

# 子宮体がん進展ががん免疫応答を抑圧する機構の詳細説明

## Detailed Elucidation of the Mechanism by which Cancer Progression Suppresses Anti-tumor Immune Response in Uterine Cancer

国立がん研究センター研究所 細胞情報学分野 熊谷 尚悟

### 要約

PD-1/PD-L1阻害薬による固形がんに対するがん免疫療法の有効性は科学的に証明された。しかし奏効率は2割～3割程度であり、治療効果を精度高く予測するバイオマーカーが必要である。PD-1阻害治療前の固形癌患者検体を多重免疫染色にて解析したところ、制御性T細胞のPD-1高発現がPD-1/PD-L1阻害薬治療耐性につながる事が判明した。腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高い腫瘍と低い腫瘍において遺伝子発現解析を実施したところ、腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高い腫瘍で解糖系に関わる遺伝子発現が高いことが明らかになった。さらに制御性T細胞ではCD8陽性T細胞とは異なり乳酸を介した特異的なPD-1発現機構を有していることを発見した。今後、解糖系の亢進した腫瘍に対しては、乳酸代謝経路を阻害する薬剤を併用することで、PD-1/PD-L1阻害薬治療の効果を高められる可能性が期待される。子宮体癌は、子宮内膜から発生して、子宮筋層側へ進展していくことが知られている。がんの進展とゲノムの観点からの進化や抗腫瘍免疫応答との関連を解明するために子宮体癌患者検体を子宮内腔側の検体と筋層側の検体を切り分けて採取した。その結果、子宮内腔側と子宮筋層側でのエフェクターT細胞での遺伝子発現パターンに違いが生まれることが判明した。子宮体癌の進展に関わるがんゲノム異常とそれに伴う抗腫瘍免疫応答の詳細を解明することで、子宮体癌におけるがん免疫治療耐性の克服につなげていく予定である。

### 緒言

近年、免疫チェックポイント阻害剤（ICB）に代表されるがん免疫療法の進歩は、複数のがん種においてがん治療のパラダイムシフトをもたらした<sup>1,3</sup>。しかし、ICBによる治療を受けた患者の半数以上が奏効しないことから、奏効者を選別するためのバイオマーカーを定義し、より有効ながん免疫療法を開発することが必要とされている。我々は最近、TMEにおけるエフェクターT細胞と活性化Treg細胞であるエフェクターTreg（eTreg）細胞のPD-1発現バランスがPD-1遮断療法の有望な予測バイオマーカーとなることを報告した<sup>4</sup>。さらに、PD-1陽性 eTreg細胞は特定の患者においてPD-1遮断後の病勢亢進に寄与する可能性があり<sup>5</sup>、治療現場においてもエフェクターT細胞とTreg細胞のバランスが重要であることが示された。

腫瘍は主にグルコースを利用し、生存のために好氣的解糖を促進する（Warburg効果）。低グルコー

ス（高乳酸）および低酸素環境は、エフェクターT細胞の生存および機能に適しておらず、抗腫瘍免疫の衰退につながる<sup>6</sup>。それにもかかわらず、Treg細胞が過酷なTMEに豊富に浸潤し、免疫抑制機能を発揮できることを考えると、エフェクターT細胞とTreg細胞の間の異なる代謝プロファイルの関与が示唆される<sup>7</sup>。

子宮体癌は、子宮内膜から発生して、子宮筋層側、さらには子宮漿膜側へ浸潤していき、リンパ節転移や遠隔転移を起こし筋層浸潤の程度が重要な予後因子となることが知られているものの、子宮体癌のがん進展と抗腫瘍免疫応答の関連に関する詳細な機構は判明していない。本検討においては、PD-1を発現するエフェクターT細胞とTreg細胞のバランスがTMEでどのように展開されるのかを、代謝プロファイルの観点から取り上げた。さらには、子宮体癌の進展に関わるがんゲノム異常とそれに伴う抗腫瘍免疫応答の詳細を解明することで、子宮体癌における

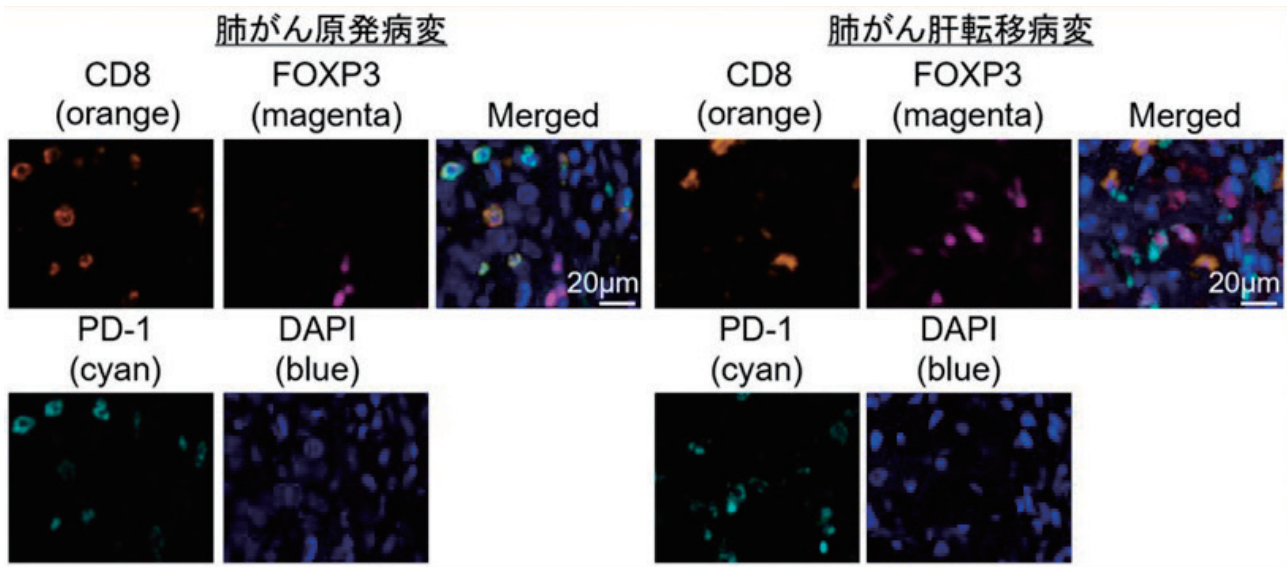


図1. 多重免疫染色を用いた原発病変と肝転移病変における免疫応答  
 肺がん原発病変と肝転移病変の検体が取得された患者を対象に多重免疫染色を実施した。  
 肝転移病変では原発病変と比較して腫瘍浸潤制御性T細胞にPD-1が高発現していた。

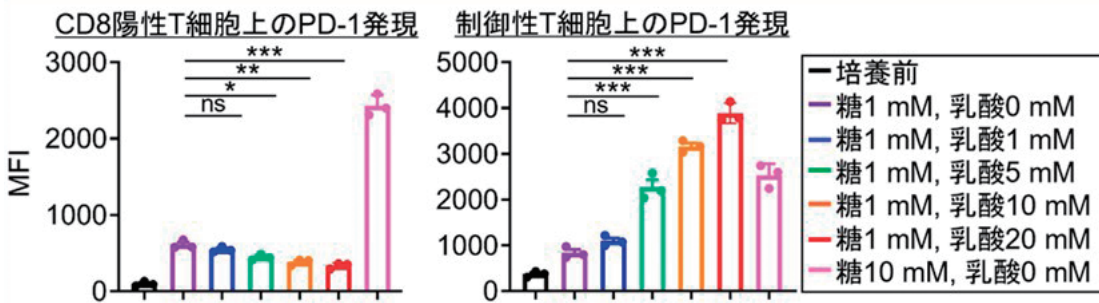


図2. 各リンパ球のPD-1発現と乳酸の関係  
 低糖環境下(1mM)で乳酸濃度を漸増させリンパ球を刺激すると、CD8陽性T細胞ではPD-1発現は低下したが、制御性T細胞ではPD-1発現が高まった。

がん免疫治療耐性の克服につなげ、新規がん免疫治療戦略を提案することを本研究の目的とした。

## 方法・結果

本研究は国立がん研究センター東病院倫理委員会にて審議され許可され実施した。外科的手術により切除された肺がんもしくは胃がん検体から腫瘍浸潤リンパ球を抽出し、フローサイトメトリーを用いて解析した。また、同時に次世代シーケンサーを用いてがん組織での遺伝子発現の網羅的解析を実施した。腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高い腫瘍と低い腫瘍とを比較したところ、腫瘍浸潤制御性T細胞のPD-1発現が高い腫瘍で解糖系に関わる遺伝子発現が高いことが明らかとなった。解糖系が高まる病態として肝転移病変が知られていることから、肺がん原発病変と肝転移病変の両方の検体を用いて多

重免疫染色を実施した。肝転移病変では原発病変と比較して制御性T細胞のPD-1発現が高く、網羅的遺伝子発現解析で得られたデータが確認された(図1)。

次に解糖系が高まっている腫瘍においてなぜ腫瘍浸潤制御性T細胞においてPD-1発現が高まるのかを検討するため、腫瘍浸潤リンパ球の網羅的遺伝子発現解析を実施して比較検討した。腫瘍浸潤PD-1陽性制御性T細胞では他のリンパ球と比較して乳酸トランスポーターであるMCT1(遺伝子名SLC16A1)の発現が高まっていることを見出し、腫瘍の解糖系の最終代謝産物である乳酸を制御性T細胞が取り込むことでPD-1発現を高めている可能性が示唆された。乳酸が制御性T細胞上のPD-1発現を誘導する機序を検討するため、低糖環境下で乳酸濃度を漸増させ様々なT細胞を刺激した(図2)。

エフェクターT細胞(CD8陽性T細胞)では低糖

## 子宮体癌の進展様式

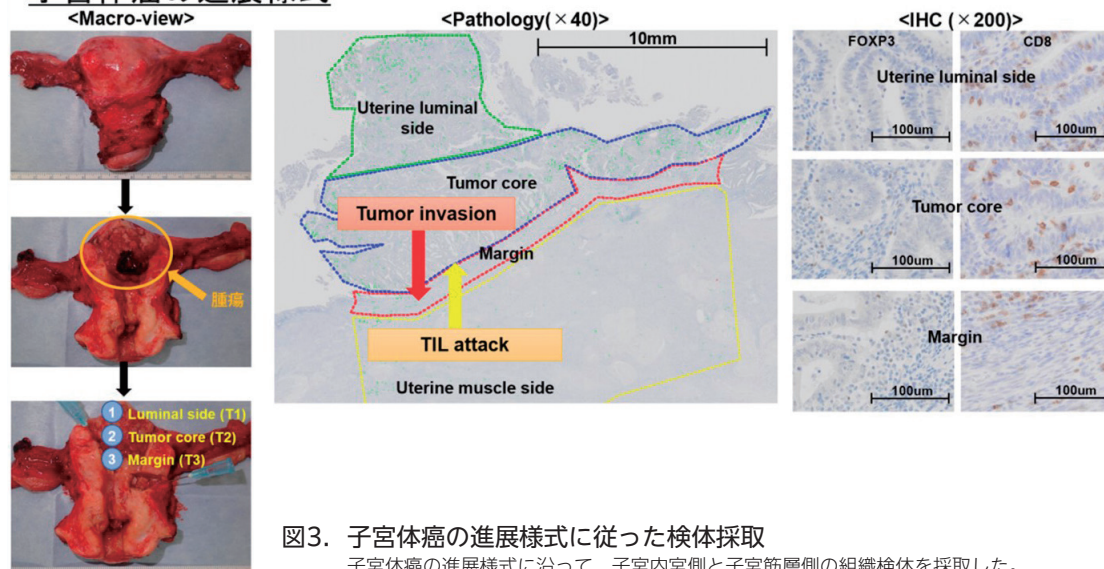


図3. 子宮体癌の進展様式に従った検体採取

子宮体癌の進展様式に沿って、子宮内宮側と子宮筋層側の組織検体を採取した。

環境下で乳酸濃度の上昇に伴いPD-1発現は低下したのに対して、制御性T細胞ではPD-1発現が高まった。つまり、制御性T細胞ではCD8陽性T細胞とは異なり乳酸を介した特異的なPD-1発現機構を有していることを発見した。さらに、肝転移病変において解糖系が亢進し乳酸濃度が高まっているかを、マウスモデルを用いて検討した。野生型マウスに皮下、胸腔内、肝臓内にマウス消化器がん細胞株であるMC38を接種した。皮下腫瘍、胸腔内腫瘍に比較して、肝臓内腫瘍ではHIF1 $\alpha$ 発現上昇を介して解糖系関連分子発現が高まり、それに伴いその他の腫瘍と比較して乳酸濃度が上昇していた。

また、肝臓内腫瘍では腫瘍浸潤エフェクターT細胞（CD8陽性T細胞）のPD-1発現は低下している一方で、制御性T細胞のPD-1発現が高まり、抗PD-1抗体治療に抵抗性を示すとともに、hyper progressionに繋がっていると考えられ、本機序の重要性が示された。

国立がん研究センター中央病院、東病院にて進行胃がんもしくは肺がんがあり、抗PD-1抗体治療を受けた患者さんのデータを後方視的に解析したところ、肝転移病変があると抗PD-1抗体治療の無増悪生存期間が有意に短くなることが示された。肝臓にMC38腫瘍を接種したマウスにMCT1阻害薬を投与したところ、腫瘍浸潤エフェクターT細胞（CD8陽性T細胞）のPD-1発現は上昇する一方で、制御性T細胞のPD-1発現は減弱した。MCT1阻害薬を抗PD-1抗体と併用することで、肝臓腫瘍において抗PD-1抗体治

療に対する抵抗性を改善でき、新たな治療標的として臨床開発につながる可能性が示唆された。

CD8陽性T細胞とeTregは依存する代謝経路に大きな違いがあり、前者は解糖系、後者は酸化リン酸化に依存していることが知られている。我々はこれまで、臨床検体を解析し、がん遺伝子変異が代謝経路を介して抗腫瘍免疫応答を編集していることを証明した<sup>8</sup>。がんは同一腫瘍内でもゲノムの観点から進化し、不均一性を生み出すことが知られている<sup>9</sup>。子宮体癌は、子宮内膜から発生して、子宮筋層側へ進展していくことが知られている。がんの進展とゲノムの観点からの進化や抗腫瘍免疫応答との関連を解明するために図3のように子宮体癌患者検体を子宮内腔側の検体と筋層側の検体を切り分けて採取した。

採取した腫瘍検体から、腫瘍浸潤リンパ球を抽出し、シングルセルRNAシーケンズを実施した(図4)。

その結果、子宮内腔側と子宮筋層側でのエフェクターT細胞での遺伝子発現パターンに違いが生まれることが判明した。

## 考察

解糖系の亢進した腫瘍は、グルコースを奪い、PD-1の発現とTreg細胞の抑制活性を増強する乳酸を過剰に放出し、これがPD-1遮断療法の効果が上がらない一因となっている。このようなTreg細胞特有の代謝チェックポイントを介した乳酸による活発な免疫抑制機構は、がん免疫療法として乳酸に対する分子

## 子宮体癌における免疫応答検討

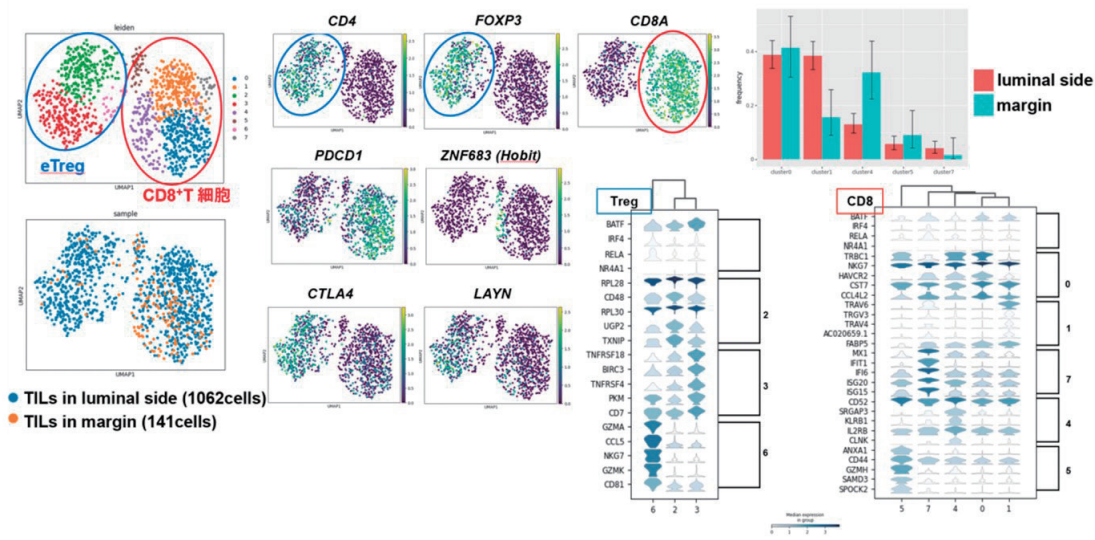


図4. 子宮体癌浸潤リンパ球のシングルセル解析

がんが進展するに従い、どのようにして免疫応答を抑圧していくかの機構と抑圧された免疫フェノタイプの運命を決定づける因子を同定する。

標的治療法を開発するための新しい窓を開くものである。さらには、子宮体癌の進展に関わるがんゲノム異常とそれに伴う抗腫瘍免疫応答の詳細を解明することで、子宮体癌におけるがん免疫治療耐性の克服につなげ、新規がん免疫治療戦略を提案するべく、検討を継続する所存である。

### 論文発表

Kumagai S, Koyama S, Itahashi K, Tanegashima T, Lin Y, Togashi Y, Kamada T, Irie T, Okumura G, Kono H, Ito D, Fujii R, Watanabe S, Sai A, Fukuoka S, Sugiyama E, Watanabe G, Owari T, Nishinakamura H, Sugiyama D, Maeda Y, Kawazoe A, Yukami H, Chida K, Ohara Y, Yoshida T, Shinno Y, Takeyasu Y, Shirasawa M, Nakama K, Aokage K, Suzuki J, Ishii G, Kuwata T, Sakamoto N, Kawazu M, Ueno T, Mori T, Yamazaki N, Tsuboi M, Yatabe Y, Kinoshita T, Doi T, Shitara K, Mano H and Nishikawa H. Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments. *Cancer cell* (2022);40(2):201-218.

### 参考文献

1 Dong H, Strome SE, Salomao DR et al. Tumor-associated

B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* 2002; 8 (8): 793-800.

- Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012; 12 (4): 252-264.
- Zou W, Wolchok JD, Chen L. PD-L1 (B7-H1) and PD-1 pathway blockade for cancer therapy: Mechanisms, response biomarkers, and combinations. *Sci Transl Med* 2016; 8 (328): 328rv324.
- Kumagai S, Togashi Y, Kamada T et al. The PD-1 expression balance between effector and regulatory T cells predicts the clinical efficacy of PD-1 blockade therapies. *Nat Immunol* 2020; 21 (11): 1346-1358.
- Kamada T, Togashi Y, Tay C et al. PD-1(+) regulatory T cells amplified by PD-1 blockade promote hyperprogression of cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2019; 116 (20): 9999-10008.
- Brand A, Singer K, Koehl GE et al. LDHA-Associated Lactic Acid Production Blunts Tumor Immunosurveillance by T and NK Cells. *Cell Metab* 2016; 24 (5): 657-671.
- Angelin A, Gil-de-Gómez L, Dahiya S et al. Foxp3 Reprograms T Cell Metabolism to Function in Low-Glucose, High-Lactate Environments. *Cell Metab* 2017; 25 (6): 1282-1293.e1287.
- Kumagai S, Togashi Y, Sakai C et al. An Oncogenic Alteration Creates a Microenvironment that Promotes Tumor Progression by Conferring a Metabolic Advantage to Regulatory T Cells. *Immunity* 2020; 53 (1): 187-203.e188.
- Black JRM, McGranahan N. Genetic and non-genetic clonal diversity in cancer evolution. *Nat Rev Cancer* 2021; 21 (6): 379-392.

**Abstract**

The efficacy of cancer immunotherapy with PD-1/PD-L1 inhibitors for solid tumors has been scientifically proven. However, the response rate is only about 20-30%, and a biomarker to accurately predict the therapeutic response is needed. Gene expression analysis of tumors with high and low PD-1 expression of regulatory T cells revealed that the expression of genes related to the glycolytic system was higher in tumors with high PD-1 expression of regulatory T cells. Furthermore, we found that regulatory T cells, unlike CD8-positive T cells, have a specific PD-1 expression mechanism mediated by lactate. In the future, it is expected that the efficacy of PD-1/PD-L1 inhibitor therapy may be enhanced by the combination of drugs that inhibit the lactate metabolic pathway for tumors with an enhanced glycolytic system. Uterine cancer is known to originate from the endometrium and progress toward the myometrium. To elucidate the relationship between cancer progression and evolution in terms of genome and anti-tumor immune response, uterine cancer patient specimens were collected by separating specimens from the endometrial side and the myometrial side. As a result, differences in gene expression patterns in effector T cells on the endometrial side and myometrial side were detected. By elucidating the details of the cancer genome abnormalities involved in the progression of uterine cancer and the associated anti-tumor immune response, we plan to overcome cancer immunotherapy resistance in uterine cancer.