

# 研究結果の概要

(研究代表者)

機関名	順天堂大学大学院医学研究科
部署・職名	免疫病・がん先端治療学講座 特任教授
氏名	森本幾夫

研究課題名 (課題番号) : 悪性胸膜中皮腫のヒト化 CD26 抗体療法確立のための予後・治療効果予測バイオマーカーの開発 (180101-01)

研究実施期間 : 平成 31 年 4 月 1 日から令和 2 年 3 月 31 日まで

## 【研究目的】

悪性胸膜中皮腫は現時点で効果的な治療法はなく、予後は極めて不良で労災疾病行政上も大きな問題であり、有効な新規治療法の確立は急務である。研究代表者は抗腫瘍効果の強いヒト化 CD26 抗体の開発に成功し、悪性中皮腫における CD26 発現の解析、抗体の抗腫瘍作用機構の解明に取り組み、この抗体は抗体医薬特有の ADCCに加え、CD26 陽性腫瘍に結合することで腫瘍の増殖抑制に働くこと、さらに近年では腫瘍免疫の促進にも働かせることを明らかにしてきた。さらに、抗体療法の確立に不可欠な病理組織の CD26 発現診断用抗体、可溶性 CD26/DPPIV 値測定系を開発した。フランスにてヒト化 CD26 抗体の治療抵抗性悪性中皮腫を中心とした First-in-Human 第 I 相臨床試験を施行した。免疫チェックポイント阻害薬のような特記すべき有害事象もなく、有効性を示唆するデータも得られたが(Br J Cancer. 2017)、どの患者が CD26 抗体療法の適用となるかが課題とされた。

フランスでの臨床試験患者血清を解析し、CD26/DPPIV 値の変動解析が SD/PD の予測バイオマーカーとなる可能性が示唆された ( $p < 0.016$ )。この予備結果の実証、及び新規治療効果予測バイオマーカーの確立を目指し、本邦で 2017 年 7 月から開始した悪性中皮腫の第 I/II 相臨床試験(第 I 相 9 例が終了し、第 II 相も 2019 年度内に全 31 例への CD26 抗体投与が終了)の検体を用いて、(1)病理組織での CD26 発現の定量・定性解析の確立と治療効果との相関解析 (2)CD26 抗体の治療効果・予後を予測する血清バイオマーカー (3)末梢血リンパ球バイオマーカーの確立に取り組む。2019 年度は国内第 II 相臨床試験への全検体を用いて (31 例)、治療効果と相関する新規バイオマーカーの絞り込みを行い、第 I 相及び第 II 相臨床試験検体(全 40 例)の解析を加え、統計解析のもと CD26/DPPIV 値の変動解析や新規バイオマーカーを同定する。(4)フランスでの第 I 相臨床試験において血清中 CD26/DPPIV titer 変動がバイオマーカーとして有用である可能性が得られたが、その低下のメカニズムを明らかにする。これにより、安全かつ革新的な CD26 抗体療法の確立と、抗体療法適用患者の適切な選択を可能にする。

## 【研究方法】

目的(1) : 国内第 I 相パート(6 例)および国内第 II 相パート全例(31 例)の計 37 症例を用いて、中皮腫組織の CD26 発現評価を行う。R&D 社のポリクローナル抗体および研究代表者等が開発した単クローン抗体を用いて中皮腫の CD26 染色を施行し解析を行う。

目的(2) : 国内の第 I/II 相臨床試験患者の抗体投与前後 (Day0, 15, 29) 並びに SD、PR となった患者ではその持続期間中の血清を用いて 1) 可溶性 CD26 タンパク量 2) DPPIV 酵素活性 ; CD26/DPPIV によって制御される各種 3) サイトカイン 4) ケモカインの経時変化を研究代表者等が開発した測定系および Bio-Plex システムを用いて解析する。

目的(3) : 国内の第 I/II 相臨床試験患者の CD26 抗体投与開始前の末梢血中 CD4 および CD8T 細胞を用いて、CD26 抗体治療が免疫系、特に腫瘍免疫に及ぼす影響を明らかにする。そのため 1) 末梢血中の免疫細胞組成 2) T 細胞の CD26 およびケモカインレセプター発現 3) 細胞傷害性エフェクター T 細胞および制御性 T 細胞の割合 4) 主要な免疫チェックポイント分子の発現を解析する。

目的(4) : CD26 陽性/陰性の中皮腫細胞株及び正常細胞を用いて、in vitro でヒト化 CD26 抗体が培養上清中の可溶性 CD26/DPPIV 産生に与える影響を解析する。

## 【研究成果】

- 1) 国内第 I/II 相臨床試験において、悪性中皮腫の病理検体として、第 I 相は 9 例中 6 例、第 II 相では、31 例全例の計 37 症例が収集され、36 例は CD26 発現の評価が可能であった。R&D 社ポリクローナル抗体による免疫染色 (A 法) および新規開発されたコンパニオン診断キットによる免疫染色 (B 法) の二つの染色方法により CD26 発現について検討した。A 法での CD26 陽性率が 20%以上の症例は、37 例中 30 例、20%未満の症例が 6 例であった。B 法では 20%以上の症例は、37 例中 32 例、20%未満の症例が 4 例であった。また A 法よりも B 法で CD26 陽性率が上昇した症例は 36 例中 23 例であり、その中で陽性率が 20%以上上昇した症例が 11 例認められた。正常ヒト組織での CD26 染色性の向上が B 法で認められたことよりこの新規コンパニオン診断キットによる免疫染色法が中皮腫における CD26 発現をより正確に評価するのに適していると考えられた。
- 2) ヒト化 CD26 抗体が有効な患者を予測するため、国内第 I/II 相臨床試験患者の血清中サイトカイン・ケモカインの多項目解析を行い、SDF-1, MIP-1d, MCP2, Gro-b, GCP-2 等が CD26 抗体の有効性を予測する新規バイオマーカー候補になる可能性を見出した。
- 3) 国内第 I/II 相臨床試験患者の末梢血リンパ球のフェノタイプ解析により、ヒト化 CD26 抗体有効例では特に CD8<sup>+</sup> T 細胞で細胞傷害性エフェクター T 細胞 (CD26 陰性・CD28 陰性・KLRG1 陽性サブセット) の割合が高く、免疫チェックポイント分子の中で PD1 と TIGIT の発現陽性率が高い可能性を見出した。
- 4) フランスでのヒト化抗 CD26 モノクローナル抗体 (YS110) の第 I 相臨床試験において、YS110 投与に伴う血清中 CD26/DPP4 (sCD26/ DPP4) titer の変動が、YS110 投与の予後・治療効果を予測するバイオマーカーとして有用である可能性が得られた。そのメカニズムを明らかにするために、CD26 陽性/陰性の腫瘍及び正常細胞を用いて、in vitro での検証を行った。細胞膜上の CD26 の発現が高い細胞であれば腫瘍・正常細胞ともに培養上清中に sCD26 を産生し、YS110 の容量依存的、及び経時的に sCD26 の産生が阻害されることを明らかにした。

## 【結論】

- 1) 臨床試験における悪性中皮腫検体における CD26 発現評価を行い、半定量的解析法を確立した。また CD26 抗体療法におけるコンパニオン診断キットの開発に成功した。
- 2) 国内第 I/II 相臨床試験患者の血清中サイトカイン・ケモカインの多項目解析を行い、ヒト化 CD26 抗体の予後・治療効果予測バイオマーカー候補として、SDF-1, MIP-1d, MCP2, Gro-b, GCP-2 を見出した。
- 3) 国内第 I/II 相臨床試験患者の末梢血リンパ球のフェノタイプ解析により、CD26 抗体有効例では CD8<sup>+</sup> T 細胞で細胞傷害性エフェクター T 細胞 (CD26 陰性・CD28 陰性・KLRG1 陽性サブセット) の割合が高く、免疫チェックポイント分子の中で PD1 と TIGIT の発現陽性率が高いことを見出した。
- 4) フランスでの第 I 相臨床試験において YS110 投与に伴う血清中可溶性 CD26/DPP4 (sCD26/DPP4) titer の変動を解析した結果、CD26 抗体の予後・治療効果を予測するバイオマーカーとして有用である可能性が得られた。さらに CD26 の発現が高い細胞であれば腫瘍・正常細胞ともに培養上清中に sCD26 を産生し、YS110 の容量依存的に sCD26 の産生が阻害されることを明らかにした。

## 【今後の展望】

- 1) 悪性中皮腫における CD26 発現について免疫染色にて評価し、組織型とともに発現パターン (細胞局在、陽性率、陽性強度などの各種パラメーター) を詳細に定量評価することにより、抗体療法の効果や予後などとの関連性あるいは臨床パラメーターを検証する基礎を構築していく。腫瘍組織の DNA・RNA profile 解析を行い、YS110 の効果との関係を解析する。
- 2) 今年度の解析で得られた血清中の新規バイオマーカー候補について sandwich ELISA で個別に測定を行い、今回の Bio-Plex システムでの結果の再現性を確認する。また、中皮腫病理組織を用いて腫瘍浸潤リンパ球のフェノタイプ解析を行い、末梢血 T 細胞のフェノタイプとの関係性や、ヒト化 CD26 抗体の治療有効性との相関関係を解析し、予後・治療効果バイオマーカーを確立する。
- 3) YS110 の抗腫瘍作用メカニズムの更なる解明を目指し、腫瘍細胞膜上の CD26 に YS110 が結合してから核内まで移行するメカニズムの詳細を検討する。また、YS110 投与後に一度低下した血清中 sCD26/DPP4 titer のその後の回復の違いが何を反映した結果であるのかを明らかにし、血清中 sCD26/DPP4 titer の変動解析が YS110 の予後・治療効果を予測するバイオマーカーとして有用であることをより確かなものにする。