。IFN-γの刺激を受けたマクロファージなどから産生される。
- *10 サイトカラシンD … マクロファージの細胞貪食を阻害する試薬。
- *11 リポフェクタミン … 細胞内にDNAなどの核酸を取り込ませる試薬。