

研究結果の概要

研究課題名（課題番号）：悪性中皮腫に対するヒト化抗 CD26 抗体を基盤とする安全かつ有効な新規併用療法の確立（150401-01）

研究実施期間：平成 27 年 4 月 1 日から平成 28 年 3 月 31 日まで 3 年計画の 1 年目
上記補助事業について、労災疾病臨床研究事業費補助金交付要領 20 に基づき報告する。

研究目的

悪性中皮腫はアスベストばく露により発症し今後益々増加するとされる。現在アリムタとシスプラチンによる抗がん剤治療が行われているが、平均生存期間は約 1 年と予後は悪く、造血障害など副作用出現率も高く本治療を完遂できる患者は約半数であり、安全かつ有効な新規治療法の開発は急務である。CD26 は正常中皮に発現しないが上皮型中皮腫では約 8 割に発現しており、中皮腫細胞の増殖・浸潤に重要な役割を果たすことから、抗腫瘍作用を有するヒト化 CD26 抗体を開発し、中皮腫の新規治療法として有用性を示した（Clin Cancer Res2007）。さらにアリムタなど抗がん剤治療抵抗性の CD26 陽性中皮腫症例を対象に、フランスで本抗体の第 I 相臨床試験を施行し、その安全性が確認され中皮腫 19 症例中 10 例が Stable Disease (SD) となり、その内 6 例で 3 ヶ月以上 SD が継続し有効性が示唆された。本試験ではヒト化抗体の単独投与のため完全寛解は得られず、症状緩和、肺の機能改善、治癒を目指す安全かつ有効な新規治療薬との併用療法の確立が望まれる。Y-box binding protein (YB-1) は癌細胞の増殖浸潤に関与する転写因子で中皮腫でも高発現する（Oncology 2014）。研究協力者・中野は YB-1 発現を阻害する架橋型核酸アンチセンスを開発し、膀胱癌モデルの系で有効かつ毒性も低いことを報告した（特願 2012-89772）。本研究では (1) ヒト化 CD26 抗体と YB-1 アンチセンスとの併用による副作用の少ない安全で有効な中皮腫の集学的治療法の確立を目指すとともに (2) 中皮腫における CD26 と YB-1 の発現と治療反応性や予後を含む臨床パラメーターとの相関を明らかにする。更に CD26 抗体は免疫チェックポイント阻害薬としても作用する可能性を示唆するデータも得られ (3) CD26 シグナルによる免疫チェックポイント分子の発現誘導メカニズムを明らかにする。

研究方法

目的 (1) ヒト化 CD26 抗体 (CD26-Ab) と YB-1 アンチセンス (YB-1-AS) を用いて *in vitro* 及び *in vivo* 中皮腫細胞株 (JMN, H226 株) 移植モデルでの抗腫瘍効果 (相乗、相加作用) を検討する。更に *in vivo* 腫瘍モニタリング系を開発する。また *in vitro* での中皮腫細胞株における CD26 と YB-1 分子との相互作用を検討する。

目的 (2) 中皮腫組織 (岡山労災病院 86 例、山口宇部医療センター 61 例、慶應義塾大学病院 4 症例) について、同一検体での CD26 および YB-1 の免疫染色を行う。染色後にデジタル画像とし、imageProPlus プログラムにて半定量的に発現を解析し、YB-1 と CD26 の発現レベルと臨床病理学的指標である、1) 特異な浸潤増殖態度、2) 遠隔転移、3) 治療反応性、4) 病期・生存期間、との関連を詳細に解析する。

目的 (3) 健常者の末梢血 CD4、CD8 T 細胞における CD26 とその他代表的な免疫チェックポイント分子 (CTLA4, PD1, LAG3, TIM3, TIGIT) の発現を Flow cytometry で解析する。また *in vitro* で抗 CD3 抗体/CD26 抗体による CD26 共刺激で CD4、CD8 T 細胞に誘発される免疫チェックポイント分子を検討し、代表的な T 細胞活性化シグナルである CD28 共刺激と比較して CD26 シグナル特異的に誘導される分子を明らかにする。

研究成果

目的①中皮腫細胞株 H226, JMN を用いて *in vitro* の増殖実験及び細胞浸潤実験を検討した結果、増殖・浸潤ともに CD26 抗体と YB1-ASO(YBAS)の併用による相乗的な抑制効果が認められた。*In vivo* での併用効果を経時的にモニタリングするため、レンチウイルスを用いて luciferase 発現 H226, JMN 株を作成し、マウスに腹腔移入後 CD26 抗体と YBAS を投与して IVIS imaging system により腫瘍増殖を測定する系を確立し、現在、投与量・投与間隔の検討を行っており予備検討で相加的な抑制効果が得られている。また YBAS 処理により H226, JMN 株の CD26 発現は増加し、CD26 と YB1 は核、細胞質の両方で会合していることが明らかとなった。目的②ヒトがん細胞株を免疫不全マウスに移植してホルマリン固定パラフィン切片を作製し、一次抗体の選別、最適抗原賦活化条件を決定し、YB1 の染色法を確立した。次に、中皮腫組織(岡山労災 20 例、山口宇部 19 例)の YB1 と CD26 の免疫染色を行った結果、YB1 は細胞質に瀰漫性に強陽性となり、39 例中 38 例が陽性であった。CD26 陽性症例は 39 例中 33 例であった。現在、半定量的に発現を解析するための検討を行っている。更に解析症例数を増やし、YB1 と CD26 の発現レベルと臨床病理学的指標との関連を解析する。目的③現在癌治療では CTLA4 や PD1/PDL1 抗体等の免疫チェックポイント阻害薬により腫瘍免疫を増強させる治療がトピックになっている。健常者末梢血 T 細胞では CD28 刺激と異なり CD26 刺激により IL-10, 及び免疫チェックポイント分子の LAG3 分子の発現上昇が認められ、CD26 が免疫チェックポイントとして機能し、CD26 抗体には免疫チェックポイント阻害作用もあることが示唆された。

結論

In vitro 及び *in vivo study* の解析によりヒト化 CD26 抗体と YB-1-ASO との併用はその有用性を示唆する結果が得られた。臨床検体における YB-1 の発現評価方法を確立した。中皮腫症例における CD26 と YB-1 の発現を明らかにし、いずれも高い比率で発現しており、共発現している症例がほとんどであった。

CD26 陽性 T 細胞は CD26 共刺激により IL-10,LAG3 分子の高発現が認められ CD26 抗体は免疫チェックポイント阻害薬としても作用する可能性が示唆された。

今後の展望

CD26 抗体と YB-1-ASO を併用した際の今後の抗腫瘍メカニズムの詳細の解明や病理組織での YB-1 と CD26 発現の臨床的意義を更に解明していく。またヒト化 CD26 抗体の免疫チェックポイント阻害の詳細なメカニズムを検討していく。

上記の解析を通じてヒト化 CD26 抗体と YB-1-ASO との併用が悪性中皮腫の新規かつ有効な治療法として確立できる可能性がある。ヒト化 CD26 抗体は本年 10 月から悪性中皮腫をターゲットにして本邦でも臨床試験がスタートする。本併用療法がヒト化 CD26 抗体単独療法に加えて新たな悪性中皮腫への新規治療法となることを期待したい。