

## 光とがん免疫で相乗効果を発揮して癌を治療 ～免疫チェックポイントを標的とした腫瘍微小環境の改変と がん免疫を応用した近赤外光線免疫療法の開発～

国立大学法人東海国立大学機構名古屋大学大学院医学系研究科呼吸器内科学博士課程 4 年(現、愛知県厚生農業協同組合連合会 江南厚生病院 呼吸器内科)の滝 俊一 大学院生(筆頭著者)、同大高等研究院・JST 創発的研究支援事業採択研究者(創発 1 期生)・JST 科学技術人材育成のコンソーシアムの構築事業 次世代研究者育成プログラム対象研究者・最先端イメージング分析センター/医工連携ユニット 907 プロジェクト ユニット長(B3 ユニット:若手新分野創成研究ユニット、文部科学省研究大学強化促進事業)・同大呼吸器内科学の佐藤 和秀 S-YLC 特任助教(責任著者)らの研究グループは、免疫チェックポイント分子 PD-L1 をターゲットとし、癌免疫により効果を高めた近赤外光線免疫療法の応用開発に成功しました。

免疫チェックポイント分子である PD-1 のリガンドである PD-L1 は、様々な固形癌で検出され、PD-1/PD-L1 をターゲットとした免疫チェックポイント阻害薬は、様々な臓器の癌において有効性が示されています。また、腫瘍の PD-L1 の発現量が少なくても(TPS (Tumor Proportion Score)が $\geq 1\%$ )、1次治療として利用でき、一定の効果があることが知られています。しかしながらその効果は充分ではなく、免疫チェックポイント阻害薬の効果を増強できる技術開発が求められています。

近赤外光免疫療法は、2011年に米国の国立衛生研究所・国立がん研究所(NCI/NIH)の小林久隆博士らによって報告された新しい癌治療法です。癌細胞が発現するタンパク質を特異的に認識する抗体と光感受性物質 IR700 の複合体を合成し、細胞表面の標的タンパク質に結合させた状態で 690nm 付近の近赤外光を照射すると、癌細胞が破壊されます。第5のがん治療として、期待される新規治療技術であり、2020年9月に世界に先駆けて日本で EGFR を高発現する再発既治療頭頸部がんに限定承認を受けて保険収載されています。今後の適応拡大にむけて、新規の標的を考慮する必要性があり、特にがん免疫療法との組み合わせは理想的であると考えられています。

本研究ではマウス抗 PD-L1 抗体を F(ab')<sub>2</sub> 化したものと IR700 の複合体を合成し、細胞実験と動物実験において PD-L1 を標的として、腫瘍への近赤外光線免疫療法の効果を証明しました。PD-L1 発現は人の場合と同様にマウス腫瘍でも限定的であるにも関わらず、癌免疫を活性化することで十分な抗腫瘍効果がえられました。また転移部の腫瘍にも一定の効果が得られることがわかりました(光アブスコパル効果)。本治療は、がん特異抗原の高発現を応用した近赤外光線免疫療法の適応が受けられない患者さんへの代替治療としての近赤外光線免疫療法の提案として臨床現場で将来的に使用できると期待されます。

本研究は、JST 科学技術人材育成費補助事業「科学技術人材育成のコンソーシアムの構築事業:若手研究者スタートアップ研究費」、文部科学省研究大学強化促進事業、日本学術振興会科研費(18K15923, 21K07217)、AMED 令和 3 年度橋渡し研究戦略的推進プログラム、JST の創発的研究(FOREST)・CREST 細胞外微粒子領域、公益財団法人上原記念生命科学財団 2019 年度研究奨励金、第 51 回高松宮妃癌研究基金研究助成金、公益財団法人武田科学振興財団 2020 年医学系研究継続助成(がん領域)等のサポートを受けて実施され、BMJ publishing Group(英国)から発行されている科学誌「*Journal for Immunotherapy of Cancer*」(2021 年 11 月 1 日付電子版)に掲載されました。

## ポイント

○免疫チェックポイント分子 PD-L1 を標的とした近赤外光線免疫療法の評価・開発に成功し、PD-L1 をターゲットとした近赤外光線免疫療法の効果が、PD-L1 の発現量が限定的であるのにも関わらず、がん免疫を介して相乗的に多大な抗腫瘍効果を発揮することを明らかにしました。また、光照射をしていない転移腫瘍にも、がん免疫を介して抗腫瘍効果を発揮することを見いだしました。

○PD-L1 を標的とした近赤外光線免疫療法は、光によるがん細胞破壊による抗腫瘍免疫と、免疫チェックポイント分子による腫瘍免疫の活性化、がん微小環境の改変により、相乗的に抗腫瘍免疫を活性化していることを明らかにしました。

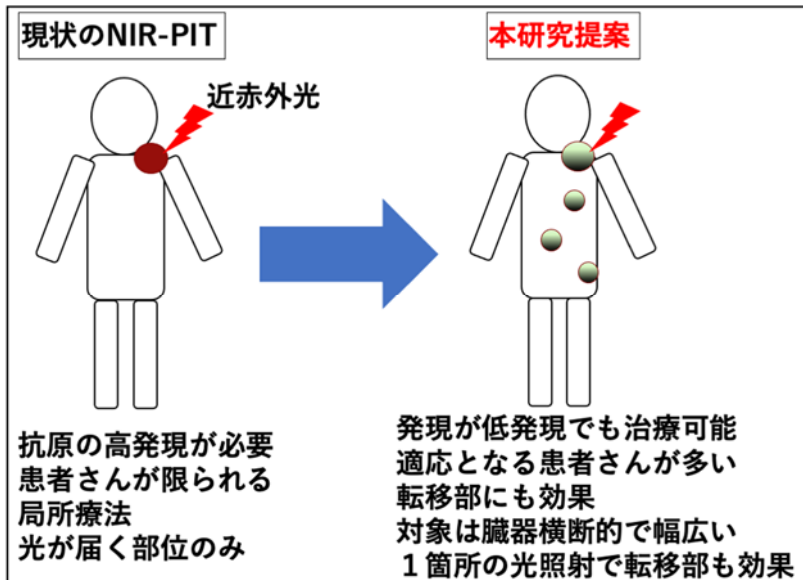
○本研究は、がん特異抗原の高発現を応用した近赤外光線免疫療法の適応が受けられない患者さんへの代替治療としての近赤外光線免疫療法の提案で、PD-L1 を標的とした近赤外光線免疫療法を人へ応用する際、基礎的知見として貢献することが期待されます。

## 1. 背景

免疫チェックポイント蛋白である PD-1 のリガンドである PD-L1 は、様々な固形癌で検出されます。PD-L1 は、腫瘍細胞膜に存在し、CD8(+)T 細胞の免疫反応を弱め、免疫監視からの回避に働きます。PD-1/PD-L1 をターゲットとした免疫チェックポイント阻害薬は、現在様々な臓器の癌において有効性が示されています。また、腫瘍の PD-L1 の発現量が少なくとも(TPS(Tumor Proportion Score)が $\geq 1\%$ )、1次治療として利用でき、一定の効果があることが知られています。しかしながらその効果は充分ではなく、免疫チェックポイント阻害薬の効果を増強できる技術開発が求められています。

近赤外光免疫療法は、2011 年に米国国立衛生研究所・国立がん研究所(NCI/NIH)の小林久隆博士らによって開発された新しい癌治療法です。癌細胞が発現するタンパク質を特異的に認識する抗体と光感受性物質 IR700 の複合体を合成し、細胞表面の標的タンパク質に結合させた状態で 690nm 付近の近赤外光を照射すると、細胞が破壊されます。これらの細胞死機序は、本リリース責任著者の佐藤らによって、光化学反応をもとにした新概念の細胞死であることが 2018 年に明らかにされています(Sato K, et.al. ACS Cent Sci. 2018 Nov 28;4(11):1559-1569. doi: 10.1021/acscentsci.8b00565.)。これまでと異なる方法でがん細胞を標的破壊できることから、手術・放射線・化学療法・がん免疫療法につづく、“第5のがん治療”として期待されており、世界に先駆けて日本で 2020 年 9 月に EGFR を高発現する再発既治療頭頸部がんに対して、PMDA の先駆け申請制度により早期限定承認をうけて保険収載されています。

しかしながら、本承認も含め、これまでの近赤外光線免疫療法にはがん細胞に高発現する目印となるがん標的抗原が必要で、適応となる患者さんが限られてしまう問題点がありました。幅広くこの革新的な光標的がん治療を患者さんにお届けして一般的な標準治療として使われるようにする必要があります。そこで、その問題点を解消し、高発現ではないが幅広くがんに低度～中程度発現する免疫チェックポイント分子である PD-L1 に注目し、癌免疫を応用した近赤外光線免疫療法の開発を企図しました。また、本治療方法は相乗的にがん免疫チェックポイント阻害剤の効果を高める効果もあることがわかりました(図 1)。



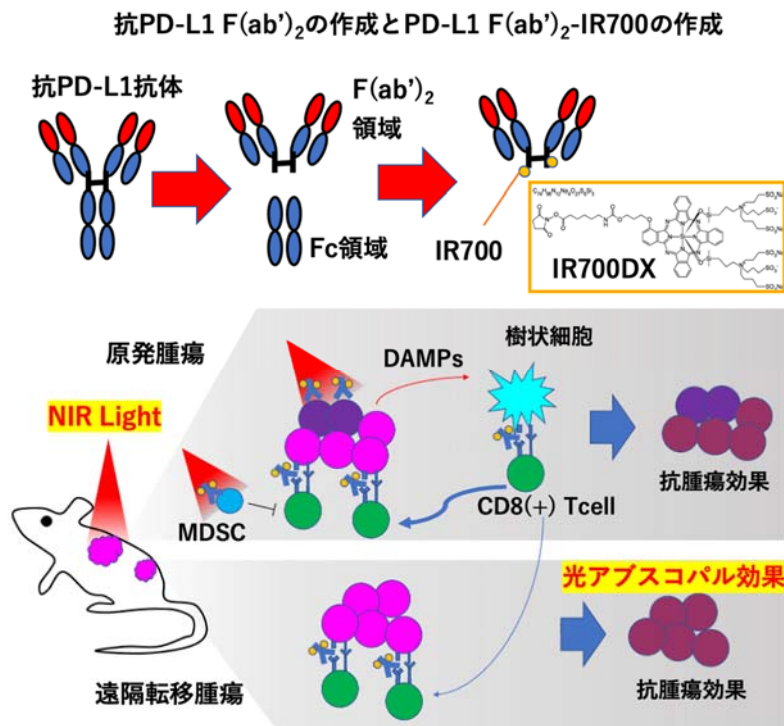
(図 1) 本研究のねらい

## 2. 研究成果

抗マウス PD-L1 抗体を  $F(ab')_2$  化し (PD-L1  $F(ab')_2$ )、PD-L1  $F(ab')_2$  と光感受物質 IR700 の複合体を合成し、PD-L1  $F(ab')_2$ -IR700 を作成しました。  $F(ab')_2$  化することで、PD-L1 抗体の非特異的な結合がなくなり、全身性の副作用が減少すると考えられます。また、IgG よりサイズが小さく腫瘍浸透性が高いと予想されます。PD-L1  $F(ab')_2$ -IR700 を用い、マウス同種腫瘍細胞 (肺癌、大腸がん、前立腺がん、メラノーマ) に対する近赤外光線免疫療法を検討しました。人に現在認可されている EGFR の腫瘍の発現に比べると PD-L1 の発現は 1/100 以下と低発現でした。本治療は、癌の細胞膜表面の癌抗原の発現量に効果が依存することがわかっており、細胞実験では PD-L1 を標的とした近赤外光線療法の効果は EGFR 高発現の腫瘍を対象とした場合に比べて限定的であり、細胞を破壊するにはより強力な光エネルギーが必要でした。光エネルギーを充分に与えれば、細胞実験でも近赤外光線免疫療法による細胞破碎効果が見られました。以上から、細胞実験では PD-L1 を標的とした近赤外光線療法の効果は限定的で、治療応用に適していないと考えられました。

しかしながら、マウス同種移植腫瘍モデルで PD-L1  $F(ab')_2$ -IR700 を用いて単回の近赤外光線免疫療法の効果を検討したところ、細胞実験の効果からは予想できなかった、有意で多大な腫瘍の増大抑制と生存の延長が示されました。さらには、マウス同種移植腫瘍の転移モデルにて、1箇所の腫瘍に対してのみ近赤外光線を照射したところ、照射した腫瘍のみならず、近赤外光線を照射しなかった腫瘍においても腫瘍の増大抑制が得られ、生存期間が有意に延長しました。

上記、細胞実験とマウス腫瘍での治療効果の矛盾を解明するために、抗腫瘍免疫の解析を引き続き行いました。抗腫瘍免疫のキープレイヤーである、CD8(+)T 細胞や NK 細胞が腫瘍内部で活性化していることが確認されました。また腫瘍微小環境を詳細に解析したところ、骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) が減少していることを見出しました。近赤外光線免疫療法による部分的な腫瘍壊死と、PD-L1  $F(ab')_2$  の免疫チェックポイント効果、MDSC を癌微小環境から除去する微小環境改変効果が相乗的に作用し、抗腫瘍免疫を活性化し顕著な抗腫瘍効果を及ぼすことを明らかにしました。また、マウスの血液を解析したところ、全身性に抗腫瘍免疫が増強していることが示唆されました。この全身での抗腫瘍免疫活性化が近赤外光線免疫療法を行っていない、光照射をしていない腫瘍にも効果を及ぼしたと考えられました (アブスコパル効果) (図 2)。



(図 2)PD-L1 F(ab')<sub>2</sub>の作成と、腫瘍への近赤外線光免疫療法応用開発と機序

### 3. 今後の展開

PD-L1 を標的とする近赤外光線免疫療法は限定的な発現でも充分な抗腫瘍効果を発揮することが明らかとなりました。また PD-L1 を標的とした近赤外光線免疫療法は、近赤外光線照射部位のみならず、転移腫瘍にも抗腫瘍効果があることが示されました。本研究結果は、従来の高発現の標的分子を対象とした近赤外光線免疫療法とは概念の異なる、がん免疫を応用した近赤外光線免疫療法と考えられ、適切な特異的がん抗原が高発現していない患者さんでも近赤外光線免疫療法の適応となりうることを示しています。このように、がん患者さんに本治療技術の適応を広げることが可能と考えられ、PD-L1 抗体はすでに臨床認可されていることから本治療方法は臨床応用が容易と考えられます。

本治療は、がん特異抗原の高発現を応用した近赤外光線免疫療法の適応が受けられない患者さんへの代替治療としての近赤外光線免疫療法の提案として臨床現場で将来的に使用できると期待されます。本研究は、PD-L1 を標的とした近赤外光線免疫療法を人の悪性腫瘍へ実装する際に、基礎的知見として貢献すると考えられます。

### 4. 用語説明

※IR700: ケイ素フタロシアニン骨格を持った、水溶性の光感受性物質。690nm 付近の波長の光を吸収し、700nm の蛍光を発する。

※ 免疫チェックポイント:免疫系の制御因子で、免疫系が無差別に細胞を攻撃することを防ぐ自己寛容をもたらす。抑制性免疫チェックポイント分子は、癌免疫療法のターゲットとなっている。

※Tumor Proportion Score: 総腫瘍細胞数に対する PD-L1 陽性腫瘍細胞数の割合

※骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC): 強力な免疫抑制作用を持つ、未熟な骨髄由来細胞。

※アブスコパル効果:悪性腫瘍に対する放射線治療において、照射部位以外の腫瘍の縮小を認める現象。

## 5. 発表雑誌

掲雑誌名: Journal for ImmunoTherapy of Cancer

論文タイトル: Spatiotemporal depletion of tumor-associated immune checkpoint PD-L1 with near-infrared photoimmunotherapy promotes antitumor immunity

著者: Shunichi Taki<sup>1#</sup>, Kohei Matsuoka<sup>2</sup>, Yuko Nishinaga<sup>1</sup>, Kazuomi Takahashi<sup>1</sup>, Hirotohi Yasui<sup>1</sup>, Chiaki Koike<sup>3</sup>, Misae Shimizu<sup>3</sup>, Mitsuo Sato<sup>2</sup>, Kazuhide Sato<sup>1,3,4,5,6#\*</sup>

所属: <sup>1</sup> Respiratory Medicine, Nagoya University Graduate School of Medicine

<sup>2</sup> Department of Integrated Health Sciences, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

<sup>3</sup> Nagoya University Institute for Advanced Research, Advanced Analytical and Diagnostic Imaging Center (AADIC) / Medical Engineering Unit (MEU), B3 Unit

<sup>4</sup> Nagoya University Institute of Nano-Life-Systems, Institutes of Innovation for Future Society

<sup>5</sup> FOREST-Souhatsu, CREST, JST

<sup>6</sup> Nagoya University Institute for Advanced Research, S-YLC

# These authors contributed equally

DOI: 10.1136/jitc-2021-003036

English ver.

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Jou\\_Imm\\_Can\\_211101en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Jou_Imm_Can_211101en.pdf)