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): 悪性胸膜中皮腫に対するヒト化抗 CD26 抗体と免疫チェックポイント阻害薬との革新的併用療法の開発 (210901-02)

研究実施期間 : 令和5年4月1日から令和6年3月31日まで

【研究目的】

胸膜中皮腫はアスベスト暴露により発症する難治性がんであり、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。研究代表者は CD26 の抗体開発、cDNA の単離を世界に先駆けて行い (Immunol Rev 1998)、30 年に渡り CD26 研究を続け、特に CD26 のヒト免疫及びがんにおける機能、臨床応用の研究で世界をリードしている。抗腫瘍効果の強いヒト化 CD26 抗体を開発し、中皮腫における CD26 の発現、抗体の抗腫瘍作用機構を明らかにしてきた。中皮腫に対する CD26 抗体の臨床試験では**免疫チェックポイント阻害薬(ICI)で報告されているような自己免疫疾患様の有害事象はなく、安全性が証明**されている。さらに CD26 抗体が **ICI 抵抗性の中皮腫患者にも有効である可能性が示唆**された。併用療法では単剤よりも無増悪生存期間(PFS)は向上するものの副作用出現率も上昇するため、更なる治療手段の改善が必要である。また、ICI の治療抵抗性患者の治療をいかに向上させるかも今後、克服すべき課題といえる。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、**多くの中皮腫患者により長期間抗腫瘍効果を発揮できる、有効かつ安全な新規治療法の確立**を最終的な目標とし、CD26 抗体と ICI との併用療法の開発に取り組む。また、胸膜中皮腫に対する CD26 抗体単剤の国内第 I/II 相臨床試験の患者検体を用いて、CD26 抗体が有効な患者を選択できるバイオマーカーの探索も継続して行う。

【研究方法】

1) ヒト免疫化マウスを用いた担癌モデルの作製

NOG マウスに低線量(100cGy)で放射線照射し、翌日ヒト臍帯血由来造血幹細胞を尾静脈内から移入した。ヒト造血幹細胞を移植して 13 週後のヒト T 細胞が生着したマウスに、ヒト中皮腫株 JMN または H226 を側腹部に皮下移入した。その後、小さな腫瘍形成を確認した時点から、ヒト化 CD26 抗体単剤、mouse anti-human PD-1 mAb 単剤、ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体の併用をそれぞれ週 2 回投与した。腫瘍サイズは週に 2 回採寸し、JMN または H226 を移入して 9 週間後にマウスを解剖し、皮下の腫瘍を回収して重量を測定した。腫瘍の一部は病理解析のために 10%ホルマリンで固定し、残りは酵素処理を行い、DNase I 存在下で組織を破砕して腫瘍組織中の細胞を得た。

2) 腫瘍浸潤リンパ球の解析

腫瘍内に浸潤したヒト CD4 T 細胞・CD8 T 細胞のエフェクター機能を中心としたフェノタイプ解析を行った。精製したヒト T 細胞にタンパク質分泌阻害剤の monensin 存在化で PMA と ionomycin の刺激を加えて培養し、細胞内サイトカイン発現をフローサイトメトリーで解析した。

3) マルチプレックスアッセイによるマウス血清中ヒトサイトカイン・ケモカインの定量

CD26 抗体がヒト免疫化マウス血清中の DPP4 酵素活性及びサイトカイン・ケモカイン産生に与える影響を解析した。Bio-Plex システムによりヒトサイトカイン・ケモカイン 40 種類の解析を行った。

4) 国内第 I/II 相臨床試験患者の腫瘍病理組織の遺伝子発現解析

バイオマーカー解析に同意が得られた国内第 I/II 相臨床試験患者 23 例中 CD26 抗体が有効だった 3 例と無効だった 4 例の腫瘍組織から腫瘍部位を切り出し、DNA マイクロアレイ解析を行った。さらに、免疫染色及び in situ hybridization にて中皮腫組織のタンパク・mRNA 発現量評価を試みた。

5) 国内第 I/II 相臨床試験患者の血清検体の経時的解析

国内第 I/II 相試験の血清検体を解析し、CD26 抗体有効例と無効例における CD26 抗体投与後の血清中の可溶性 CD26 量と DPP4 酵素活性値の測定を行った。次に、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。

【研究成果】

1) CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果のメカニズムの解析

ヒト免疫化マウスにヒト中皮腫細胞株 H226(上皮型)および JMN(肉腫型)を皮下移入する担癌モデルを確立し、YS110 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的な腫瘍増殖抑制効果が認められるデータが得られ、非臨床 POC データを取得した。このモデルにおいて、CD26 抗体は DPP4 酵素活性を低下させることで、酵素によるケモカインの切断とそれにもなう活性低下を妨げるだけでなく、ケモカイン産生量自体にも影響を与えることで、腫瘍内へのヒト T 細胞の浸潤を促進させると考えられた。CD26 抗体は腫瘍周囲の T 細胞数を増加させるだけでなく、T 細胞の活性化亢進にも働くと考えられ、CD26 抗体単独でもヒト CD4・CD8 T 細胞の活性化が亢進され、PD-1 抗体と併用投与することでより強く活性化が誘導されることが示された。CD26 抗体投与によってなぜヒト CD4T 細胞や CD8T 細胞の活性化が亢進されるかについてはメカニズム解明に取り組んでいる。以上のように、CD26 抗体は極めて多様なメカニズムで抗腫瘍作用を発揮すると考えられ、T 細胞への抑制シグナルの伝達を阻害する PD-1 抗体と併用することで相乗効果を発揮することが期待される。

2) CD26 抗体の有効性予測バイオマーカーの探索

バイオマーカー解析に同意が得られた CD26 抗体の国内第 I/II 相臨床試験患者の腫瘍組織や血清を用いて、CD26 抗体の予後・治療効果を予測し得るバイオマーカーの探索を試みた。CD26 抗体が有効だった 3 例と無効だった 4 例の腫瘍病理組織から腫瘍部位を切り出し、DNA マイクロアレイ解析を行った結果、有効例に共通して無効例よりも顕著に発現が高い遺伝子 X、無効例に共通して有効例よりも顕著に発現が高い遺伝子 Y を見出した。簡便にタンパクレベルで発現評価ができる方法として免疫染色の検討を行ったが、複数の市販抗体で最適染色条件を検討するも DNA マイクロアレイ解析と相関する結果が得られなかった。DNA マイクロアレイ解析と同様に mRNA レベルで発現量を評価する手法として、in situ hybridization を検討したがホルマリン固定・パラフィン包埋中皮腫組織の mRNA 発現量を in situ hybridization で評価することは難しいと考えられ、今後さらなる発現評価方法の検討が必要と考えられる。

血清中のサイトカイン・ケモカインの中で CD26 抗体投与によって絶対量が大幅に増加するもの、減少するものがあることを見出した。単独で CD26 抗体有効例を判別できるバイオマーカーになるサイトカイン・ケモカインは見出せなかったが、SDF-1 α,β /CXCL12 や MCP2/CCL8 など複数の候補因子の血清中濃度を調べることで、有効性を予測できる可能性も考えられ、さらに症例数を増やしての解析が待たれる。

【結論】

ヒト T 細胞と B 細胞が生着した免疫化マウスの作製に成功し、ヒト中皮腫細胞株 H226 と JMN 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 抗体との併用効果についての非臨床 POC データを取得した。CD26 抗体投与によってヒト T 細胞の腫瘍内浸潤が促進されるメカニズムの詳細を明らかにした。ヒト化 CD26 抗体の国内第 I/II 相臨床試験患者の(1)腫瘍病理組織、(2)血清、(3)末梢血リンパ球を用いたバイオマーカー探索研究の結果、(1)腫瘍病理組織の解析からは有効例で共通して高発現している遺伝子 X を、無効例で共通して高発現している遺伝子 Y を見出した。また、(2)血清の解析からは抗体投与後の血清中の SDF-1 α,β /CXCL12 や MCP2/CCL8 などが有効性を予測できる候補分子となることを見出した。これらの成果が今後の CD26 抗体療法開発に繋がることを期待する。

【今後の展望】

CD26 抗体は極めて多様なメカニズムで抗腫瘍作用を発揮すると考えられ、CD26 抗体が T 細胞の活性化を亢進するメカニズムや腫瘍関連線維芽細胞への影響など、ICI との併用の相乗効果のさらなるメカニズム解明を進める。CD26 抗体療法が有効な患者を選択できるバイオマーカーを同定できれば、CD26 抗体と PD-1 抗体との併用療法が期待できる患者、PD-1 抗体が無効でも CD26 抗体による治療が期待できる患者の割合を予測することへの応用も期待されるため、今回の DNA マイクロアレイ解析により得られた候補分子 X と Y の発現評価を腫瘍組織で行える方法を確立したい。