

厚生労働科学研究費補助金
労災疾病臨床研究事業

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

平成 30 年度～令和 2 年度
総合研究報告書

研究代表者 森本 幾夫

令和 3(2021)年 3 月

目 次

I. 総合研究報告

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

・・・・・・・・・・・・・・・・・・1

研究代表者 森本 幾夫

順天堂大学大学院医学研究科 免疫病・がん先端治療学講座 特任教授

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

・・・・・・・・・・・・・・・・・・25

I. 総合研究報告

労災疾病臨床研究事業費補助金
総合研究報告書
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

研究代表者 森本 幾夫 順天堂大学大学院医学研究科
免疫病・がん先端治療学講座 特任教授

研究要旨

悪性胸膜中皮腫はアスベストばく露によって起こる難治性悪性腫瘍であり、現時点で満足できる治療法はなく、新たな治療法の確立が望まれる。研究代表者は抗腫瘍効果の強いヒト化 CD26 抗体 YS110 の開発に成功し、フランスにて悪性中皮腫を中心とした CD26 陽性腫瘍に対する First-in-Human 第 I 相臨床試験を施行した。2017 年 7 月から国内でも悪性中皮腫に対する第 I/II 相臨床試験を施行し、2019 年に第 I 相、第 II 相臨床試験計 40 例の投与が終了した。抗腫瘍効果について最終的な中央判定結果を基に、これまでのデータを再解析(グループ分け)し、CD26 抗体の有効性予測バイオマーカー候補として SDF-1 α β , MIP-1d, MCP1 を見出した。また、Gro-b, CTACK, MCP2 も有効性の予測に役立つ可能性が考えられる。血清中の可溶性 CD26 濃度/DPP4 酵素活性の変動解析については、血清検体採取のタイミングを再度検討する必要があることが示された。

ヒト化抗 CD26 モノクローナル抗体(YS110)による悪性胸膜中皮腫を主たる対象としたフランスにおける第 I 相臨床試験により得られた、YS110 投与に伴う血清中溶存 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になり得るかの検討を行い、バイオマーカーとして有用である可能性が得られた。その中で、臨床試験で観察された、YS110 投与によって血清中 sCD26/DPP4 titer が低下する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。

悪性胸膜中皮腫は効果的な治療法が存在しないため、現在新しい治療法の開発が待たれている。一方、USP22 は新規の脱ユビキチン化酵素として発見された核蛋白である。SAGA complex 転写因子としても知られているが、様々ながんで発現しており、予後因子としても有用であると考えられている。中皮腫における USP の発現や機能は、まだ不明な点が多いのが現状だ。そこで p21 を介した CD26 による細胞周期調節と関連し、中皮腫における増殖と進展における USP22 の役割を調べた。その結果、USP22 蛋白は中皮腫で発現し、USP22 ノックダウンは CD26 ノックダウンと同様、中皮腫の増殖を阻害することがわかった。また両者を同時にノックダウンすると、その効果がさらに増強した。しかも、USP22 と CD26 の発現は相関し、ヒト化 CD26 単クローン抗体処理は CD26 を通じて USP22 のレベルを下げ、結果的にヒストン H2A と p21 のユビキチン化を増加させた。したがってこれらの結果により、USP22 は中皮腫治療における新

しい標的になりうるとともに予後予測バイオマーカーとなる可能性も示唆され、悪性中皮腫の USP22 発現と予後や CD26 抗体の治療反応性についても評価したい。

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（組織型は、上皮型 29 例、二相型 5 例、肉腫型 3 例）が収集され、36 例は CD26 発現の評価が可能であった。そこで R&D 社ポリクローナル抗体による免疫染色（フランスでの治験と同一、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。その結果、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 例であったのに対して、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も考えると、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。

CD26 染色の感度が上がった B 法による検討と HE 染色標本により、中皮腫腫瘍部分へのリンパ球並びに CD26 陽性単核細胞（リンパ球と単球等）浸潤について治療効果との比較を試みた。その結果、longSD5 症例中では腫瘍浸潤リンパ球 3+が 4 症例、+1 が 1 症例であり、治療効果が長い症例では CD26+単核細胞浸潤が多い傾向があった。一方、PD16 症例では、腫瘍浸潤リンパ球が 3+は 3 症例、+2 は 5 症例、+1 は 8 症例であり、CD26+単核細胞浸潤が少ない傾向が窺われた。これらの結果は、中皮腫においてリンパ球浸潤および CD26 陽性単核細胞の半定量評価が治療効果予測のバイオマーカーとなる可能性を示唆する。

末梢血リンパ球のフェノタイプ解析により、CD26 抗体有効例では特に CD8 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。CD26 抗体の臨床応用を目指すうえでこれらのバイオマーカー候補が有効性予測に役立つことを期待する。

治療抵抗性の悪性中皮腫患者に対して、CD26 抗体単剤でも高い割合で Stable Disease・Partial Response となり抗腫瘍効果は認められたが、より長期間抗腫瘍効果を発揮し、無増悪生存期間を与えられる本抗体を用いた新たな併用療法の開発も重要な課題である。そこで、ヒト免疫化マウスを用いたヒト悪性中皮腫細胞株担がんモデルを確立し、ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果を検討した結果、それぞれの単剤よりも強い相乗効果が認められる予備実験データを得た。

研究分担者

岸本 卓巳：独立行政法人労働者健康安全
機構 アスベスト疾患研究・
研修センター 所長

山田 健人：埼玉医科大学 病理学 教授

研究協力者

藤本 伸一：岡山労災病院 腫瘍内科部長

青江 啓介：山口宇部医療センター 腫瘍
内科 内科系診療部長

大沼 圭：順天堂大学大学院医学研究科
免疫病・がん先端治療学講座
准教授

波多野 良：順天堂大学大学院医学研究科
免疫病・がん先端治療学講座
特任助教

金子有太郎：ワイズ・エー・シー株式会社
CEO, 近畿大学 客員教授(元)

A. 研究目的

悪性中皮腫は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となっている。抗ヒト PD-1 抗体ニボルマブが 2018 年 8 月に、悪性中皮腫に対する治療薬として日本でも認可され、約 2-3 割の患者には有効性が認められる一方で、食欲減退、下痢、発熱などの副作用が高い割合で見られ、自己免疫様疾患として甲状腺機能異常、大腸炎、下垂体異常および間質性肺疾患などの重篤な副作用も報告されている。このことから、悪性中皮腫に対する安全かつ有効な新規治療法の確立は依然として重要な課題である。研究代表者は CD26 単クローン抗体の開発、CD26 cDNA の単離を世界に先駆けて行い (J Immunol. 1989, 1992)、抗腫瘍効果の強いヒト化 CD26 抗体の開発に成功した。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 (抗体依存性細胞傷害) 活性に加え、腫瘍細胞膜上の CD26 タンパクに CD26 抗体が結合することで細胞周期停止の誘導や、CD26 分子と CD26 抗体の複合体が細胞膜から核へ移行し、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きうることを明らかにしてきた (Clin Cancer Res. 2007, 2012, PLoS One. 2013, Br J Cancer. 2014, Nat Immunol. 2015)。また、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 (Diagn Pathol. 2014, PLoS One. 2019, J Clin Lab Anal. 2015)、フランスにて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安全性が確認されるとともに、有効性を示唆するデータも得られたが (Br J Cancer. 2017)、CD26 抗体療法が有効な患者を判別できるバイオマーカーの開発が課題とされた。

そこでフランスでの第 I 臨床試験患者血清を解析し、CD26 抗体投与前後の血清中可溶性 CD26/DPPIV 値の変動解析が Stable Disease (SD)・Progressive Disease (PD) の予測バイオマーカーとなる可能性が示唆された ($p < 0.016$)。この予備結果を実証すること、また、CD26 抗体の治療効果を予測できる新たなバイオマーカーを確立することを目指し、本邦で 2017 年 7 月から開始した悪性中皮腫の第 I/II 相臨床試験検体を用いて、(1)腫瘍病理組織での CD26 発現の定量・定性解析の確立と、腫瘍組織 DNA・RNA profile と治療効果との相関解析 (2)CD26 抗体の治療効果・予後を予測しうる血清バイオマカ

一、及び (3) 末梢血リンパ球バイオマーカーの確立に取り組む。

初年度(2018年度)は、2018年3月に最終患者への投与が終了した国内第 I 相臨床試験検体(全9例)、及び2018年6月から開始した国内第 II 相臨床試験検体の一部を用いて、(1)腫瘍病理組織での CD26 発現解析と(3)末梢血リンパ球の解析を行った。また、国内第 I 相臨床試験検体(全9例)の(2)血清中可溶性 CD26/DPPIV 酵素活性値の測定を行った。2018年度終了時点ではまだ解析検体数が少なく、次年度以降の検体数の追加が必要とされた。

さて、CD26 抗体により何故細胞周期の停止が生じるのかという詳しい作用機序は不明である。脱ユビキチン酵素の USP22 は多くの腫瘍でまた発現され、高発現していると予後も悪く、stage も進行しており、さらに細胞周期の調節にも関与しているといわれている。しかし悪性中皮腫細胞における発現やその機能は不明である。そこで(4)悪性中皮腫における CD26 分子と USP22 を介した細胞周期の関係および CD26 抗体処理による影響について解析を行い、USP22 が新たな治療ターゲットになり得るか、また CD26 抗体治療における USP22 の意義について検討することを目的とした。

2 年度目(2019年度)は、2019年内に国内第 II 相臨床試験全31例への CD26 抗体投与が終了した。昨年に引き続き、国内第 II 相臨床試験検体を用いて(1)腫瘍病理組織での CD26 発現解析と(3)末梢血リンパ球の解析を行った。また、国内第 I 相臨床試験検体(全9例)の(2)血清中サイトカイン・ケモカインの多項目解析、ならびに国内第 II 相臨床試験検体(全31例)の(2)血清中可溶性

CD26/DPPIV 酵素活性値の測定とサイトカイン・ケモカインの多項目解析を行い、CD26 抗体の抗腫瘍効果と相関する新規バイオマーカー候補の絞り込みを行った。

最終年度(2020年度)は、国内第 I/II 相臨床試験検体の合計 40 例の中で、Partial Response(PR)または SD が 4 サイクル(約 6 ヶ月)以上持続した検体を中心として、これまでの解析で得られた(1)血清バイオマーカー、及び(2)末梢血リンパ球バイオマーカー解析(3)腫瘍周囲に浸潤する免疫細胞における発現を免疫組織染色によって解析する。国内臨床試験 40 例中免疫チェックポイント阻害薬 PD-1 抗体(Nivolumab)無効性が 13 例含まれておりうち評価可能例 11 例中 Partial Response(PR)が 1 例、Stable Disease (SD) が 7 例、Progressive Disease(PD)が 2 例で 72.7% (8/11) が PR、SD であり、CD26 抗体が免疫チェックポイント抵抗性患者に有効である可能性が示唆された。そこでヒト化 CD26 抗体単剤でも有効性を示す結果は得られているが、さらに悪性中皮腫患者に、より長期間抗腫瘍効果を発揮できる現行の単剤療法を改善させるためヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果を探る目的でヒト免疫化マウスを用いて(4)悪性中皮腫株 JMN 担癌モデルを構築してヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果を検討した。これにより新規バイオマーカー候補によって CD26 抗体療法が有効な患者を判別しうるか明らかにし、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とする。

B. 研究方法

各分担研究報告書に著述

(倫理面への配慮)

成人健常者ならびに岡山労災病院、山口宇部医療センターの悪性胸膜中皮腫患者・良性石綿胸水患者の末梢血を用いた研究については、森本が講座責任者である順天堂大学大学院医学研究科、岸本・藤本が勤務する岡山労災病院、青江が勤務する山口宇部医療センターそれぞれの施設で、本研究を行うための研究計画書等を倫理審査委員会へ提出し、承認を得ている(順大医倫第 2018127 号、岡山労災病院 115 号、山口宇部医療センター29-21 号)。また、ヒト化 CD26 抗体の国内第 I/II 相臨床試験の被験者検体を用いたバイオマーカー探索研究については、キッセイ薬品工業株式会社内の臨床試験審査委員会、各治験実施施設内の治験審査委員会にて、試験の実施と合わせてバイオマーカー探索用採血・腫瘍組織検体の提供について協議され、実施承認を取得済みである。検体の提供を受ける際には、研究対象者に対する人的擁護上の配慮及び研究により研究対象者が受ける不利益、利益等の説明を行い、書面でのインフォームド・コンセントを得ている。

フランスでの第 I 相臨床試験におけるヒトおよびヒト由来の試料を対象とした研究は、世界医師会によって作成された人体実験に関する一連の倫理的原則に従って実施された。血清検体の提供を受ける際には、研究対象者に対する人的擁護上の配慮及び研究により研究対象者が受ける不利益、利益等の説明を行い、書面でのインフォームド・コンセントを得ている。

本研究に必要な動物実験の実施については、「動物の愛護及び管理に関する法律」、「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」(平成 18 年環境省告示第 88 号)、

「研究機関等における動物実験等の実施に関する基本指針」(平成 18 年文部科学省告示第 71 号)に基づいて制定された順天堂大学動物実験等管理規則を遵守して行う。実験はいわゆる 3R に基づいて計画し、順天堂大学医学部実験動物委員会に計画書を提出し審議の上、受理されている(承認番号:2020270)。

C. 研究結果

1) 健常者及び悪性中皮腫患者の血清中サイトカイン・ケモカインの多項目解析

ヒト化 CD26 抗体の予後・治療効果予測バイオマーカーを探索するために、本パートでは(1)血清および(2)末梢血リンパ球の解析を行った。まず、血清に関しては、悪性中皮腫患者に特徴的な血清中サイトカイン・ケモカインを明らかにするために、成人健常者 7 例及び岡山労災病院、山口宇部医療センターから提供を受けた CD26 抗体治療を受けていない悪性中皮腫患者 10 例の血清を用いて、Bio-Plex システムによりサイトカイン・ケモカイン 49 種類の多項目測定を行った。その結果、代表的な免疫抑制性サイトカインの一つである IL-10 とマクロファージを炎症局所に留まらせるサイトカインとして知られるマクロファージ遊走阻止因子 macrophage migration inhibitory factor (MIF) の血清中濃度が、悪性中皮腫患者では健常者よりも顕著に高く、さらに悪性中皮腫患者の中には極端に高値を示す患者もいることが示された。

また、好酸球遊走が主な機能として知られるケモカイン Eotaxin/CCL11 と代表的な炎症性サイトカインの一つである IL-1 β に関しては、悪性中皮腫患者と健常者との間に群平均値では血清中濃度に大きな違いは認めら

れないが、一部の中皮腫患者で血清中濃度が極端に高かった。IL-1 family サイトカインに属する IL-33 は、健常者も悪性中皮腫患者も個人差が大きい、血清中濃度が顕著に高い例と低い例の両方が存在した。

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

第 I/II 相臨床試験全 40 例のうち、血清中バイオマーカー解析の同意を得られたのは 29 例で、うち抗腫瘍効果評価可能例は 25 例であった。今回の第 I/II 相臨床試験では PR が 2 例、long SD が 5 例で、それぞれの症例数が十分ではないため、両者を併せて long SD・PR として解析を行った。Bio-Plex システムによりサイトカイン・ケモカイン 49 種類の多項目測定を行い、抗腫瘍効果評価可能 25 症例を PR・long SD, short SD, PD に分けて解析を行った。その結果、ケモカイン SDF-1 α , β /CXCL12 及び MIP-1d/CCL15 の血清中濃度は、健常者よりも悪性中皮腫患者の方が高く、特に PD 症例で高値を示した一方で、long SD・PR 症例では低値を示す傾向が見られた。また、MCP1/CCL2 は PD 症例及び short SD 症例では CD26 抗体投与により血清中濃度が大幅に上昇したのに対し、long SD・PR 症例では抗体投与後の上昇幅が小さかった。以上の結果から、SDF-1 α , β ・MIP-1d・MCP1 は CD26 抗体治療が特に有効だった PR または long SD となる患者を選択できるバイオマーカー候補である可能性が考えられる。また、ケモカイン Gro-b/CXCL2、CTACK/ CCL27、MCP2/CCL8 の血清中濃度は、健常者よりも悪性中皮腫患者の方が顕著に高く、特に PD 症例で高値を示したが、short SD 症例と long SD・PR 症例では比較的 low 値を示す傾向が見られた。しかしながら、long

SD・PR 症例と short SD 症例との間では明白な差は見られなかった。このことから、これらの因子は CD26 抗体が有効ではない PD 症例と、CD26 抗体による抗腫瘍効果が少なくとも一定期間認められる症例 (short SD を含む SD 症例及び PR 症例) との判別には有用である可能性が期待される。

3) 国内第 I/II 相臨床試験患者の血清中可溶性 CD26 値/DPP4 酵素活性値の変動解析

フランスでの第 I 相臨床試験において、SD 症例では PD 症例と比較して可溶性 CD26/DPP4 酵素活性値が有意に低く維持されており ($p < 0.016$)、CD26 抗体投与による血清中可溶性 CD26 値および DPP4 酵素活性の変動解析が、CD26 抗体の治療効果予測バイオマーカーとなる可能性が示された。フランス第 I 相臨床試験では CD26 抗体初回投与直後 (day1post) に可溶性 CD26 値及び DPP4 酵素活性値が顕著に低下し、2 週に 1 度の頻度で CD26 抗体を 2 回目投与する前 (day15pre) の時点では値が部分的に回復した。国内第 I/II 相臨床試験では毎週 1 回投与を行ううに投与量もほとんどが 6mg/kg の高容量で、抗体 3 回目投与前 (day15pre) の時点で全ての症例が低値で維持されていた。このことから、抗体投与直後に下がった血清中可溶性 CD26 値/DPP4 酵素活性値の変動 (回復) を解析するためには、抗体を毎週 1 回高容量投与するプロトコルでは day2 から day8pre にかけて今回の day15pre よりも早い段階での血清採取が必要であることが予想される。

4) フランスでの第 I 相臨床試験の臨床データをを用いた統計解析

YS110 投与前後の血清中 sCD26/DPP4 titer の変動 (V) と抗腫瘍効果 (RECIST) 及び PFS との関連性の解析における変数として、

(a)YS110 の投与頻度(2 週または 1 週に 1 回投与：Q2W または Q1W)、(b)投与量：体重当たりの投与量(mg/kg)、(c)腫瘍の CD26 発現陽性率(%)、(d)癌腫(MPM, 腎がん(RCC))、(e)性差、等があり、その中で変数(b)投与量及び(c)腫瘍の CD26 発現陽性率(%)は RECIST 判定及び PFS との関連性がないことが判明している。一つの解析例として、変数(a)において Q2W 症例数 18 例(全解析対象 26 例)について、腫瘍計測が不能だった MPM 1 症例を除いた 17 例(MPM：11 症例、RCC：6 症例)を RECIST 評価 SD、PD 症例それぞれ 8(黒丸)及び 9(白丸)症例で層別し、血清中 sCD26 titer の変動(%) (Y 軸)と腫瘍量 RECIST 判定の Day43 における変動(%) (X 軸)の座標に、YS110 投与前後別 Day1post, Day15Pre/Post, Day29Pre/Post に plotting し解析した。その結果、投与頻度 Q2W の場合、Day29Pre(3 回目投与前)において、明らかに Day43 における RECIST 評価を予測することが統計学的有意差(p=0.012)を持って示された。この結果は、血清中 sCD26 titer の変動 V が YS110 の抗腫瘍効果を予測するバイオマーカーであることを示唆している。

5) In vitro での sCD26 産生細胞、及び YS110 が sCD26 産生に与える影響の解析

YS110 の臨床試験から、MPM 患者の血清中 sCD26 titer は YS110 の投与によって顕著に低下することが示された(Br J Cancer. 2017, Lung Cancer. 2019)。そこで、YS110 が血清中 sCD26 titer を低下させるメカニズムを明らかにするために、YS110 が sCD26 産生に与える影響を in vitro で解析した。生体内には T 細胞や血管内皮細胞、上皮細胞、線維芽細胞、脂肪細胞など多様な CD26 陽性細胞が存在し、細胞膜上の CD26 分子を切断して

sCD26 を放出させる酵素も明確にはわかっておらず、sCD26 の主な産生源についても明確ではない。そこで CD26 陽性・CD26 陰性 MPM 細胞株及び、CD26 陽性・CD26 陰性正常細胞(非腫瘍細胞)を用いて、in vitro で培養上清中に sCD26 が産生されるかを解析した。MPM 細胞株の中で細胞膜上に CD26 を発現していない MST0 parent と JMN CD26-shRNA の培養上清中では sCD26 は検出されなかったが、細胞膜上に CD26 を発現する MST0-CD26, JMN ctrl-shRNA, H226 の培養上清中では sCD26 が検出された。正常細胞においても細胞膜上に CD26 を発現していない乳腺上皮細胞株 MCF10A と臍帯静脈内皮細胞 HUVEC、並びに細胞膜上の CD26 発現が弱い胸膜中皮細胞株 MeT-5A の培養上清中では sCD26 は検出されなかったが、細胞膜上に CD26 を発現する肺線維芽細胞株 TIG-1, 皮膚微小血管内皮細胞 HDMVEC の培養上清中では sCD26 が検出された。重要なことに、YS110 を添加して 72 時間培養した培養上清では、MPM 細胞株からも正常細胞からも sCD26 産生が同程度に低下することが示された。

そこで YS110 の容量依存的、経時的な作用を検証した。細胞膜上の CD26 発現が高い MPM 細胞株として MST0-CD26 を、正常細胞として TIG-1 を選択し、YS110 存在下で培養したところ、MST0-CD26, TIG-1 のどちらも YS110 の容量依存的に培養上清中の sCD26 量が減少した。また、MST0-CD26 を YS110 存在下で 1, 3, 7 日間培養した結果、培養 1 日でも培養上清中に sCD26 が検出され、YS110 による産生量の減少も見られた。

これらの結果から、sCD26 は CD26 を発現する腫瘍からも正常細胞からも産生され、YS110 は腫瘍と正常細胞の両方に作用して、

sCD26 産生を容量依存的、経時的に減少させることが示された。この YS110 の作用は、MPM 患者の血清中 sCD26 titer が YS110 投与によって顕著に低下するメカニズムの一つと考えられる。

6) 中皮腫臨床サンプルにおける USP22 の発現と、USP22 ノックダウンの細胞増殖阻害効果

USP22 はさまざまながんで発現が報告されているが、悪性中皮腫ではまだ詳しくは調べられておらず、まずそれについて実験を行った。その結果、USP22 は悪性中皮腫の全ての組織型（上皮型、肉腫型、混合型）で発現がみられた。上皮型では 26 例中 21 例(81%)で陽性だったのに対し、肉腫型では 5 例中 3 例(60%)、混合型では 12 例中 7 例(58%)が陽性だった。

次に中皮腫細胞株でも USP22 の発現を調べたが、MES01 株と JMN 株では核と細胞質の両方で USP22 の発現が見られた。

USP22 の shRNA ノックダウン実験を行ったところ、その増殖が抑制された。しかもその細胞は、マウス移植実験でも腫瘍増殖が抑制され、生存も延長した。これらの結果から USP22 のノックダウンは中皮腫の増殖と成長を抑制することが示された。

7) USP22 と CD26 のダブルノックダウンは、いずれか一方のノックダウンより、中皮腫細胞の増殖を強く阻害する

以前、CD26 分子のノックダウンが中皮腫の増殖と浸潤を抑制することを報告している。一方、CD26 及び USP22 とともに癌幹細胞特性に関連していると言われている。

CD26 発現減少が CDKI の p21 発現増強を介した細胞周期調節に関わっていることを報告し、USP22 も CDKI の p21 を標的にしている

ことを明らかにした。そこで CD26 と USP22 ノックダウン細胞の細胞周期解析を行ったところ、G1/S arrest が生じていたことが判明した。これらのことから、CD26 と USP22 は細胞周期に影響することで、阻害効果を示すことがわかった。また両者のノックダウンでは、その効果が増強された。

悪性中皮腫患者検体において、CD26 陽性の中皮腫のうち USP22 も発現している症例は上皮型で 71%、肉腫型で 33%、混合型で 71%だったが、CD26 と USP22 が共陽性の中皮腫患者の方が予後不良である傾向が見られており、CD26 と USP22 が協調して中皮腫の悪性化に関与していることが示唆された。

8) ヒト化 CD26 抗体は CD26 と USP22 を介して中皮腫細胞の増殖を抑制する

上記の実験で、CD26 と USP22 に相互作用が示唆されたため、それぞれの発現がお互いの発現に影響するかどうかを調べた。その結果、USP22 をノックダウンすると CD26 発現も減少し、USP22 を過剰発現させると CD26 発現も増加することが示された。

USP22 は脱ユビキチン化酵素活性を持つため、次に USP22 発現に関連した CD26 のユビキチン化状態を調べた。その結果、USP22 の発現が減少すれば CD26 のユビキチン化が増加していることが示された。このことから、USP22+CD26+中皮腫細胞では、USP22 が CD26 の発現を調節していることが示唆された。

CD26 は主に細胞表面に発現しているのに対して、USP22 は SAGA 転写因子コファクター複合体の一つであり核に局在している。我々は最近、細胞表面上の CD26 分子にヒト化 CD26 抗体が結合すると、CD26 とヒト化 CD26 抗体が複合体を形成したまま細胞内、さらには核に移行し、中皮腫細胞の増殖抑制に作用

することを示したが、この核に移行した CD26 が USP22 に作用し、USP22 の発現減少と p21 の発現上昇を引き起こすと推測した。

USP22 の鍵となる機能は、p21 発現を調節するヒストン H2A の脱ユビキチン化だが、我々はさらにこの点を検討した。その結果、ヒト化 CD26 抗体処理はヒストン H2A の脱ユビキチン化と p21 の発現レベルを増強させることがわかった。同様の結果は USP22 のノックダウンでも得られた。しかもヒト化 CD26 抗体処理は、用量依存的に細胞増殖を阻害し、G1/S arrest を引き起こした。

これらの結果は、ヒト化 CD26 抗体処理が核内の USP22 を減少させることで、中皮腫細胞の増殖を抑制することを強く示唆している。今回の研究により CD26 抗体処理による細胞周期停止および CDKI p21 の発現誘導の分子メカニズムを明らかにでき、USP22 は新たな治療ターゲットになり得、また USP22 の悪性中皮腫での発現評価はヒト化 CD26 抗体の治療反応性予測などのバイオマーカーとなる可能性も示唆された。

9) 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

次に、末梢血リンパ球に関して、国内第 I/II 相臨床試験患者の末梢血を用いて、フローサイトメトリーによるフェノタイプの比較を行った。末梢血リンパ球に関しては、第 I/II 相計 40 例のうち、バイオマーカー解析の同意を得られたのが 28 例で、うち 24 例は抗腫瘍効果の評価が可能であった。血清は day1・day15・day29 の time point で解析を行うことができたが、末梢血リンパ球の解析は CD26 抗体初回投与前 1 点のみ解析を行った。まず、末梢血単核球中の CD4 T 細胞・CD4+CD25high 制御性 T 細胞・CD8 T 細胞・

NK 細胞・単球の細胞数及び割合と、long SD・PR 症例との間に、いずれも特徴的な相関は認められなかった。

次に、細胞傷害性エフェクター T 細胞の割合に着目した。CD26 は健常者の末梢血 CD4 T 細胞、CD8 T 細胞ともに、CD26 高発現 (CD26high)・CD26 低発現 (CD26low/int)・CD26 陰性 (CD26nega) の三相性の特徴的な発現パターンを示し、それぞれが Naive・Central Memory・Effector Memory・Terminal Effector といった T 細胞の分化段階と密接に関係している (Immunology. 2013)。代表的な T 細胞共刺激分子である CD28 と組み合わせると CD8 T 細胞の CD26/CD28 の発現分布を解析した結果、意外なことに、ほとんどの悪性中皮腫患者の末梢血 CD8 T 細胞は、Terminal Effector を意味する CD26nega CD28nega の割合が非常に高く、健常者と比較して末梢血中の CD8 T 細胞が異常に活性化した状態にあることが示唆された (2018 度報告書に記載)。血清の解析と同様に、PD、short SD、long SD・PR に分類して解析を行った結果、健常者と比較して悪性中皮腫患者の末梢血 CD8 T 細胞は、細胞傷害性エフェクター T 細胞のマーカーである CD26 陰性・CD28 陰性の割合が顕著に高いが、特に long SD・PR 症例ではその割合が高い傾向が見られた。また、抗原感作マーカーである KLRG1 の陽性率においても、特に long SD・PR 症例ではその割合が高い傾向が見られ、細胞傷害性エフェクター T 細胞マーカーである CD57 の陽性率においても同様の傾向が見られた。

免疫系に抑制シグナルを伝達するチェックポイント分子には、既に治療薬として承認されている CTLA4、PD1 に加え、現在臨床試験が行われている LAG3、その他 TIM3、TIGIT、

BTLA, CD160, 2B4(CD244)などがある。健常者、悪性中皮腫患者ともに末梢血 CD4 T 細胞・CD8 T 細胞に CTLA4, LAG3, CD160 はほとんど発現しておらず(陽性率 0-3%)、TIM3 と BTLA の発現陽性率も 5%未満と非常に低かった。一方、PD1, TIGIT, 2B4, CD39, CD73 は明確な発現が認められた。

今回の CD26 抗体の国内第 I/II 相臨床試験には、抗ヒト PD1 抗体ニボルマブを投与して無効だったニボルマブ無効例の患者も含まれている。末梢血 CD4 T 細胞・CD8 T 細胞の PD1 陽性率を解析した結果、ニボルマブ投与経験のあるニボルマブ無効例では CD4 T 細胞・CD8 T 細胞ともに PD1 の陽性率が極端に低かった。このことは、今回のフローサイトメトリーの解析に用いた PD1 抗体(clone EH12. 2H7)のエピトープがニボルマブのエピトープと重複しているために、PD1 に結合できなかつたか、もしくはニボルマブの投与によって PD1 陽性細胞が減少していたかによるものと考えられる。そこで、PD1 の解析はニボルマブ投与歴のない患者に絞って行った結果、long SD・PR 症例では末梢血 CD4 T 細胞・CD8 T 細胞ともに PD1 陽性率が高い傾向が見られた。TIGIT に関しては、CD4 T 細胞では健常者と悪性中皮腫患者との間で大きな違いは見られなかったが、CD8 T 細胞の TIGIT 陽性率は中皮腫患者の方が健常者よりも高く、特に long SD・PR 症例で高い傾向が見られた。

10) 国内第 I / II 相臨床試験での病理解析について

国内第 I/II 相臨床試験(第 I 相は 9 例中 6 例、第 II 相では 31 例全例)における悪性中皮腫 37 症例について、病理組織像および R&D 社ポリクローナル抗体による免疫染色(フランスでの治験と同一の方法、A 法)お

よび新規コンパニオン診断キット(B 法)による CD26 発現について検討した。37 症例の組織型は、上皮型 29 例、二相型 5 例、肉腫型 3 例であった。なお 37 例中 1 例は腫瘍細胞が数個のみであったため評価対象外とし、36 例の検体で CD26 発現の評価を行なった。A 法での結果では、CD26 発現は、上皮型で 5%以下 1 例、5%~50% 3 例、50%~70% 11 例、70%~100% 13 例であり、二相型では、2%、12%、20%、70%がそれぞれ 1 例、肉腫型では 2%、5%、50%がそれぞれ 1 例であった。これらの症例の中で CD26 発現と YS110 治療効果の関係をみると、Stable disease(SD)以上の効果が見られた上皮型の症例は陽性率が 30%であったが、二相型と肉腫型では陽性率が 1%、2%の症例にも SD が認められた。症例数が少ないため、組織型および CD26 発現と YS110 効果との統計学的な有意な相関関係は明らかではないが、CD26 陽性率と治療効果には相関関係はなさそうであった。

また FFPE 臨床検体における CD26 発現評価のために新規開発した B 法と上記 A 法との比較を行った。その結果、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 例であったのに対して、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。それぞれの組織型における CD26 陽性率 20%以上の症例は、上皮型 29 例中 A 法 B 法ともに 27 例、二相型 5 例中 A 法 2 例、B 法 3 例、肉腫型 3 例中 A 法 1 例、B 法 2 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。また正常ヒト組織、特に肝臓や腎臓において、B 法にお

いて A 法よりも鮮明な染色結果が得られる組織が確認された。

今回 CD26 染色標本と HE 染色標本により、中皮腫瘍部分へのリンパ球並びに CD26 陽性単核細胞（リンパ球と単球等）浸潤について治療効果との比較を行った。細胞浸潤の解析は、半定量的評価（+1, +2, +3 の 3 段階評価）を行った。その結果、long SD 5 症例中では腫瘍浸潤リンパ球 3+が 4 症例、+1 が 1 症例であり、治療効果が長い症例では CD26+単核細胞浸潤が多い傾向があった。一方、PD16 症例では、腫瘍浸潤リンパ球が 3+は 3 症例、+2 は 5 症例、+1 は 8 症例であり、CD26+単核細胞浸潤が少ない傾向が窺われた。

11) ヒト免疫化マウスの作製

ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果を検討するためには、ヒト免疫細胞が生着したヒト免疫化マウスを作製する必要がある。そのためには、重度の免疫不全マウスである NOG マウスに低線量の放射線を照射し、ヒトの造血幹細胞を移植する必要があるが、臨床現場で造血幹細胞移植を行う際にも解凍から移植までの時間は非常に重要と考えられている。ヒト臍帯血 CD34 陽性造血幹細胞を購入している RIKEN BioResource Center が公開しているプロトコルと、NOG マウスを開発した実験動物中央研究所が公開しているプロトコルを比較検討して RIKEN BioResource Center が公開しているプロトコルではヒト T 細胞の発生が安定して確認され、洗浄 buffer や遠心時間を改変した我々が樹立したプロトコルでは検討した全てのマウスでヒト T 細胞の発生が漏れなく確認された。ヒト造血幹細胞を移植して 10 週間経過するまではマウスの血中のヒト免疫細胞の約 90%が B 細胞 (CD20 陽性) で、10

週以降はヒト CD4 T 細胞 (CD3 陽性 CD4 陽性)・CD8 T 細胞 (CD3 陽性 CD8 陽性) の割合が徐々に増えていき 14 週目ではヒトの血球細胞の約 20%が T 細胞、18 週目では約 30%が T 細胞であることが確認された。このモデルではヒト NK 細胞 (CD56 陽性) は 1-2%程度、ヒト単球細胞 (CD14 陽性) は約 1%程度であった。悪性中皮腫細胞株 JMN は、in vivo での増殖が非常に遅く、マウスの皮下に移入してから腫瘍を形成するまでに 5-6 週間かかるため、マウス体内でヒト T 細胞の細胞数が増えてくる造血幹細胞移植 13 週目に JMN 細胞株を皮下移入することとした。

12) ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果の検討

JMN 細胞株をヒト免疫化マウスの側腹部に皮下移入して 5 週間経過し、小さな腫瘍形成を確認した時点から、control human IgG1, ヒト化 CD26 抗体単独, mouse anti-human PD-1 mAb (以下、PD-1 抗体) 単独, ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体の併用をそれぞれ 200 μ g/dose で週 3 回投与を続けた。腫瘍サイズを週に 2 回採寸した結果、control 抗体投与群と比較して、CD26 抗体単独 (YS alone)、PD-1 抗体単独 (PD1 alone) それぞれで腫瘍増殖の抑制が見られたが、両抗体投与群 (YS+PD1) ではさらに腫瘍サイズが小さいことが示された。JMN 移入 9 週間後にマウスを解剖し、皮下の腫瘍を回収して一部は病理学的解析を行い、残りは腫瘍内浸潤リンパ球の精製に用いてフェノタイプの解析を行っている。現時点でまだ各群の n 数が少ないが、解剖する 9 週時点での腫瘍体積および回収した腫瘍重量の両方で、control 群と YS alone 群、または control 群と PD1 alone 群で有意差は認められない一方、control 群と

YS+PD1 群で $p < 0.05$ の有意差が認められ (Fisher の多重比較検定)、両抗体の併用効果が期待される。

D. 考察

3年間の解析により、CD26 抗体の予後・治療効果を予測する新規バイオマーカー候補として、血清では SDF-1 α , β /CXCL12・MIP-1d/CCL15・MCP1/CCL2、また、PR・SD 症例と PD 症例とを判別するマーカー候補として、Gro-b/CXCL2・CTACK/CCL27・MCP2/CCL8 を見出した。ケモカインはケモカインレセプターとの関係性が 1 対 1 対応しておらず、1 種類のケモカインが複数のケモカインレセプターに結合することや、複数種類のケモカインが 1 つのケモカインレセプターに結合する関係にあり、細胞遊走活性だけでも非常に複雑で多様な作用が考えられる。今回の解析の結果、CD26 抗体が有効な症例では血清中のこれらのケモカイン濃度がいずれも低値を示しており、今後、これらのケモカインの機能の詳細を調べ、ヒト化 CD26 抗体の作用機序との関係性について考察する必要がある。

フランスでの第 I 相臨床試験の臨床検体データの解析により、YS110 投与前後における血清中 sCD26 titer の変動 (V) が治療効果 (RECIST 判定による直接抗腫瘍効果、及び無増悪生存期間 PFS に対する効果) を予測できるバイオマーカーであることが統計学的に示された。フランスでの第 I 相臨床試験において観察された YS110 投与と V との関係 (YS110 による血清中 sCD26 titer の低下) について、そのメカニズムを解明するために *in vitro* での検証を行った。CD26 陽性の MPM 細胞株及び CD26 陽性の正常細胞 (非腫瘍細胞)

のどちらもから sCD26 が産生されること、また、YS110 添加により腫瘍、正常細胞のどちらに対しても YS110 の容量依存的に sCD26 産生が阻害されることが示された。この結果は、YS110 の臨床試験で観察される YS110 投与後の血清中 sCD26/DPP4 titer の顕著な低下の理由の一つと考えられる。フランスでの第 I 相臨床試験の血清中 sCD26/DPP4 titer の結果では、YS110 を投与した当日に大幅に減少し、次に YS110 を投与するまでの間に sCD26/DPP4 titer は徐々に回復し、YS110 を投与すると再び減少する変動パターンを示している (Br J Cancer. 2017)。YS110 投与直後の Day1Post, Day15Post, Day29Post ではいずれも SD 症例と PD 症例の間で血清中 sCD26/DPP4 titer に有意な差は見られなかった。一方で、2 週に一度の頻度で YS110 を投与して 3 回目の抗体を投与する前 (Day29Pre) の血清中 sCD26/DPP4 titer は、PD 症例と比較して SD 症例で有意に低いことが示された。これらの結果から、SD/PD に関わらず YS110 投与直後は血清中 sCD26/DPP4 titer は同等に低下するが、YS110 投与後の血清中 sCD26/DPP4 titer の回復が SD 症例と比較して PD 症例では早い、もしくは強いことが考えられる。

国内第 I/II 相臨床試験では毎週 1 回投与のうへ 6mg/kg の高容量であったためか抗体 3 回目投与 (day 15 pre) の時点ですべての症例が低値で維持されていた。このことから抗体投与後に下がった血清可溶性 CD26 値/DPP4 酵素活性値の変動 (回復) を解析するためには抗体を毎週 1 回高容量投与するプロトコルでは day2 から day8pre にかけて今回の day15pre より早い段階での血清採取解析が必要と考えられる。

USP22 の研究結果はヒト化 CD26 抗体処理が核内の USP22 を減少させることで、中皮腫細胞の増殖を抑制することを強く示唆している。さらに、USP22 による細胞周期調節と中皮腫細胞の増殖における、ヒト化 CD26 抗体の影響のモデルであるが、恒常的な USP22 の高発現はヒストン H2A の脱ユビキチン化を安定化し、ヘテロクロマチンをサイレンシングすることで p21 発現を抑制し、その結果、腫瘍の異常増殖を引き起こす。一方、ヒト化 CD26 抗体処理による CD26 の核移行は核内の CD26-USP22 複合体形成を引き起こし、核内の USP22 量を減少させる。これにより、ヘテロクロマチンサイレンシングが解除され、CDKI p21 を含む特定の遺伝子を活性化し、腫瘍の増殖を抑制すると考えられる。

本研究により CD26 抗体処理による細胞周期停止および CDKI p21 の発現誘導の分子メカニズムを明らかにでき、USP22 は新たな治療ターゲットになり得、また USP22 の悪性中皮腫での発現評価はヒト化 CD26 抗体の治療反応性予測などのバイオマーカーとなる可能性も示唆された。

我々の研究結果から新規コンパニオン診断キットによる免疫染色法 (B 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。

中皮腫腫瘍部分へのリンパ球並びに CD26 陽性単核細胞 (リンパ球と単球等) 浸潤について治療効果との比較では、リンパ球浸潤の程度が強い群で長期の治療効果が得られており、これらの浸潤リンパ球には、CD26 発現リンパ球が含まれており、その浸潤程度も治療効果と相関がある可能性がある。一方、PD16 症例では、腫瘍浸潤リンパ球が CD26+ 単核細胞浸潤が少なく、CD26 陽性単核細胞

も少ない傾向が明らかであった。今回の解析では浸潤リンパ球並びに CD26 陽性単核細胞の分画の詳細は明らかにできなかったが、中皮腫に浸潤しているリンパ球はこれまでの染色結果から、CD4+あるいは CD8+の T リンパ球が主体で、少数の CD68+単球が含まれることが明らかとなっている。また今回、long SD 5 症例中 4 症例では、腫瘍における CD26 発現がそれぞれ 2%, 5%, 5%, 100%であるにもかかわらず、抗体療法の長期間の効果が見られたことと併せると、これらの腫瘍浸潤 CD26+単核細胞へ抗体が作用した可能性がある。本抗体の新たな作用機序の可能性も考慮する必要があるかもしれない。

がん微小環境に浸潤した T 細胞は、がん細胞自身が産生する免疫抑制性因子や PD1/PDL1・PDL2、CTLA4/CD80・CD86 に代表される免疫チェックポイント分子シグナルによって、エフェクター機能が抑制されていることが様々ながん種で報告されている。悪性中皮腫患者では末梢血 CD8 T 細胞中の細胞傷害性エフェクター T 細胞 (CD26 陰性 CD28 陰性 CD57 陽性 KLRG1 陽性) の割合が健常者と比較して明らかに高いことが示された。このような perforin と granzyme を発現する細胞傷害性エフェクター T 細胞は本来、ウイルスに感染した細胞やがん細胞を体内から除去するために働く細胞だが、悪性中皮腫患者の末梢血中にどうして細胞傷害活性を有する T 細胞がこれほど多く存在するのか、何の抗原に対して活性化された T 細胞なのか、アスベストばく露による慢性的な炎症が関係しているのかは興味深い疑問である。免疫チェックポイント分子の中で、悪性中皮腫患者の末梢血 CD8 T 細胞は TIGIT の発現陽性率が健常者よりも明白に高く、long SD・PR 症例では特

にPD1とTIGITの陽性率が高い傾向が見られた。免疫チェックポイント分子の発現はT細胞の活性化状態や血清中のTGF- β 濃度などに関係していることが予想される。このような末梢血中のT細胞のフェノタイプと、悪性中皮腫周囲に浸潤した腫瘍浸潤リンパ球のフェノタイプとの関係性については是非検討したい課題である。

ヒト化CD26抗体の副作用が少ない利点を活かした新たな併用療法を開発するために、ヒト免疫化マウスを用いたヒト悪性中皮腫株担癌モデルにて、ヒト化CD26抗体とPD1抗体との併用効果を検討し、相乗作用が得られた。

CD26はヒトT細胞に活性化シグナルを伝達するT細胞共刺激分子でもあり、ヒト化CD26抗体はCD26のリガンドであるcaveolin-1とCD26との結合、つまりはT細胞へのCD26共刺激シグナルの伝達をブロックする。一方で、マウスT細胞のCD26は共刺激分子として機能しない。T細胞以外の免疫細胞におけるCD26の発現に関しても、ヒトではT細胞以外はNKT細胞でCD26発現が見られるが、B細胞やNK細胞ではCD26はほとんど発現していないのに対し、マウスではB細胞でもT細胞と同等の弱陽性を示す。このように、T細胞における機能や免疫細胞における発現パターンなどがヒトとマウスとは大きな違いがあるため、免疫系におけるCD26の機能解析ではヒト免疫系での解析が不可欠である。ICIが抗腫瘍効果を発揮するためには、T細胞を中心とした免疫系の存在が不可欠であることから、ヒト化CD26抗体とICIとの併用効果を検討する実験にはヒト免疫化マウスを用いる必要がある。

CD26の機能の一つに dipeptidyl

peptidase 4 (DPP4) 酵素活性があり、近年、マウス担癌モデルにおいて、DPP4 inhibitor (Sitagliptin) をエサと一緒にマウスに食べさせることで、腫瘍免疫が増強し、腫瘍サイズが縮小することが報告された (Nat Immunol. 2015, 2019)。そのメカニズムとして、がん微小環境から産生されるケモカインの中で DPP4 酵素の基質の一つである IP-10/CXCL10 と Eotaxin/CCL11 に着目し、本来は産生されたそれらのケモカインが DPP4 酵素による切断を受けると活性が低下するのに対し、DPP4 inhibitor 摂取により活性が維持されると、レセプターである CXCR3 陽性の CD4 T 細胞、CD8 T 細胞、NK 細胞や CCR3 陽性の好酸球ががん細胞周囲により集積し、腫瘍を攻撃しやすくなる。フランス及び国内のヒト化 CD26 抗体の臨床試験の結果から、CD26 抗体を投与すると血清中の可溶性 CD26 量が低下し、それに伴い DPP4 酵素活性も低下する (Br J Cancer. 2017, 論文投稿中)。このことから、CD26 抗体を投与した場合においても、がん細胞周囲に集積する免疫細胞数の増加が起こる可能性が考えられる。しかしながら、ヒト化 CD26 抗体はヒト CD26 に対する結合親和性が非常に高い一方で、マウス CD26 には結合しない。そのため、今回のヒト免疫化マウスを用いた担癌モデルにおいて、CD26 抗体はヒト T 細胞上の CD26 とヒト腫瘍細胞株上の CD26 には結合するが、マウスの血管内皮細胞や線維芽細胞などにも発現する CD26 には反応できず、それらのマウス CD26 にもヒト CD26 と同様に DPP4 酵素活性があるため、本来のがん患者に CD26 抗体を投与した時のような DPP4 酵素活性低下作用は期待できないと予想される。この点に関しても今後さらなる実験モデル

の改善が必要と考えられる。

E. 結論

1) 国内第 I/II 相臨床試験の最終集計結果を基に、これまでの血清及び末梢血リンパ球のデータの再解析を行い、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・MCP1 を見出し、また補足マーカーとして Gro-b・CTACK・MCP2 を見出した。また、末梢血リンパ球のフェノタイプ解析により、CD26 抗体有効例では特に CD8 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。

2) ヒト化抗 CD26 モノクローナル抗体 (YS110) による悪性胸膜中皮腫を主たる対象としたフランスにおける第 I 相臨床試験により得られた、YS110 投与に伴う血清中溶存 CD26/DPP4 (sCD26/DPP4) titer の変動を詳細に解析した結果、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。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。

3) USP22 の抑制は中皮腫細胞の増殖を抑制し、ヒト化 CD26 単クローン抗体処理は表面 CD26 を内在化させ、USP22 と物理的に接触させ、CDKI p21 の発現上昇で腫瘍増殖を抑制する。その一方で、ヒト化 CD26 抗体による CD26 標的化は USP22 を減少させることが可能なため、将来的には中皮腫のみならずさまざまな CD26 陽性がん、有用なアプローチになり得、またその悪性中皮腫での発現評価はヒト化 CD26 抗体の治療反応予測のバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

4) 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、半定量的解析法を終了し、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。また中皮腫における腫瘍浸潤リンパ球および腫瘍浸潤 CD26+単核細胞が本抗体療法の新たなバイオマーカーとなる可能性が示された。

5) ヒト免疫化マウスにヒト悪性中皮腫細胞株を皮下移入する担癌モデルにおいて、ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果を検討した結果、それぞれの単剤よりも強い腫瘍増殖抑制効果が見られることが示唆された。

F. 健康危険情報

現時点では特記すべき健康危険情報は無い。

G. 今後の展望

本研究課題の遂行により、国内第 I/II 相臨床試験は合計 40 症例で症例数の制約がある中、ヒト化 CD26 抗体の有効性を予測し得るいくつかの興味深いバイオマーカー候補を見出した。今後、CD26 抗体の臨床応用を目指すうえでこれらのバイオマーカー候補が有効性予測に役立つことを期待する。

H. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Ikeda T, Kobayashi S, Morimoto C. Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on ER stress-related genes and glutamate, γ -aminobutyric acid and glycine transporter genes in mouse brain. *Biochem Biophys Rep.* 2018; 17: 10-16
- 2) Nishida H, Hayashi M, Morimoto C, Sakamoto M, Yamada T. CD26 is a potential therapeutic target by humanized monoclonal antibody for the treatment of multiple myeloma. *Blood Cancer J.* 2018;

- 8(11): 99
- 3) Okamoto T, Yamazaki H, Hatano R, Yamada T, Kaneko Y, Xu CW, Dang NH, Ohnuma K, Morimoto C. Targeting CD26 suppresses proliferation of malignant mesothelioma cell via downmodulation of ubiquitin-specific protease 22. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018; 504(2): 491-498
 - 4) Ikeda T, Kobayashi S, Morimoto C. Gene expression microarray data from mouse CBS treated with rTMS for 30 days, mouse cerebrum and CBS treated with rTMS for 40 days. *Data Brief.* 2018; 17: 1078-1081.
 - 5) Ohnuma K, Hatano R, Komiya E, Otsuka H, Itoh T, Iwao N, Kaneko Y, Yamada T, Dang NH, Morimoto C. A novel role for CD26/dipeptidyl peptidase IV as a therapeutic target. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2018; 23: 1754-1779
 - 6) Okayama M, Kitabatake S, Sato M, Fujimori K, Ichikawa D, Matsushita M, Suto Y, Iwasaki G, Yamada T, Kiuchi F, Hirao M, Kunieda H, Osada M, Okamoto S, Hattori Y. A novel derivative (GTN024) from a natural product, komaroviquinone, induced the apoptosis of high-risk myeloma cells via reactive oxygen production and ER stress. *Biochem Biophys Res Commun.* , 2018 ; 505(3):787-793
 - 7) Inoue H, Shirakawa J, Togashi Y, Tajima K, Okuyama T, Kyohara M, Tanaka Y, Orime K, Saisho Y, Yamada T, Shibue K, Kulkarni RN, Terauchi Y. Signaling between pancreatic β cells and macrophages via S100 calcium-binding protein A8 exacerbates β -cell apoptosis and islet inflammation. *J Biol Chem.* 2018; 293(16):5934-5946
 - 8) Sato Y, Kujirai D, Emoto K, Yagami T, Yamada T, Izumi M, Ano M, Kase K, Kobayashi K. Necrotizing enterocolitis caused by *Clostridium butyricum* in a Japanese man. *Acute Med Surg.* 2018; 5(2): 194-198
 - 9) Kato K, Gemba K, Ashizawa K, Arakawa H, Honda S, Noguchi N, Honda S, Fujimoto N, Kishimoto T. Low-dose chest computed tomography screening of subjects exposed to asbestos. *European Journal of Radiology* 2018;101:124-128
 - 10) Nagamatsu Y, Oze I, Aoe K, Hotta K, Kato K, Nakagawa J, Hara K, Kishimoto T, Fujimoto N. Quality of life of survivors of malignant pleural mesothelioma in Japan: a cross sectional study. *BMC Cancer.* 2018;18:350
 - 11) Fujimoto N, Aoe K, Kozuki T, Oze I, Kato K, Kishimoto T, Hotta K. A Phase II Trial of First-Line Combination Chemotherapy With Cisplatin, Pemetrexed, and Nivolumab for Unresectable Malignant Pleural Mesothelioma: A Study Protocol. *Clin Lung Cancer.* 2018;19(5):e705-e707
 - 12) Kushitani K, Amatya VJ, Mawas AS, Suzuki R, Miyata Y, Okada M, Inai K, Kishimoto T, Takeshima Y. Utility of Survivin, BAP1, and Ki-67 immunohistochemistry in distinguishing epithelioid mesothelioma from reactive mesothelial hyperplasia. *Oncology Letters.*

- 2018; 15: 3540-3547.
- 13) Itoh T, Hatano R, Komiya E, Otsuka H, Narita Y, Aune TM, Dang NH, Matsuoka S, Naito H, Tominaga M, Takamori K, Morimoto C, Ohnuma K. Biological effects of IL-26 on T cell-mediated skin inflammation including psoriasis. *J Invest Dermatol.* 2019; 139(4): 878-889
 - 14) Santos MF, Rappa G, Karbanova J, Vanier C, Morimoto C, Corbeil D, Lorico A. Anti-human CD9 antibody Fab fragment impairs the internalization of extracellular vesicles and the nuclear transfer of their cargo proteins. *J Cell Mol Med.* 2019; 23(6): 4408-4421
 - 15) Mezawa Y, Daigo Y, Takano A, Miyagi Y, Yokose T, Yamashita T, Morimoto C, Hino O, Orimo A. CD26 expression is attenuated by TGF- β and SDF-1 autocrine signaling on stromal myofibroblasts in human breast cancers. *Cancer Med.* 2019; 8(8): 3936-3948
 - 16) Hatano R, Yamada T, Madokoro H, Otsuka H, Komiya E, Itoh T, Narita Y, Iwata S, Yamazaki H, Matsuoka S, Dang NH, Ohnuma K, Morimoto C. Development of novel monoclonal antibodies with specific binding affinity for denatured human CD26 in formalin-fixed paraffin-embedded and decalcified specimens. *PLoS One.* 2019; 14(6): e0218330
 - 17) Hatano R, Itoh T, Otsuka H, Okamoto S, Komiya E, Iwata S, Aune TM, Dang NH, Kuwahara-Arai K, Ohnuma K, Morimoto C. Characterization of novel anti-IL-26 neutralizing monoclonal antibodies for the treatment of inflammatory diseases including psoriasis. *MAbs.* 2019; 11(8): 1428-1442
 - 18) Hayashi M, Madokoro H, Yamada K, Nishida H, Morimoto C, Sakamoto M, Yanagawa H, Yamada T. Novel Antibody-Drug Conjugate with Anti-CD26 Humanized Monoclonal Antibody and Transcription Factor IIH(TFIIH) Inhibitor, Triptolide, Inhibits Tumor Growth via Impairing mRNA Synthesis. *Cancers (Basel).* 2019; 11(8): E1138
 - 19) Takeda T, Ohe Y, Horinouchi H, Hida T, Shimizu J, Seto T, Nosaki K, Kishimoto T, Miyashita I, Yamada M, Kaneko Y, Morimoto C, Nakagawa K. Phase I study of YS110, a recombinant humanized monoclonal antibody to CD26, in Japanese patients with advanced malignant pleural mesothelioma. *Lung Cancer* 2019; 137: 64-70
 - 20) Sato T, Tatekoshi A, Takada K, Iyama S, Kamihara Y, Jawaid P, Rehman MU, Noguchi K, Kondo T, Kajikawa S, Arita K, Wada A, Murakami J, Arai M, Yasuda I, Dang NH, Hatano R, Iwao N, Ohnuma K, Morimoto C. DPP8 is a novel therapeutic target for multiple myeloma. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 18094
 - 21) Ohnuma K, Hatano R, Dang NH, Morimoto C. Rheumatic diseases associated with immune checkpoint inhibitors in cancer immunotherapy. *Mod Rheumatol.* 2019; 29(5): 721-732
 - 22) Nishida H, Yamada T. Monoclonal Antibody Therapies in Multiple Myeloma:

- A Challenge to Develop Novel Targets. *J Oncol.* 2019; 2019: 6084012
- 23) Amatya VJ, Kushitani K, Mawas AS, Miyata Y, Okada M, Kishimoto T, Inai K, Takeshima Y. Reply to ‘MUC4 staining in sarcomatoid carcinomas’ by Berg et al. *Mod Pathol.* 2019; 32(1): 158
- 24) Sato H, Soh J, Aoe K, Fujimoto N, Tanaka S, Nanba K, Torigoe H, Shien K, Yamamoto H, Tomida S, Tao H, Okabe K, Kishimoto T, Toyooka S. Droplet digital PCR as a novel system for the detection of microRNA-34b/c methylation in circulating DNA in malignant pleural mesothelioma. *Int J Oncol.* 2019; 54(6): 2139-2148
- 25) Nagamatsu Y, Oze I, Aoe K, Hotta K, Kato K, Nakagawa J, Hara K, Kishimoto T, Fujimoto N. Physician requests by patients with malignant pleural mesothelioma in Japan. *BMC Cancer* 2019; 19(1): 383
- 26) Takada K, Fujimoto N, Ozeki T, Nishimura J, Miyamoto Y, Asano M, Fuchimoto Y, Wada S, Ozaki S, Igawa T, Sonobe H, Kishimoto T. Small intestinal intussusception in an adult. *J Clin Pathol.* 2019; 72(7): 510
- 27) Okada M, Kijima T, Aoe K, Kato T, Fujimoto N, Nakagawa K, Takeda Y, Hida T, Kanai K, Imamura F, Oizumi S, Takahashi T, Takenoyama M, Tanaka H, Hirano J, Namba Y, Ohe Y. Clinical Efficacy and Safety of Nivolumab: Results of a Multicenter, Open-label, Single-arm, Japanese Phase II study in Malignant Pleural Mesothelioma (MERIT). *Clin Cancer Res.* 2019; 25(18):5485-5492
- 28) Kishimoto T, Fujimoto N, Ebara T, Omori T, Oguri T, Niimi A, Yokoyama T, Kato M, Usami I, Nishio M, Yoshikawa K, Tokuyama T, Tamura M, Yokoyama Y, Takahashi S, Abdelsied M, Alexander W T, Alexander D B, Tsuda H. Serum levels of the chemokine CCL2 are elevated in malignant pleural mesothelioma patients. *BMC Cancer.* 2019; 19(1): 1204
- 29) Fujimoto N. Immunocheckpoint Blockade in Malignant Pleural Mesothelioma. *IntechOpen.* DOI: 10.5772/intechopen.89116. (September 5th, 2019)
- 30) Corridoni D, Antanaviciute A, Gupta T, Fawcner-Corbett D, Aulicino A, Jagielowicz M, Parikh K, Repapi E, Taylor S, Ishikawa D, Hatano R, Yamada T, Xin W, Slawinski H, Bowden R, Napolitani G, Brain O, Morimoto C, Koohy H, Simmons A. Single-cell atlas of colonic CD8+ T cells in ulcerative colitis. *Nat Med.* 2020;26(9):1480-1490
- 31) Kaneko Y, Hatano R, Hirota N, Isambert N, Trillet-Lenoir V, You B, Alexandre J, Zalcman G, Valleix F, Podoll T, Umezawa Y, Takao S, Iwata S, Hosono O, Taguchi T, Yamada T, Dang NH, Ohnuma K, Angevin E, Morimoto C. Serum soluble CD26/DPP4 titer variation is a potential prognostic biomarker in cancer therapy with a humanized anti-CD26 antibody. *Biomarker Research* (in press)
- 32) Sumiyoshi M, Kotani Y, Ikuta Y, Suzue K, Ozawa M, Katakai T, Yamada T, Abe T, Bando K, Koyasu S, Kanaho Y,

- Watanabe T, Matsuda S. Arf1 and Arf6 Synergistically Maintain Survival of T Cells during Activation. *J Immunol.* 2021;206(2):366-375
- 33) Nishikawa A, Suemori T, Aoki R, Suzuki S, Uebayashi K, Miura E, Shimoda M, Yamada T. Appendiceal adenocarcinoma critically diagnosed by fine-needle aspiration cytology: A letter to the editor. *Cytopathology.* 2020; 31: 362-363
- 34) Sasaki H, Saisho Y, Inaishi J, Watanabe Y, Tsuchiya T, Makio M, Sato M, Kitago M, Yamada T, Itoh H. Associations of birth weight and history of childhood obesity with beta cell mass in Japanese adults. *Diabetologia.* 2020; 63(6):1199-1210
- 35) Hotta K, Fujimoto N. Current evidence and future perspectives of immune-checkpoint inhibitors in unresectable malignant pleural mesothelioma. *J Immunother Cancer.* 2020; 8(1): e000461
- 36) Hotta K, Fujimoto N, Kozuki T, Aoe K, Kiura K. Nivolumab for the treatment of unresectable pleural mesothelioma. *Expert Opin Biol Ther.* 2020; 20(2):109-114
- 37) Kishimoto T, Fujimoto N, Mizuhashi K, Kozawa S, Miura M. Retrospective investigation on diagnostic process for benign asbestos pleural effusion (BAPE) using checklist. *J Occup Health.* 2020; 62(1): 12182
- 38) Baas P, Scherpereel A, Nowak AK, Fujimoto N, Peters S, Tsao AS, Mansfield AS, Popat S, Jahan T, Antonia S, Oulkhovir Y, Bautista Y, Cornelissen R, Greillier L, Grossi F, Kowalski D, Rodríguez-Cid J, Aanur P, Oukessou A, Baudelet C, Zalcman G. First-line nivolumab plus ipilimumab in unresectable malignant pleural mesothelioma (CheckMate 743): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *The Lancet.* 2021; 397(10272):375-386
- 39) Fujimoto N. An appropriate choice for immunotherapy in malignant pleural mesothelioma. *EBio Medicine.* 2020; 62: 103057
- 40) 大沼圭、波多野良、森本幾夫. 抗 CD26 抗体. *腫瘍内科* 2018;22:190-197
- 41) 野村伽奈子、亀谷友里理恵、原桂子、中川淳子、池元友子、菊池馨、岸本卓巳、藤本伸一. 胸膜中皮腫患者の経時的ケアニーズと QOL 向上のための支援. *日職災医誌.* 2018; 66: 164-71
- 42) 岸本卓巳、藤本伸一. 胸膜中皮腫初診時の胸部 CT 画像の検討について. *日職災医誌.* 2018; 66: 239-245
- 43) 岩尾憲明, 大沼圭, 波多野良, 大塚春奈, 古宮栄利子, 伊藤匠, 森本幾夫. GVHD の発症と慢性炎症. 別冊 *Bio Clinica: 慢性炎症と疾患,* 2019; 8(1): 120-125
- 44) 岸本卓巳. 石綿 (アスベスト) が人体に与える影響. *産業保健* 21. 2019; 25(1): 5-7
- 45) 岸本卓巳、藤本伸一、加藤勝也、井内康輝. 石綿関連疾患の診断と治療 Diagnosis and treatment of asbestos related diseases. *産業医学レビュー.* 2019; 32(2): 99-130
- 46) 藤本伸一. 石綿 (アスベスト) 関連肺・

胸膜疾患の的確な診断と新規治療法の導入. 産業保健 21. 2019; 25(1): 17

- 47) 藤本伸一. 胸膜・腹膜の病理 胸膜・腹膜疾患への臨床的アプローチ -治療を中心として-. 病理と臨床 2019; 37(11): 1055-1061
- 48) 山田健人 免疫染色の基礎: 抗原賦活法、増感法、ラビット抗体. 病理と臨床 免疫組織化学. 2020; 38 巻臨時増刊号: 38-42

2. 著書

- 1) Hatano R, Ohnuma K, Yamada T, Okamoto T, Komiya E, Otsuka H, Itoh T, Yamazaki H, Iwao N, Kaneko Y, Dang NH, Morimoto C. The use of the humanized anti-CD26 monoclonal antibody YS110 as a novel targeted therapy for refractory cancers and immune disorders. In: *Advances in Medicine and Biology*, Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, Editor: Leon V. Berhardt, Volume 129: Chapter 1: 1-44, 2018
- 2) Okamoto T, Hatano R, Nakano K, Yamada T, Yamazaki H, Kaneko Y, Dang NH, Morimoto C, Ohnuma K. Regulation of proliferation of malignant mesothelioma cells by CD26-cyclophilin A molecular complex. In: *Advanced in Medicine and Biology*. Nova Science Publishers, Inc., Hauppauge, NY, Editor: Leon V. Berhardt, 2019; Volume 156: Chapter 8: 165-185
- 3) 岸本卓巳. 石綿関連疾患研究の現在. 産業医学のプリンシプル〜大切なこと - 産業医学振興財団 40 周年記念誌- 「産業医学ジャーナル」編集委員会編. 公益

財団法人産業医学振興財団.
2018;247-50 (東京)

3. 学会発表

- 1) Okayama M, Kitabatake S, Sato M, Fujimori K, Samata K, Ichikawa D, Matsushita M, Suto Y, Iwasaki G, Yamada T, Kiuchi F, Hirao M, Kunieda H, Osada M, Okamoto S, Hattori Y. A novel komaroviquinone derivative, GTN024, induced apoptosis of high-risk myeloma cells in vivo via ROS production and ER stress. The 60th American Society of Hematology Annual Meeting in San Diego, California, 2018
- 2) Yamada T, Madokoro H, Yamada K, Nishida H, Morimoto C, Sakamoto M, Hayashi M. Anti-CD26 Humanized Monoclonal Antibody Conjugated To Triptolide Inhibits Mesothelioma Cell Growth Via Transportation Into Nucleus And Impaired RNA Polymerase II. The 6th JCA-AACR Special Joint Conference, The Latest Advances in Lung Cancer Research: From Basic Science to Therapeutics, July 10-12, 2018 (Kyoto Tokyu Hotel, Kyoto, Japan)
- 3) Komiya E, Hatano R, Itoh T, Otsuka H, Ohnuma K, Tominaga M, Morimoto C, Takamori K. CD26/DPPIV regulates mechanical itch by enzymatic degradation of mu-opioid receptor ligands. 24th World Congress of Dermatology (WCD), Milan, 2019.6.15
- 4) Komiya E, Hatano R, Itoh T, Otsuka H, Kamata Y, Honda K, Toyama S, Moniaga

- CS, Ohnuma K, Tominaga M, Morimoto C, Takamori K. Possible role for CD26/DPPIV in regulating mechanical itch (Alloknesis). 28th European Academy of Dermatology and Venereology (EADV) Congress, Madrid, 2019.10.9
- 5) Komiya E, Hatano R, Itoh T, Otsuka H, Kamata Y, Honda K, Toyama S, Moniaga CS, Ohnuma K, Tominaga M, Morimoto C, Takamori K. Possible regulation of mechanical itch by CD26/DPPIV. 10th World Congress on Itch (WCI), Sydney, 2019.11.17
- 6) 伊藤匠、波多野良、岩田哲史、大沼圭、森本幾夫. 難治性自己免疫疾患における新規炎症性サイトカイン IL-26 の役割と分子標的療法の開発. 第 62 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2018 年 4 月 26 日、東京 (東京国際フォーラム)
- 7) 波多野良、大沼圭、石井智徳、伊藤匠、岩田哲史、奥村康、関川巖、森本幾夫. 全身性エリテマトーデスのステロイド減量困難例における CD26 陰性 T 細胞サブセットの増加について. 第 62 回日本リウマチ学会総会・学術集会 2018 年 4 月 26 日、東京 (東京国際フォーラム)
- 8) 稲田博輝、山田健人、佐々木惇 肺癌との鑑別を要した縦隔原発混合性胚細胞腫瘍の一例. 第 59 回日本臨床細胞学会総会 (春期大会)、2018 年 2018 年 6 月 1 日～3 日、札幌 (ロイトン札幌)
- 9) 福島和彦、大西章史、北川正史、田邊克幸、木野村賢、喜多村真治、小崎晋司、杉山斉、金廣有彦、岸本卓巳、和田淳. 珪肺に続発したループス腎炎の 1 例. 第 61 回日本腎臓学会学術総会 2018 年 6 月 8 日、新潟 (ホテル日航新潟)
- 10) 金田光平、市村隆也、塩田 敬、山田健人、佐々木惇. 多発性骨髄腫で加療中に粟粒結核を合併した一死亡例. 第 107 回日本病理学会総会、2018 年 6 月 21 日～23 日、札幌 (ロイトン札幌他)
- 11) 松永洸昂、三井絵里花、金玲、山田健人、佐々木惇. DIC を呈した骨髄増殖性腫瘍の 1 剖検例. 第 107 回日本病理学会総会、2018 年 6 月 21 日～23 日、札幌 (ロイトン札幌他)
- 12) 山田健人、間所裕子、西田浩子、森本幾夫、坂元亨宇、林睦. Anti-CD26 humanized antibody-triptolide conjugate moves into nucleus and impairs RNA polymerase II. 第 107 回日本病理学会総会、2018 年 6 月 21 日、札幌 (ロイトン札幌他)
- 13) 伊藤匠、波多野良、古宮栄利子、大塚春奈、富永光俊、高森建二、森本幾夫、大沼圭. 乾癬における新規炎症性サイトカイン IL-26 の役割と分子標的療法の開発. 第 33 回日本乾癬学会学術大会 2018 年 9 月 7 日、松山 (松山全日空ホテル)
- 14) 古宮栄利子、波多野良、大塚春奈、伊藤匠、大沼圭、富永光俊、森本幾夫、高森建二. CD26 分子は DPPIV 酵素活性によって乾癬のかゆみを調節する. 第 33 回日本乾癬学会学術大会、2018 年 9 月 7 日、松山 (松山全日空ホテル)
- 15) 古宮栄利子、波多野良、伊藤匠、松田浩則、大沼圭、森本幾夫、富永光俊、高森建二. CD26/DPPIV はエンドモルフィンによる機械的かゆみを制御する. 第 28 回国際かゆみシンポジウム、2018 年 9

- 月 29 日、東京（経団連会館カンファレンス）
- 16) 岡山幹夫、北畠翔太郎、佐藤真梨子、藤森宏太、佐俣光一、市川大樹、松下麻衣子、須藤豊、岩崎源治、山田健人、木内文之、岡本真一郎、服部豊. **Structural modification of natural product, komaroviquinone, showed anti-myeloma activities.** 第 80 回日本血液学会学術集会 2018 年 10 月 12 日～14 日、大阪（大阪国際会議）
- 17) 波多野良、大塚春奈、古宮栄利子、伊藤匠、岩尾憲明、山田健人、森本幾夫、大沼圭. **Interleukin-26-targeted therapy for the control of chronic GVHD.** 第 80 回日本血液学会学術集会 2018 年 10 月 12 日、大阪（大阪国際会議場）
- 18) 大塚義紀、加藤宗博、岸本卓巳、芦澤和人、加藤勝也、水橋啓一、木村清延、猪又崇史、藤本伸一、横山多佳子、河村義雄. **じん肺の研究・開発、普及 第 4 期研究計画について 特に喀痰中エラストラーゼ活性の測定について.** 第 66 回日本職業・災害医学会学術大会、2018 年 10 月 20 日、和歌山（ホテルグランヴィア和歌山）
- 19) 岸本卓巳、藤本伸一、藤木正昭、妹尾純江、宮原基平. **石綿肺がん患者における肺内石綿小体・繊維に関する研究.** 第 66 回日本職業・災害医学会学術大会、2018 年 10 月 20 日、和歌山（ホテルグランヴィア和歌山）
- 20) 岸本卓巳. **石綿による肺癌発生に対する禁煙の重要性について.** 第 12 回日本禁煙学会学術集会 2018 年 11 月 10 日、高松（かがわ国際会議場サンポート高松）
- 21) 古宮栄利子、波多野良、大塚春奈、伊藤匠、松田浩則、須賀康、大沼圭、富永光俊、森本幾夫、高森建二. **機械的かゆみの調節メカニズムの解明.** 第 82 回日本皮膚科学会東京支部、2018 年 12 月 1 日、東京（ザ・プリンスタワー東京）
- 22) 古宮栄利子、富永光俊、波多野良、伊藤匠、大塚春奈、本田耕太郎、外山扇雅、鎌田弥生、大沼圭、森本幾夫、高森建二. **加齢皮膚で誘発される機械的かゆみ調節機構の解明.** 第 15 回加齢皮膚医学研究会、2019 年 3 月 9 日、熊本（くまもと森都心プラザ）
- 23) Hiroko Nishida, Mutsumi Hayashi, Chikao Morimoto, Michiie Sakamoto, Taketo Yamada. **CD26 is a potential therapeutic target by humanized monoclonal antibody in multiple myeloma.** 第 108 回日本病理学会総会、東京、2019 年 5 月 10 日
- 24) 古宮栄利子、波多野良、富永光俊、伊藤匠、鎌田弥生、本田耕太郎、外山扇雅、カタリナサギタモニアガ、大沼圭、森本幾夫、高森建二. **CD26/dipeptidyl-peptidase IV は機械的かゆみの抑制因子である.** 第 24 回日本病態プロテアーゼ学会、岐阜、2019 年 8 月 2 日
- 25) 山田健人、坂元亨宇、森本幾夫、林睦. **Anti-CD26 humanized antibody-triptolide conjugate transports into nucleus and inhibits RNA polymerase II activity.** 第 78 回日本癌学会学術総会、京都、2019 年 9 月 27 日
- 26) Hiroko Nishida, Mustumi Hayashi, Chikao Morimoto, Michiie Sakamoto, Taketo Yamada. **Humanized anti-CD26**

- monoclonal antibody clonogenic side population cells in multiple myeloma. 第 81 回 日本血液学会学術集会, 東京, 2019 年 10 月 12 日
- 27) Hayashi M, Madokoro H, Yamada T. Anti-CD26 Humanized Monoclonal Antibody Conjugated to Triptolide Inhibits Tumor Cell Growth via Transportation into Nucleus and Impaired RNA Polymerase II. 第 42 回日本分子生物学会年会, 福岡, 2019 年 12 月 3 日
- 28) Komiya E, Hatano R, Itoh T, Honda K, Kamata Y, Toyama S, Moniaga CS, Otsuka H, Takahashi N, Ohnuma K, Tominaga M, Morimoto C, Takamori K. Endomorphin preferentially induces mechanical allodynia under the control of DPP-IV enzyme. The 45th Annual Meeting of the Japanese Society for Investigative Dermatology, web 開催, 2020 年 12 月 11 日
- 29) 古宮栄利子, 富永光俊, 大沼圭, 森本幾夫, 高森健二. 末梢 μ -オピオイドによるアロネーシス制御機構の解明. 第 29 回国際痒みシンポジウム, web 開催, 2021 年 3 月 6 日
- 医科大学 (共同出願)
- 2) 名称: 免疫チェックポイント阻害剤
発明者: 大沼圭, 森本幾夫, 波多野良
出願日: 2019 年 1 月 15 日(PCT 出願)
出願番号: 特願 2019-004480
出願人: 学校法人順天堂
- 3) 名称: 抗癌剤への抵抗性改善剤
発明者: 森本幾夫, 大沼圭, 波多野良, 伊藤匠, 金子有太郎
出願日: 2020 年 6 月 8 日
出願番号: 特願 2020-099449
出願人: ワイズ・エー・シー株式会社, 学校法人順天堂
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得
- 1) 名称: 抗ヒト CD26 モノクローナル抗体
発明人: 森本幾夫、波多野良、山田健人、大沼圭
出願日 : 2018 年 3 月 16 日(PCT 出願)
出願番号: 特願 2018-049308
出願人: 学校法人順天堂、学校法人埼玉

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

<研究成果の刊行に関する一覧表>

【書籍】

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Hatano R, Ohnuma K, Yamada T, Okamoto T, Komiya E, Otsuka H, Itoh T, Yamazaki H, Iwano N, Kaneko Y, Dang NH, Morimoto C	The use of the humanized anti-CD26 monoclonal antibody YS110 as a novel targeted therapy for refractory cancers and immune disorders.	Leon V. Berhardt	Advances in Medicine and Biology	Nova Science Publishers, Inc	USA	2018年	1-44
Okamoto T, Hatano R, Nakano K, Yamada T, Yamazaki H, Kaneko Y, Dang NH, Morimoto C, Ohnuma K	Regulation of proliferation of malignant mesothelioma cells by CD26-cyclophilin A molecular complex.	Leon V. Berhardt	Advances in Medicine and Biology	Nova Science Publishers, Inc	USA	2019年	165-185
岸本卓巳	石綿関連疾患研究の現在. 産業医学のプリンシプル～大切なこと	「産業医学ジャーナル」編集委員会	産業医学振興財団40周年記念誌	公益財団法人産業医学振興財団	東京	2018年	247-50

【雑誌】

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ikeda T, Kobayashi S, Morimoto C	Effects of repetitive transcranial magnetic stimulation on ER stress-related genes and glutamate, γ -aminobutyric acid and glycine transporter genes in mouse brain.	Biochem Biophys Rep.	17	10-16	2018

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nishida H, Hayashi M, Morimoto C, Sakamoto M, Yamada T	CD26 is a potential therapeutic target by humanized monoclonal antibody for the treatment of multiple myeloma.	Blood Cancer J.	8(11)	99	2018
Okamoto T, Yamazaki H, Hatano R, Yamada T, Kaneko Y, Xu CW, Dang NH, Ohnuma K, Morimoto C	Targeting CD26 suppresses proliferation of malignant mesothelioma cell via downmodulation of ubiquitin-specific protease 22.	Biochem Biophys Res Commun.	504(2)	491-498	2018
Ikeda T, Kobayashi S, Morimoto C	Gene expression microarray data from mouse CBS treated with rTMS for 30 days, mouse cerebrum and CBS treated with rTMS for 40 days.	Data Brief.	17	1078-1081	2018
Ohnuma K, Hatano R, Komiya E, Otsuka H, Itoh T, Iwao N, Kaneko Y, Yamada T, Dang NH, Morimoto C	A novel role for CD26/dipeptidyl peptidase IV as a therapeutic target.	Front Biosci (Landmark Ed)	23	1754-1779	2018
Okayama M, Kitabatake S, Sato M, Fujimori K, Ichikawa D, Matsushita M, Suto Y, Iwasaki G, Yamada T, Kiuchi F, Hirao M, Kunieda H, Osada M, Okamoto S, Hattori Y	A novel derivative (GTN024) from a natural product, komaroviquinone, induced the apoptosis of high-risk myeloma cells via reactive oxygen production and ER stress.	Biochem Biophys Res Commun.	505(3)	787-793	2018

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Inoue H, Shirakawa J, Togashi Y, Tajima K, Okuyama T, Kyohara M, Tanaka Y, Saisho Y, Yamada T, Shibue K, Kulkarni RN, Terauchi Y	Signaling between pancreatic β -cells and macrophages via S100 calcium-binding protein A8 exacerbates β -cell apoptosis and islet inflammation.	J Biol Chem.	293(16)	5934-5946	2018
Sato Y, Kujirai D, Emoto K, Yagami T, Yamada T, Izumi M, Ano M, Kase K, Kobayashi K	Necrotizing enterocolitis associated with <i>Clostridium butyricum</i> in a Japanese man.	Acute Med Surg.	5(2)	194-198	2018
Kato K, Gemba K, Ashizawa K, Arakawa H, Honda S, Noguchi N, Honda S, Fujimoto N, Kishimoto T	Low-dose chest computed tomography screening of subjects exposed to asbestos.	European Journal of Radiology	101	124-128	2018
Nagamatsu Y, Oze I, Aoe K, Hotta K, Kato K, Nakagawa J, Hara K, Kishimoto T, Fujimoto N	Quality of life of survivors of malignant pleural mesothelioma in Japan: a cross sectional study.	BMC Cancer.	18	350	2018
Fujimoto N, Aoe K, Kozuki T, Oze I, Kato K, Kishimoto T, Hotta K	A Phase II Trial of First-Line Combination Chemotherapy With Cisplatin, Pemetrexed, and Nivolumab for Unresectable Malignant Pleural Mesothelioma: A Study Protocol.	Clin Lung Cancer	19(5)	e705-e707	2018
Kushitani K, Amatya VJ, Mawas AS, Suzuki R, Miyata Y, Okada M, Inai K, Kishimoto T, Takeshima Y.	Utility of Survivin, BAP1, and Ki-67 immunohistochemistry in distinguishing epithelioid mesothelioma from reactive mesothelial hyperplasia.	Oncology Letters.	15	3540-3547	2018

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Itoh T, Hatano R, Komiya E, Otsuka H, Narita Y, Aune TM, Dang NH, Matsuoka S, Naito H, Tominaga M, Takamori K, Morimoto C, Ohnuma K	Biological effects of IL-26 on T cell-mediated skin inflammation including psoriasis.	J Invest Dermatol.	139(4)	878-889	2019
Santos MF, Rappa G, Karbanova J, Vanier C, Morimoto C, Corbeil D, Lorico A	Anti-human CD9 antibody Fab fragment impairs the internalization of extracellular vesicles and the nuclear transfer of their cargo proteins.	J Cell Mol Med.	23(6)	4408-4421	2019
Mezawa Y, Daigo Y, Takano A, Miyagi Y, Yokose T, Yamashita T, Morimoto C, Hino O, Orimo A	CD26 expression is attenuated by TGF- β and SDF-1 autocrine signaling on stromal myofibroblasts in human breast cancers.	Cancer Med.	8(8)	3936-3948	2019
Hatano R, Yamada T, Madokoro H, Otsuka H, Komiya E, Itoh T, Narita Y, Iwata S, Yamazaki H, Matsuoka S, Dang NH, Ohnuma K, Morimoto C	Development of novel monoclonal antibodies with specific binding affinity for denatured human CD26 in formalin-fixed paraffin-embedded and decalcified specimens.	PLoS One.	14(6)	e0218330	2019
Hatano R, Itoh T, Otsuka H, Okamoto S, Komiya E, Iwata S, Aune TM, Dang NH, Kuwahara-Arai K, Ohnuma K, Morimoto C	Characterization of novel anti-IL-26 neutralizing monoclonal antibodies for the treatment of inflammatory diseases including psoriasis.	MAbs.	11(8)	1428-1442	2019

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hayashi M, Madokoro H, Yamada K, Nishida H, Morimoto C, Sakamoto M, Yanagawa H, Yamada T	Novel Antibody-Drug Conjugate with Anti-CD26 Humanized Monoclonal Antibody and Transcription Factor IIIH(TFIIH) Inhibitor, Triptolide, Inhibits Tumor Growth via Impairing mRNA Synthesis.	Cancers (Basel).	11(8)	E1138	2019
Takeda T, Ohe Y, Horinouchi H, Hida T, Shimizu J, Seto T, Nosaki K, Kishimoto T, Miyashita I, Yamada M, Kaneko Y, Morimoto C, Nakagawa K	Phase I study of YS110, a recombinant humanized monoclonal antibody to CD26, in Japanese patients with advanced malignant pleural mesothelioma.	Lung Cancer	137	64-70	2019
Sato T, Tatekoshi A, Takada K, Iyama S, Kamihara Y, Jawaid P, Rehman MU, Noguchi K, Kondo T, Kajikawa S, Arita K, Wada A, Murakami J, Arai M, Yasuda I, Dang NH, Hatano R, Iwao N, Ohnuma K, Morimoto C	DPP8 is a novel therapeutic target for multiple myeloma.	Sci Rep.	9(1)	18094	2019
Ohnuma K, Hatano R, Dang NH, Morimoto C	Rheumatic diseases associated with immune checkpoint inhibitors in cancer immunotherapy.	Mod Rheumatol	29(5)	721-732	2019
Nishida H, Yamada T	Monoclonal Antibody Therapies in Multiple Myeloma: A Challenge to Develop Novel Targets.	J Oncol.	2019	6084012	2019

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Amatya VJ, Kushitani K, Mawas AS, Miyata Y, Okada M, Kishimoto T, Inai K, Takeshima Y	Reply to ‘MUC4 staining in sarcomatoid carcinomas’ by Berg et al.	Mod Pathol.	32(1)	158	2019
Sato H, Soh J, Aoe K, Fujimoto N, Tanaka S, Nanba K, Torigoe H, Shien K, Yamamoto H, Tomida S, Tao H, Okabe K, Kishimoto T, Toyooka S.	Droplet digital PCR as a novel system for the detection of microRNA-34b/c methylation in circulating DNA in malignant pleural mesothelioma.	Int J Oncol.	54(6)	2139-2148	2019
Nagamatsu Y, Oze I, Aoe K, Hotta K, Kato K, Nakagawa J, Hara K, Kishimoto T, Fujimoto N	Physician requests by patients with malignant pleural mesothelioma in Japan.	BMC Cancer	19(1)	383	2019
Takada K, Fujimoto N, Ozeki T, Nishimura J, Miyamoto Y, Asano M, Fuchimoto Y, Wada S, Ozaki S, Igawa T, Sonobe H, Kishimoto T	Small intestinal intussusception in an adult.	J Clin Pathol.	72(7)	510	2019
Okada M, Kijima T, Aoe K, Kato T, Fujimoto N, Nakagawa K, Takeda Y, Hida T, Kanai K, Imamura F, Oizumi S, Takahashi T, Takenoyama M, Tanaka H, Hirano J, Namba Y, Ohe Y	Clinical Efficacy and Safety of Nivolumab: Results of a Multicenter, Open-label, Single-arm, Japanese Phase II study in Malignant Pleural Mesothelioma (MERIT).	Clin Cancer Res.	25(18)	5485-5492	2019

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kishimoto T, Fujimoto N, Ebara T, Omori T, Oguri T, Niimi A, Yokoyama T, Kato M, Usami I, Nishio M, Yoshikawa K, Tokuyama T, Tamura M, Yokoyama Y, Takahashi S, Abdelsied M, Alexander W T, Alexander D B, Tsuda H	Serum levels of the chemokine CCL2 are elevated in malignant pleural mesothelioma patients.	BMC Cancer	19(1)	1204	2019
Fujimoto N	Immunocheckpoin t Bloc kade in Malignant Pleu ral Mesothelioma.	IntechOpen		89116	2019
Corridoni D, Antanaviciute A, Gupta T, Fawkn er-Corbett D, Aulicino A, Jagielowicz M, Parikh K, Repapi E, Taylor S, Ishikawa D, Hatano R, Yamada T, Xin W, Slawinski H, Bowden R, Napolitani G, Brain O, Morimoto C, Koohy H, Simmons A	Single-cell atlas of colonic CD8 ⁺ T cells in ulcerative colitis.	Nat Med.	26(9)	1480-1490	2020
Kaneko Y, Hatano R, Hirota N, Isambert N, Trillet-Lenoir V, You B, Alexandre J, Zalcman G, Valleix F, Podoll T, Umezawa Y, Takao S, Iwata S, Hosono O, Taguchi T, Yamada T, Dang NH, Ohnuma K, Angevin E, Morimoto C	Serum soluble CD26/D PP4 titer variation is a potential prognostic biomarker in cancer therapy with a humanized anti-CD26 antibody.	Biomarker Research			(in press)

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sumiyoshi M, Kotani Y, Ikuta Y, Suzue K, Ozawa M, Katakai T, Yamada T, Abe T, Bando K, Koyasu S, Kanaho Y, Watanabe T, Matsuda S	Arf1 and Arf6 Synergistically Maintain Survival of T Cells during Activation.	J Immunol.	206(2)	366-375	2021
Nishikawa A, Suemori T, Aoki R, Suzuki S, Uebayashi K, Miura E, Shimoda M, Yamada T	Appendiceal adenocarcinoma critically diagnosed by fine-needle aspiration cytology: A letter to the editor.	Cytopathology.	31	362-363	2020
Sasaki H, Saisho Y, Inaishi J, Watanabe Y, Tsuchiya T, Makio M, Sato M, Kitago M, Yamada T, Itoh H	Associations of birth weight and history of childhood obesity with beta cell mass in Japanese adults.	Diabetologia.	63(6)	1199-1210	2020
Hotta K, Fujimoto N	Current evidence and future perspectives of immune-checkpoint inhibitors in unresectable malignant pleural mesothelioma.	J Immunother Cancer.	8(1)	e000461	2020
Hotta K, Fujimoto N, Kozuki T, Aoe K, Kiura K	Nivolumab for the treatment of unresectable pleural mesothelioma.	Expert Opin Biol Ther.	20(2)	109-114	2020
Kishimoto T, Fujimoto N, Mizuhashi K, Kozawa S, Miura M	Retrospective investigation on diagnostic process for benign asbestos pleural effusion (BAPE) using checklist.	J Occup Health.	62(1)	12182	2020

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Baas P, Scherpereel A, Nowak AK, Fujimoto N, Peters S, Tsao AS, Mansfield AS, Popat S, Jahan T, Antonia S, Oulkhair Y, Bautista Y, Cornelissen R, Greillier L, Grossi F, Kowalski D, Rodríguez-Cid J, Aanur P, Oukessou A, Baudelet C, Zalcman G	First-line nivolumab plus ipilimumab in unresectable malignant pleural mesothelioma (CheckMate 743): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial.	The Lancet.	397(10272)	375-386	2021
Fujimoto N	An appropriate choice for immunotherapy in malignant pleural mesothelioma.	EBio Medicine.	62	103057	2020
大沼圭、波多野良、森本幾夫	抗CD26抗体	腫瘍内科	22	190-197	2018
野村伽奈子、亀谷友里理恵、原桂子、中川淳子、池元友子、菊池馨、岸本卓巳、藤本伸一	胸膜中皮腫患者の経時的ケアニーズとQOL向上のための支援	日職災医誌	66	164-171	2018
岸本卓巳、藤本伸一	胸膜中皮腫初診時の胸部CT画像の検討について	日職災医誌	66	239-245	2018
岩尾憲明、大沼圭、波多野良、大塚春奈、古宮栄利子、伊藤匠、森本幾夫	GVHDの発症と慢性炎症	別冊Bio Clinica: 慢性炎症と疾患	8(1)	120-125	2019
岸本卓巳	石綿（アスベスト）が人体に与える影響	産業保健21	25(1)	5-7	2019

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
岸本卓巳、藤本伸一、加藤勝也、井内康輝	石綿関連疾患の診断と治療 Diagnosis and treatment of asbestos related diseases	産業医学レビュー	32(2)	99-130	2019
藤本伸一	石綿（アスベスト）関連肺・胸膜疾患の的確な診断と新規治療法の導入	産業保健21	25(1)	17	2019
藤本伸一	胸膜・腹膜の病理 胸膜・腹膜疾患への臨床的アプローチー治療を中心としてー	病理と臨床	37(11)	1055-1061	2019
山田健人	免疫染色の基礎：抗原賦活法、増感法、ラビット抗体.	病理と臨床 免疫組織化学	38巻臨時増刊号	38-42	2020