

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 28 年 4 月 1 日から平成 29 年 3 月 31 日まで 3 年計画の 2 年目

【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 年と予後が非常に悪い上に、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に限られ、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 Res 2007)。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るとともに中皮腫 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(Br.J Cancer 2017)。本治療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、膵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。(4)フランスの検体を用いて、SD, PD を識別する治療奏効性のバイオマーカーの同定を行った。

【研究方法】

目的(1):ヒト化 CD26 抗体と YB-1 antisense oligonucleotide (YB-1 AON)を用いて in vitro 及び in vivo 中皮腫細胞株(JMN, H226)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):岡山労災病院及び山口宇部医療センターにおける中皮腫 73 症例の腫瘍の病理組織(生検及び手術材料)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。

目的(4):フランスで実施されたヒト化 CD26 抗体投与の第 I 相臨床試験の対象症例の Day1 から Day29 までの血清中可溶性 CD26/DPPIV 値が全て揃っている 23 症例について解析し、測定は森本研究室で行った。

【研究成果】

- ① 共同研究者の中野賢二博士により良質な YB-1 antisense oligonucleotide (YB-1 AON)が開発された。In vitro 及び in vivo 解析において、YB-1 AON と CD26 抗体の併用の有用性が示唆された。そのメカニズムとして、YB-1 AON 及び CD26 抗体それぞれが単剤で中皮腫細胞株の cyclophilin A 発現を抑制し、併用により cyclophilin A の発現がさらに強く抑制されることが関与している可能性が示唆された。

- ② 中皮腫検体における YB-1 の発現評価方法および半定量的解析法を確立した。その結果、85%の症例において CD26 と YB-1 の共発現が明らかとなり、細胞内局在においても細胞質での共局在が示された。
- ③ CD26 共刺激は代表的な T 細胞活性化刺激である CD28 共刺激と比較して、健常者の末梢血 CD4 T 細胞に対して免疫チェックポイント分子である BTLA と LAG3 の高発現、IL-10 の高産生を誘導し、CD8 T 細胞に対しても BTLA の発現を顕著に誘導する。がん細胞の周囲に多く存在すると考えられる免疫抑制性因子は様々な免疫チェックポイント分子の発現とともに、CD26 の発現も増強させることが示唆された。特に BTLA の発現誘導に関しては、CD26 共刺激に特徴的であることが示唆された。
- ④ SD, PD 患者を識別できるヒト化 CD26 抗体の治療奏効性のバイオマーカーを探索するために、患者血清中の可溶性 CD26/DPPIV 酵素活性値に注目した。フランスで行ったヒト化 CD26 抗体の First in Man 第 I 相臨床試験から、CD26 抗体投与による血清中の可溶性 CD26/DPPIV 酵素活性値の減少率が SD 及び PD を識別できるバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

【結論】

YB-1 AON とヒト化 CD26 抗体との併用効果のメカニズムの 1 つとして、cyclophilinA の発現抑制が示唆された。中皮腫検体において 85%の症例で CD26 と YB-1 の共発現が明らかとなった。CD26 共刺激は健常者の CD4T 細胞での BTLA と LAG3 の高発現と IL-10 の高産生を誘導し、CD8T 細胞では BTLA の発現を顕著に誘導した。血清中の可溶性 CD26/DPPIV 酵素活性値は PD 及び SD を識別できるバイオマーカーとなる可能性が示唆された。

【今後の展望】

- ① YB-1 AON 及び CD26 抗体による cyclophilin A の発現制御メカニズム及び悪性中皮腫病理組織における cyclophilin A の発現と予後因子としての可能性を検討する。
- ② CD26 共刺激は健常者の CD4 及び CD8 T 細胞で BTLA を特異的に発現誘導したが、その詳しいシグナル伝達経路及び転写因子についての解析を行う予定である。
- ③ フランスの第 I 相臨床試験の血清検体を用いた解析から、可溶性 CD26/DPPIV 値が SD 及び PD の識別に有用なバイオマーカーになる可能性が示唆された。CD26 抗体投与による血清中の可溶性 CD26/DPPIV 値の低下が腫瘍免疫亢進に働いている可能性を考え、本年初夏からスタートするヒト化 CD26 抗体の本邦での第 I/II 相臨床試験患者血清中の、DPPIV 酵素の基質となるケモカインなど、特に CXCL10 に着目してその切断様式を解析する。
- ④ さらに、国内の第 I/II 相臨床試験検体を用いて、ヒト化 CD26 抗体投与による血清 IL-10 濃度、末梢血 T 細胞上の BTLA, LAG3 分子の発現変動を経時的にモニタリングすることで、CD26 抗体が免疫チェックポイント阻害薬としても機能する可能性を明らかにする。

上記の解析を通じて、本併用療法がヒト化 CD26 抗体の単独療法に加えて悪性中皮腫への新たな治療法となることを期待したい。