



What's new?

마이크로바이옴과 암 면역 치료

¹연세대학교 의과대학 내과학교실, ²연세대학교 의과대학 내과학교실 중앙내과홍문기¹ · 정민규²

Microbiome and Cancer Immunotherapy

Moonki Hong¹ and Minkyu Jung²¹Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul; ²Division of Medical Oncology, Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Immune checkpoint inhibitors (ICIs) have achieved promising clinical results in cancer treatment over the past decade. However, the efficacy of ICIs is less than 30% in most tumor types, and studies are underway to identify the predictive factors responsive to ICIs. More than 1,000 species of microorganisms live in the human body, and the second human genome project, The Human Microbiome Project, has been conducted to understand human diseases through interactions with microbes. As the microbiome project has progressed, many studies have reported on the association between microorganisms and human diseases, including pre-clinical and clinical studies on the relationship between ICIs and the microbiome. Therefore, in this manuscript, the relationship between the microbiome and cancer, especially the effectiveness of ICIs, is reviewed. (Korean J Med 2021;96:312-317)

Keywords: Gastrointestinal microbiome; Neoplasms; Immune checkpoint inhibitors

서 론

면역관문억제제(immune check point inhibitor)는 최근 10년 동안 다양한 암종에서 획기적인 암 치료법으로 자리잡고 있다[1]. 하지만, 면역관문억제제에 효과적인 반응을 보이는 환자는 암종별로 다르며, 그 효과도 30% 미만으로 나타나기 때문에, 면역관문억제제 반응에 관계 있는 인자에 대한 연구

들이 진행 중이다[2]. 우리 몸에 살고 있는 미생물은 1,000종 이상 존재하는데, 인체와 미생물 간의 상호 작용을 통해 인간의 질병을 이해하고자 이차 인간 게놈 프로젝트인 인간 마이크로바이옴 프로젝트(The Human Microbiome Project)도 진행되었다[3]. 마이크로바이옴 프로젝트가 발표되고, 미생물과 인간 질병과의 상관관계에 대한 연구들이 진행되었고, 그 중에서도 면역관문억제제와 마이크로바이옴과의 연관 관계

Received: 2021. 7. 19

Accepted: 2021. 7. 20

Correspondence to Minkyu Jung, Ph.D.

Division of Medical Oncology, Department of Internal Medicine, Yonsei University College of Medicine, 50-1 Yonsei-ro, Seodaemun-gu, Seoul 03722, Korea

Tel: +82-2-2228-8128, Fax: +82-2-393-3652, E-mail: minkjung@yuhs.ac

Copyright © 2021 The Korean Association of Internal Medicine

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

에 대한 전임상 및 임상 연구 결과들이 발표되었다[4]. 본고에서는 마이크로바이옴과 암과의 관계, 특히 면역관문억제제의 효과와의 관계에 대해 살펴보고자 한다.

본 론

면역관문억제제

암면역 치료는 1893년 William Coley가 육종(sarcoma) 환자에게 사멸시킨 세균을 투여하고 종양이 감소된 결과를 보고한 것을 암면역 치료의 시작으로 보고 있다[5]. 면역학에 대한 분자생물학적 발전으로 암의 면역 회피기전이 알려지게 되었고, 그중 cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4) 와 programmed cell death protein 1 (PD-1)/PD-ligand 1 (PD-L1)에 대한 발견은 면역관문억제제 개발로 이어져 암 치료의 새로운 장을 열게 되었다[6]. 하지만, 면역관문억제제의 전반적인 반응은 30% 정도에 불과하고[7], 면역 치료 관련 이상반응이 심각하게 발생할 수 있어, 부작용 및 비용을 고려해 볼 때, 면역관문억제제에 효과 있는 환자를 선별함이 필요하다[8]. 현재까지 PD-1/PD-L1 억제제의 효과와 관련된 인자로는 암조직세포의 PD-L1 발현 정도, microsatellite instability와 tumor mutation burden 등이 보고되었다[9-13].

마이크로바이옴과 암의 발생

우리 몸에 존재하는 미생물 집합체를 인간 마이크로바이옴(human microbiome)이라 명명하며, 우리 몸에는 10^{14} 개의 미생물이 존재하며, 95%는 대부분 장을 포함한 소화기관에 있고, 호흡기, 생식기, 구강 및 피부 등에도 분포한다[14]. 장내 미생물의 변화는 암을 포함하여, 자가면역 질환, 염증성 장질환 등 다양한 질병과 관련성이 보고되고 있다[15]. 암을 유발하는 미생물로는 *Salmonella typhi* [16]가 담도암 발생에, *Helicobacter pylori*가 위암 발생[17]에 연관되는 것으로 보고되었다. 미생물이 암을 유발하는 기전으로는 대부분 만성 염증반응에 의해 이차적으로 발생하는 것으로 여겨지나, 특징적으로 *Helicobacter pylori*는 위암뿐만 아니라 mucosa-associated lymphoid tissue (MALTOMA) 발생과도 연관되기 때문에 국제보건기구(World Health Organization, WHO)에서는 type 1 carcinogen으로 분류하고 있다[17].

항생제 사용에 의한 장내 미생물의 변화(gut dysbiosis)가

암의 발생에 영향을 미친다는 연구들이 발표되었고, 그중에서 대장암과의 관련성이 많이 보고되었다[18]. 선종(adenoma)이나 대장암 주변에서 관찰된 미생물은 그 주변의 정상 점막에서 미생물과 차이가 나는 것이 보고되었는데, 특징적으로 대장암이 발생한 조직에서는 *Clostridium*과 *Bacteroides genera*가 줄어들어 있고, 반대로 *Fusobacterium spp.*, 그중에서도 *F. nucleatum*가 풍부하였다[19]. 간세포암의 발생에서도 미생물과의 연관성이 보고되었는데, *Helicobacter* 균주가 간세포암 조직 내에서 발견되었으며[20,21], 장내 미생물의 경우에도 간세포암 환자의 분변에서 간세포암이 없는 환자에 비해 *E. coli*가 더 많이 형성되어 있음이 관찰되었다[22]. 이러한 장내 미생물의 변화는 간에서 담즙 생성 과정을 변화시킴으로써 DNA의 손상을 일으키고 간독성과 종양을 일으키는 것으로 제시되었다[23]. 폐암에서는 기관지 폐포 세척액(bronchoalveolar lavage, BAL)을 통한 연구가 진행되었다. 폐 병변(lung lesion)이 있는 환자들에게 BAL을 시행하고 이후 양성 종양과 악성 종양을 나누어 분석한 결과, 악성 종양 환자에서 시행한 BAL 검사에서 양성 환자에 비해 유의미하게 *Veillonella*와 *Megasphaera genera*가 많이 관찰되었다[24]. 또한 폐암 조직에서는 정상 조직에 비해 *Thermus genus*가 더 많이 발견되었고, 진행된 병기에서 더 많이 발견되었다[25].

장내 미생물과 면역관문억제제 반응과의 상관 관계

장내 미생물과 암의 발생과의 관계뿐만 아니라, 최근의 연구에 따르면 장내 미생물이 면역관문억제제의 반응에 중요한 역할을 하는 것으로 보고되었다[26,27]. Sivan 등[26]은 2015년 Science지에 흥미로운 논문을 발표하였다. 마우스 흑색종 세포주인 B16.SIY를 이용하여 마우스 실험을 위해 Jackson laboratory (JAX)와 Taconic farms (TAC)에서 유전적으로 같은 C57BL/6 마우스를 구매하여 실험하였는데, JAX에서 구매한 마우스의 흑색종 종양은 TAC에서 구매한 마우스의 흑색종 종양보다 종양 성장 속도가 유의미하게 느리게 진행함을 확인하였으며, 이런 차이는 두 회사 마우스의 장내 미생물이 달라 발생한 것이라고 제안하였다. 놀랍게도, JAX 마우스의 분변을 TAC 마우스에 투여하였더니 JAX 마우스와 유사하게 종양 성장이 감소되었고, 종양 조직에서 CD 8+ T세포가 증가됨이 관찰되었다. 더욱 더 놀라운 것은 TAC 마우스에 JAX 마우스의 분변을 투여한 뒤, B16 종양 모델을 만들고, PD-L1 억제제로 치료한 결과, JAX 마우스의 분변을

투여하지 않은 마우스에 비해 PD-L1에 의한 종양 억제 효과가 증가되었고, 이는 장내 미생물이 T세포 반응을 향진시키는 것으로 제시되었다. 장내 미생물 중에서 항 종양 면역 반응을 일으키는 미생물을 구분하기 위해 16S ribosomal RNA 시퀀싱을 통해 분석한 결과, *Bifidobacterium spp.*이 면역 반응과 연관성이 높은 균주로 확인되었다. 이를 바탕으로 PD-L1 억제제와 *Bifidobacterium*을 병용투여한 경우에는 PD-L1 억제제 단독 또는 *Bifidobacterium* 단독으로 치료한 군에 비해 유의미한 종양 억제 효과를 보여 *Bifidobacterium*이 PD-1 억제제의 효과를 향상시킴을 입증하였다.

본 연구가 발표된 이후 Gopalakrishnan 등[28]은 PD-1 억제제를 사용한 흑색종 환자들의 장내 미생물을 분석하여 그 결과를 발표하였다. PD-1 억제제에 반응을 보인 환자들은 반응을 보이지 않은 환자들에 비해 장내 미생물이 다양한 것으로 분석되었고, 특별히 *Fecalibacterium*이 풍부한 환자에서는 생존 기간이 연장되었으며, 반대로 *Bacteroidales*가 많은 환자의 경우 생존율이 감소되었다. 뿐만 아니라, PD-1 억제제에 반응을 보인 환자와 반응을 보이지 않은 환자의 분변을 Germ free 마우스에 분변을 이식한 뒤(fecal material transplantation, FMT) 흑색종 마우스 모델을 만든 후 PD-L1 억제제로 치료한 결과, 반응군 환자의 분변을 이식받은 마우스에서 항종양 효과가 유의미하게 증가하였고, 종양 내 CD8 T세포의 수도 증가됨이 확인되어, 장내 미생물이 PD-1 억제제 효과에 영향을 미침을 사람의 분변을 통한 연구에서도 보고하였다.

암 치료를 위한 분변 이식 치료

건강 자원자의 FMT는 2000년도부터 재발성 *Clostridium difficile* (*C. difficile*) 감염 환자를 대상으로 연구되었고, 2013년에 전향적, 무작위 배정, 임상 연구가 발표되었다. 본 연구는 1번 이상 *C. difficile* 감염이 재발된 환자들 대상으로 FMT군, Vancomycin 단독군, Vancomycin과 장세척(bowel lavage)군, 세 군으로 나누어 군당 38명 등록을 목표로 진행되었다[29]. 하지만, 본 연구는 43명이 3군에 배정된 뒤 중간 분석에서 FMT군에서 효과가 월등하게 나타나 조기 중단되었다. FMT를 투여 받은 16명 중 13명(81%)에서 1차 FMT에서 완치되었으며, 나머지 3명 중 2명은 다른 대상자의 2차 FMT 후 완치된 반면, vancomycin 단독군에서 13명 중 4명(31%)에서, vancomycin과 장세척군에서는 13명 중 3명(23%)에서만 완치되

었다. 본 연구를 바탕으로, 현재는 재발성 *C. difficile* 감염의 치료로 FMT가 표준 치료로 사용되고 있다.

마이크로바이옴과 면역관문억제제 효과와 상관관계가 있는 전임상 연구 및 후향적 임상 결과들이 축적되면서, 흑색종 환자를 대상으로 전향적으로 FMT 병용 치료가 시도되었다. Baruch 등[30]은 이전 PD-1 억제제 치료 후 질병이 진행된 흑색종 환자 10명을 대상으로 FMT와 PD-1 억제제를 재투여하는 1상연구를 발표하였다(NCT03353402). FMT 공여자는 PD-1 억제제로 투여 받고 1년 이상 완치가 유지된 흑색종 환자 2명에서 공여를 받아 진행되었고, 공여자 1에서 FMT를 받은 5명 중에서 2명에서 부분 반응이 나타났고, 1명에서는 완전반응을 보여(공여자 2에서 FMT를 받은 5명 중 반응자는 없었음) 30%의 반응률을 보였다. 또한 흥미롭게도 완전반응을 보인 환자의 종양에서 CD8 + T세포가 증가됨이 관찰되었다.

유사한 연구로 Davar 등[31]은 이전 PD-1 억제제에 반응을 보이지 않은 환자(primary refractory) 16명의 흑색종 환자를 대상으로 FMT와 PD-1 억제제 투여한 전향적 임상 연구를 발표하였다(NCT03341143). FMT 공여자는, 3명은 PD-1 억제제에서 완전 반응을 보인 환자에서, 4명은 장기 부분 반응(partial response, median PFS = 56개월[range 45-71 months])을 보인 환자, 총 7명의 FMT가 16명에게 투여되었다. 16명 중 15명에서 반응평가가 이루어졌고, 3명에서 부분 반응(20%), 3명에서는 안정병변(stable disease)을 보였는데, 효과가 12개월 유지되었다. 반응과 관련 높은 장내미생물은 *Firmicutes*와 *Actinobacteria*였고, 반대로 *Bacteroidetes*는 반응억제와 관계가 있는 것으로 분석되었다. 또한, 순환 면역세포(circulating immune cell) 및 종양 침투 면역 세포(tumor infiltrating immune cell) 분석(single cell analysis)에서 FMT와 PD-1 억제제는 종양 미세환경(microenvironment)에서 myeloid-induced immunosuppression은 감소시키고, CD8+ T세포를 증가시키는 것으로 분석되었다. 또한, 혈액을 이용한 multiomics 분석에서 반응군과 비반응군에서 metabolomic profile이 다른 것으로 분석되었다.

두 개의 소규모 전향적 연구를 통해 이전에 PD-1 억제제에 내성을 보인 흑색종 환자를 대상으로 PD-1 억제제 저항 극복방법으로 FMT가 사용될 수 있는 가능성을 제시하였고 할 수 있으나, 재발성 *C. difficile* 감염의 치료처럼 FMT가 표준 치료로 사용되기 위해서는 대규모 전향 연구가 필요하다. 현재 진행 중인 마이크로바이옴과 면역관문억제제 효능

과 상관관계를 보는 전향적 임상 연구 결과가 축적된다면 면역 치료제의 효능을 극대화시키게 될 것이다(Table 1).

Table 1. Selected ongoing studies in which the association between the microbiome and immunotherapy was investigated

Title	ClinicalTrials.gov No.	Target population	Target number	Country
Pilot feasibility study of the interplay between the host gut microbiome and efficacy of treatment for advanced or recurrent gynecological cancer patients receiving immunotherapy	NCT04957511	Gynecological Cancer	30	USA
Evaluating modifiable biomarkers for the prediction of immunotherapy response and toxicity	NCT04954885	Lung cancer	150	USA
the effect of diet and exercise on immunotherapy and the microbiome (EDEN)	NCT04866810	Melanoma	80	USA
Defining the role of the skin microbiome in vitiligo and immune-related adverse events in advanced melanoma patients treated with anti-PD1	NCT04734704	Melanoma	175	France
Discovery of microbiome-based biomarkers for patients with cancer using metagenomic	NCT04567446	All solid cancer	1,100	France
Pilot study of intestinal microbiome modification with resistant starch in patients treated with dual immune checkpoint inhibitors	NCT04552418	All solid cancer	12	USA
Development and analysis of a sample bank (blood, urine, and stool) for cancer patients, enabling the systematic study of the effect of blood, urinary tract, and gut microbiomes on response to treatment	NCT04291755	All solid cancer	100	USA
Utilization of microbiome as biomarkers and therapeutics in immuno-oncology	NCT04264975	All solid cancer	60	Korea
Development of bioforte technology for in silico identification of valuable genomic features that are candidates for microbiome-based therapeutics and diagnostics	NCT04136470	Lung cancer/Melanoma	130	Poland
An observational study to evaluate the microbiome as a biomarker of efficacy and toxicity in cancer patients receiving immune checkpoint inhibitor therapy	NCT04107168	All solid cancer	1,800	UK
A multicenter phase 1b randomized, placebo-controlled, blinded study to evaluate the safety, tolerability and efficacy of microbiome study intervention administration in combination with anti-PD-1 therapy in adult patients with unresectable or metastatic melanom	NCT03817125	Melanoma	14	USA
The role of microbiome in lung cancer and other malignancies	NCT03688347	Lung cancer	60	USA
Feasibility study of microbial ecosystem therapeutics (MET-4) to evaluate effects of fecal microbiome in patients on immunotherapy (MET4-IO)	NCT03686202	All solid cancer	65	Canada
The role of microbiome in cancer therapy	NCT02960282	Colorectal cancer	80	USA
Preventing immune-related adverse events in renal cell carcinoma patients treated with combination immunotherapy using fecal microbiota transplantation	NCT04163289	Renal cell cancer	20	Canada
Fecal microbial transplantation in combination with immunotherapy in melanoma patients (MIMic)	NCT03772899	Melanoma	20	Canada
Efficacy and safety of neoadjuvant immunotherapy and chemotherapy for locally advanced esophagogastric junction and gastric cancer : a open-label, phase 2 randomised controlled trial (NICE Trial)	NCT04744649	Gastric cancer/gastroesophageal junction cancer	80	China

결 론

면역학의 발전으로 면역관문억제제가 개발되어 암 치료의 새로운 시대를 열었다. 하지만, 면역관문억제제에 대한 효과는 일반적으로 30% 미만에서 나타나 면역관문억제제의 치료 효과를 증진하고자 많은 연구가 진행되고 있다. 그중에서 장내미생물이 면역관문억제제 효과와 관계된다는 연구 결과들이 보고되었다. 면역관문억제제에 반응군과 비반응군에서 마이크로바이옴이 달랐으며, 면역관문억제제에 효과 있는 환자의 분변을 마우스 및 면역관문억제제에 저항성을 보인 흑색종 환자에게 이식하였을 경우 면역 반응이 증진되면서 면역관문억제제의 저항성이 극복됨이 관찰되었다. 현재 마이크로바이옴과 면역관문억제제를 병용하는 임상 연구들이 진행 중으로, 면역관문억제제의 효능은 극대화하고 부작용을 최소화하는 결과가 기대된다[4].

중심 단어: 장내 미생물; 암; 면역관문억제제

REFERENCES

1. Robert C. A decade of immune-checkpoint inhibitors in cancer therapy. *Nat Commun* 2020;11:3801.
2. Bai R, Lv Z, Xu D, Cui J. Predictive biomarkers for cancer immunotherapy with immune checkpoint inhibitors. *Biomark Res* 2020;8:34.
3. Turnbaugh PJ, Ley RE, Hamady M, Fraser-Liggett CM, Knight R, Gordon JI. The human microbiome project. *Nature* 2007;449:804-810.
4. Helmkamp BA, Khan MAW, Hermann A, Gopalakrishnan V, Wargo JA. The microbiome, cancer, and cancer therapy. *Nat Med* 2019;25:377-388.
5. Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas. With a report of ten original cases. 1893. *Clin Orthop Relat Res* 1991;(262):3-11.
6. Ribas A. Tumor immunotherapy directed at PD-1. *N Engl J Med* 2012;366:2517-2519.
7. Naidoo J, Page DB, Li BT, et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Ann Oncol* 2015;26:2375-2391.
8. Arnaud-Coffin P, Maillet D, Gan HK, et al. A systematic review of adverse events in randomized trials assessing immune checkpoint inhibitors. *Int J Cancer* 2019;145:639-648.
9. Tray N, Weber JS, Adams S. Predictive biomarkers for checkpoint immunotherapy: current status and challenges for clinical application. *Cancer Immunol Res* 2018;6:1122-1128.
10. Reck M, Rodríguez-Abreu D, Robinson AG, et al. Pembrolizumab versus chemotherapy for PD-L1-positive non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2016;375:1823-1833.
11. Le DT, Uram JN, Wang H, et al. PD-1 blockade in tumors with mismatch-repair deficiency. *N Engl J Med* 2015;372:2509-2520.
12. Overman MJ, McDermott R, Leach JL, et al. Nivolumab in patients with metastatic DNA mismatch repair-deficient or microsatellite instability-high colorectal cancer (CheckMate 142): an open-label, multicentre, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2017;18:1182-1191.
13. Klempner SJ, Fabrizio D, Bane S, et al. Tumor mutational burden as a predictive biomarker for response to immune checkpoint inhibitors: a review of current evidence. *Oncologist* 2020;25:e147-e159.
14. Grice EA, Segre JA. The human microbiome: our second genome. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2012;13:151-170.
15. Blumberg R, Powrie F. Microbiota, disease, and back to health: a metastable journey. *Sci Transl Med* 2012;4:137rv7.
16. Di Domenico EG, Cavallo I, Pontone M, Toma L, Ensoli F. Biofilm producing *Salmonella typhi*: chronic colonization and development of gallbladder cancer. *Int J Mol Sci* 2017;18:1887.
17. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett* 2014;345:196-202.
18. Yang Y, Jobin C. Novel insights into microbiome in colitis and colorectal cancer. *Curr Opin Gastroenterol* 2017;33:422-427.
19. Kostic AD, Chun E, Robertson L, et al. *Fusobacterium nucleatum* potentiates intestinal tumorigenesis and modulates the tumor-immune microenvironment. *Cell Host Microbe* 2013;14:207-215.
20. Huang Y, Fan XG, Wang ZM, Zhou JH, Tian XF, Li N. Identification of *Helicobacter* species in human liver samples from patients with primary hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol* 2004;57:1273-1277.
21. Rocha M, Avenaud P, Ménard A, et al. Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut* 2005;54:396-401.
22. Grąt M, Wronka KM, Krasnodebski M, et al. Profile of gut microbiota associated with the presence of hepatocellular cancer in patients with liver cirrhosis. *Transplant Proc* 2016;48:1687-1691.
23. Yoshimoto S, Loo TM, Atarashi K, et al. Obesity-induced gut microbial metabolite promotes liver cancer through senescence secretome. *Nature* 2013;499:97-101.
24. Lee SH, Sung JY, Yong D, et al. Characterization of microbiome in bronchoalveolar lavage fluid of patients with lung cancer comparing with benign mass like lesions. *Lung*

- Cancer 2016;102:89-95.
25. Yu G, Gail MH, Consonni D, et al. Characterizing human lung tissue microbiota and its relationship to epidemiological and clinical features. *Genome Biol* 2016;17:163.
 26. Sivan A, Corrales L, Hubert N, et al. Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science* 2015;350:1084-1089.
 27. Matson V, Fessler J, Bao R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients. *Science* 2018;359:104-108.
 28. Gopalakrishnan V, Spencer CN, Nezi L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients. *Science* 2018;359:97-103.
 29. Van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, et al. Duodenal infusion of donor feces for recurrent *Clostridium difficile*. *N Engl J Med* 2013;368:407-415.
 30. Baruch EN, Youngster I, Ben-Betzalel G, et al. Fecal microbiota transplant promotes response in immunotherapy-refractory melanoma patients. *Science* 2021;371:602-609.
 31. Davar D, Dzutsev AK, McCulloch JA, et al. Fecal microbiota transplant overcomes resistance to anti-PD-1 therapy in melanoma patients. *Science* 2021;371:595-602.