

1. 所属

公益財団法人がん研究会 がんプレジジョン医療研究センター 分子免疫研究部 熊谷尚悟

2. 応募の研究課題名

理論物理学的モデルに基づく個別化がん免疫療法の社会実装に向けた研究

3. 研究の背景

がんは、遺伝子変異や遺伝子増幅などのゲノム異常、胚性タンパク質の再発現、ならびにさまざまな要因によるエピジェネティックな変化が複合的に蓄積することによって発生する。さらに、がん細胞は腫瘍の発生、進行、転移、治療抵抗性獲得の過程を通じて継続的に進化する。がん進化を駆動する要因としては、遺伝子異常の蓄積に加え、特定の環境下で生存に有利なクローンが選択される過程が重要である。がん細胞は腫瘍生態系を構成する一要素であり、他の悪性クローンとの競合や、腫瘍浸潤免疫細胞を含む多様な非悪性細胞との相互作用を介して選択される。例えば、EGFR 遺伝子変異を有する非小細胞肺癌のように、強力な発がんドライバー遺伝子の異常を有するがんでは、遺伝子変異量が比較的少ない一方で、CD8 陽性 T 細胞などの抗腫瘍免疫細胞を抑制し、制御性 T 細胞や免疫抑制性骨髄系細胞を活性化する複数の免疫抑制機構が形成される。このような免疫抑制機構を獲得することで、がん細胞は免疫監視を回避して進展する (Kumagai S et al. *Immunity* 2020; *Nat Rev Cancer* 2021)。これらのがんは、しばしば免疫細胞の浸潤に乏しい非炎症性腫瘍微小環境を呈する。以上から、がんではゲノム進化と免疫学的進化が相互に影響しながら同時進行し、その結果として免疫逃避と治療抵抗性が形成され则认为られる。一方、がん進化の主要なドライバーを標的とする分子標的薬は、がん細胞の生存・増殖を直接阻害するだけでなく、がん細胞を中心に形成された免疫抑制ネットワークを破壊させる可能性がある。これらの知見に基づき、申請者らは、ヒト腫瘍形成におけるゲノム進化と免疫学的進化を統合的に捉える「immuno-genomic cancer evolution」という概念と、それを治療に応用する「immuno-genomic precision medicine」という戦略を提唱してきた (Kumagai S et al. *Nat Rev Clin Oncol* 2024; *Sci Immunol* 2025)。また、工学研究者および企業研究者との共同研究により、がん生検検体などの微小組織から免疫細胞を生存状態のまま単一細胞として分離する技術を開発した。本技術はベクトン・ディッキンソン社からグローバルに実用化されている (Kumagai S et al. *Nat Immunol* 2020; *Cancer Cell* 2022)。さらに、この技術を用いて、抗 PD-1 抗体治療を受けた固形がん患者の腫瘍浸潤リンパ球をフローサイトメトリーで解析し、得られた多次元パラメーターを用いた AI 解析を行った。その結果、治療効果を予測する重要な因子として制御性 T 細胞上の PD-1 発現を同定し、動物モデルを用いて、その分子・細胞機構を明らかにした (Kumagai S et al. *Nat Immunol* 2020)。腫瘍局所においてがん細胞が形成する免疫抑制システムを打破する

手段の一つとして、放射線治療が挙げられる。申請者らは、放射線化学療法後に抗 PD-L1 抗体を逐次投与された固形がん患者の検体を解析し、上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition : EMT) を呈する症例では、治療介入によって IL-1 β を介した免疫抑制性細胞の機能が增強し、治療抵抗性が誘導されることを見いだした (Bando H*, Kumagai S* et al., contributed equally, *Nat Cancer* 2025)。さらに、治療前後の患者腫瘍検体を用いた網羅的遺伝子発現解析から、放射線化学療法は腫瘍細胞を死滅させるだけでなく、腫瘍内におけるインターフェロン応答を增強することが明らかになった。一方、多重免疫染色による解析では、治療後に腫瘍浸潤 CD8 陽性 T 細胞が障害され、減少する傾向が認められた。すなわち、従来の放射線治療には、腫瘍細胞のみならず、腫瘍浸潤リンパ球や周囲の正常組織も照射されるという課題がある。そこで申請者らは、腫瘍浸潤リンパ球への障害を抑えながら腫瘍細胞を選択的に傷害し、抗腫瘍免疫応答を賦活化する手法として、ホウ素中性子捕捉療法 (boron neutron capture therapy : BNCT) に着目した。BNCT では、がん細胞に選択的に取り込ませたホウ素 10 (^{10}B) に熱外中性子を照射し、核反応によって生じる α 粒子およびリチウム原子核によりがん細胞を破壊する。これらの粒子は細胞 1 個程度の極めて短い飛程と高い線エネルギー付与を有する。したがって、ホウ素薬剤をがん細胞に選択的に集積させることができれば、BNCT は周囲の腫瘍浸潤リンパ球への影響を抑制しながらがん細胞を傷害し、抗腫瘍免疫応答を誘導できる可能性がある。本研究では、この BNCT の特性をがん免疫療法と統合し、さらに臨床検体から得られる多層的データを理論物理学的・数理科学的手法によって解析することで、個々の患者に最適化された治療戦略を構築することを目指した。

4. 研究の目的

免疫チェックポイント分子 PD-1 は本邦の本庶佑博士らにより発見され、その成果は免疫チェックポイント阻害薬 (immune checkpoint inhibitor : ICI) の開発へとつながった。ICI は複数のがん種に適応が拡大され、一部の進行がん患者に長期生存をもたらしている。一方、ICI 単剤が有効な患者は限定されており、治療効果を予測するバイオマーカーの同定と、治療抵抗性を克服する新たな併用療法の開発が必要である。申請者らはこれまで、各種がんの治験検体を含む臨床検体を収集・解析し、がんの遺伝子異常が腫瘍微小環境を再構築して抗腫瘍免疫応答を抑制する機構を明らかにしてきた (Kumagai S et al. *Cancer Cell* 2022; *Immunity* 2020; *Nat Immunol* 2020)。また、一般的な放射線治療では、腫瘍細胞とともに腫瘍浸潤免疫細胞や周囲の正常細胞も照射されるため、治療後の抗腫瘍免疫応答が十分に維持されない可能性を示してきた (Bando H*, Kumagai S* et al., contributed equally, *Nat Cancer* 2025)。これに対し、BNCT は、がん細胞に集積した ^{10}B と中性子との核反応を利用して、細胞レベルの範囲で高い殺細胞効果を発揮する治療法である。そのため、ホウ素薬剤をがん細胞に選択的に集積させることができれば、腫瘍浸潤リンパ球を温存しつつ、がん細胞を選択的に傷害できる可能性がある。BNCT は、局所腫

瘍制御と抗腫瘍免疫賦活化を両立し得る治療法として、ICI や CAR-T 細胞療法との併用に適した特性を有すると考えられる。

本研究の目的は、以下の 3 点である。

「BNCT とがん免疫療法の併用効果を前臨床モデルで検証すること」

「BNCT を受けた患者の臨床検体を多層的に解析し、治療効果および免疫賦活化を予測するバイオマーカーを同定すること」

「臨床情報、ゲノム・トランスクリプトーム・単一細胞・空間解析データを統合し、理論物理学的・数理科学的モデルに基づく個別化治療予測法を構築すること」

これらを通じて、各患者の腫瘍細胞および免疫微小環境の状態に応じて、BNCT 単独、BNCT と ICI との併用、または BNCT と細胞療法との併用を選択する個別化 BNCT 併用がん免疫療法の確立を目指す。国際がん研究機関による 2022 年の推計では、世界のがん新規罹患患者数は約 2,000 万人、がん死亡者数は約 970 万人に上る。がんの根治率を高め、進行がん患者が長期生存を期待できる社会を実現することは、全人類に共通する重要な課題である。本邦が先導してきた BNCT とがん免疫療法を統合し、さらに患者ごとの治療効果を予測する数理モデルを構築する本研究は、国際的にも先進性の高い取り組みである。

5. 方法と結果

5-1. BNCT 併用 CAR-T 細胞療法モデルの構築

中枢神経病変において抗腫瘍効果を増強することを独自に見出した遺伝子 X を導入し、EGFRvIII を標的とする CAR-T 細胞を作製した。次に、EGFRvIII を遺伝子導入した膠芽腫細胞株をマウス脳内に移植し、EGFRvIII-CAR-T 細胞を投与した後に BNCT を施行する、BNCT 併用 CAR-T 細胞療法モデルを構築した。本モデルを用いて、マウスに対する BNCT 照射線量の最適化を行うとともに、各臓器、腫瘍組織および腫瘍浸潤 CAR-T 細胞への照射の影響を検証した。その結果を踏まえ、CAR-T 細胞が BNCT による影響を受ける条件を想定し、BNCT に対する耐性と治療後の生存・メモリー形成能を備えた CAR-T 細胞の探索を開始した。具体的には、Cas9 発現マウスから採取したリンパ球に EGFRvIII-CAR および sgRNA ライブラリを導入し、in vitro で BNCT 条件に曝露した後、生存し、かつメモリー形質を獲得した CAR-T 細胞を選別した。現在、濃縮された sgRNA を解析し、BNCT との併用に適したさらなる CAR-T 細胞の遺伝子改変候補を探索している。

5-2. BNCT 患者検体を用いた多層的解析

BNCT を受けた患者の腫瘍および血液検体を収集し、腫瘍組織のエクソーム解析および RNA シークエンス、腫瘍・血液検体のシングルセル RNA シークエンス、ならびに腫瘍組織の空間的トランスクリプトーム解析を実施した。10 例の検体収集および解析基盤の構築を完了した。さらには BNCT を受けた悪性腫瘍患者 13 例から得られた腫瘍検体 39 検体および血液検体 25 検体について、シングルセル RNA シークエンスを実施した。また、追

加収集した検体についても、エクソーム解析、RNA シークエンス、シングルセル RNA シークエンスおよび空間的トランスクリプトーム解析を行った。これらの解析により、BNCT 前後における腫瘍局所および全身の免疫応答の変化を評価し、エフェクターT細胞の活性化、メモリー形成、ならびに治療標的分子の発現変化を検討した。シングルセル解析で得られた知見については、多重免疫染色を用いて組織学的な検証を行った。

5-3. BNCT 治療効果と関連する免疫学的因子の同定

BNCT の第 I 相試験で収集された患者検体を解析した結果、治療前から腫瘍局所にエフェクターT細胞および樹状細胞が多く浸潤している症例では、BNCT による治療効果が高い傾向を認めた。これらの症例では遠隔転移の出現が認められず、治療後も長期間にわたり全身性の免疫監視機構および免疫メモリーが形成される可能性が示された。一方、治療不応例では、腫瘍局所の骨髄系細胞における PD-L1 発現と、制御性 T 細胞における CTLA-4 発現が高い傾向を認めた。さらに、治療開始前から腫瘍反応性 T 細胞が存在することが、BNCT の治療効果に重要である可能性が示された。統合解析では、治療開始前に PD-1 陽性エフェクターT細胞が多く浸潤していることが、BNCT 治療効果を予測するバイオマーカーとなる可能性が示された。また、BNCT と免疫療法との併用効果を高めるためには、PD-1/PD-L1 経路および CTLA-4 経路の遮断が有望であると考えられた。

5-4. がん細胞側の BNCT 感受性規定因子の解析

BNCT の治療効果は、ホウ素薬剤のがん細胞への取り込みと細胞内保持に依存すると考えられる。がん細胞を対象としたシングルセル RNA シークエンス解析の結果、L-type amino acid transporter 1 (LAT1) の発現と、プロテアソーム関連遺伝子群の高発現が BNCT 治療効果に関与する可能性が示された。ホウ素化合物はプロテアソームの触媒活性に関与するスレオニン残基と相互作用することが知られている。本研究の解析結果から、ホウ素含有薬剤が LAT1 を介してがん細胞内に取り込まれ、プロテアソーム関連分子との相互作用によって細胞内に保持されることが、BNCT 感受性を高める機構の一つである可能性を見いだした。この知見を機能的に検証するため、プロテアソーム関連分子の発現を変化させたがん細胞を用いた実験を行い、さらに、これらの細胞を移植した動物モデルにおいて BNCT 治療効果を評価した。患者層別化マーカー候補としての有用性を検証し、非臨床 POC の取得に向けた動物実験を進めた。

5-5. 通常放射線治療との比較解析

BNCT に特有の免疫応答を明らかにするため、通常の放射線治療を受けた患者検体についても、腫瘍組織のエクソーム解析、RNA シークエンス、腫瘍・血液検体のシングルセル解析および空間的トランスクリプトーム解析を実施した。特に、固形がんに対して放射線化学療法後に PD-1 阻害療法、または PD-1 阻害療法と CTLA-4 阻害療法の併用を受け、経

時的に検体が採取された症例について、Xenium を用いた空間解析を実施した。これにより、通常放射線治療後に生じるがん細胞および免疫細胞の空間的变化を解析し、BNCT 後の免疫応答と比較するための基盤を構築した。これらの比較解析から、放射線による腫瘍細胞傷害と、その後に形成される免疫応答に関する知見を得て、BNCT と免疫療法との最適な併用戦略の検討に活用した。

5-6. 理論物理学的モデルおよび治療予測モデルの構築

エクソーム解析、RNA シークエンス、シングルセル RNA シークエンス、空間的トランスクリプトーム、多重免疫染色、画像解析および臨床経過から得られた情報を統合し、BNCT 治療感受性および免疫賦活作用を予測するための解析を実施した。解析にあたっては、遺伝子発現量や細胞構成比のみならず、腫瘍組織内における細胞の空間配置、細胞間相互作用および細胞集団の秩序構造に関する情報を取り入れた。これらの多様なモダリティを統合し、深層学習を用いて BNCT 治療効果を予測するモデルの構築を進めた。さらに、BNCT によって誘導される腫瘍局所の免疫細胞動態を、細胞集団の秩序状態の変化として特徴付けた。免疫抑制状態から抗腫瘍免疫状態への転換を、細胞秩序に関する「相転移現象」として捉え、治療前の腫瘍・免疫状態から治療後の応答を予測する数理モデルを検討した。

5-7. 得られた成果の総括

本研究により、BNCT の治療効果は、単にがん細胞への物理的な線量付与だけでなく、以下の複数の要因によって規定される可能性が示された。

- ・ 治療前から腫瘍局所に存在する腫瘍反応性エフェクターT 細胞および樹状細胞
- ・ エフェクターT 細胞における PD-1 発現
- ・ 骨髄系細胞における PD-L1 発現と制御性 T 細胞における CTLA-4 発現
- ・ がん細胞における LAT1 およびプロテアソーム関連遺伝子群の発現
- ・ 腫瘍組織内における細胞の空間配置と細胞集団の秩序状態

これらの成果は、BNCT の適応患者を選択するバイオマーカーの開発に加え、BNCT と PD-1/PD-L1 阻害療法、CTLA-4 阻害療法または CAR-T 細胞療法との合理的な併用戦略の構築につながる。今後は、抽出した候補因子の機能的検証と非臨床 POC の確立を進め、最終的には、患者ごとの腫瘍・免疫状態に基づいて BNCT と免疫療法の組み合わせを選択する、個別化がん免疫療法の社会実装を目指す。