

研究結果の概要

(総合研究報告)

(研究代表者) 森本幾夫

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 24 日から平成 30 年 3 月 31 日まで 3 年間

【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、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。(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。

【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 84 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)：健常者及び悪性中皮腫、良性石綿胸水患者の末梢血及び胸水中の 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 抗体の第 1 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 値がすべてそろっている 23 症例について解析した。

【研究成果】

1. In vitro および 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が、免疫沈降法で cyclophilinA(CyA)と CD26 の association を明らかにし、共焦点顕微鏡および STED(誘導放出制御) 顕微鏡で細胞内での共局在を証明した。このことからそのメカニズムとして、YB-1 と CD26 が、CyA を介して腫瘍の増殖と浸潤に働いている可能性が示された。
2. 悪性中皮腫の新規治療法として期待されるヒト化 CD26 抗体療法および YB-1 アンチセンス療法においては、腫瘍組織における CD26 および YB-1 分子の発現の適確な評価が重要である。本研究では、すでに確立された CD26 発現評価方法とともに、新たに YB-1 発現評価方法の確立を通じて、中皮腫検体における本分子群の免疫染色での発現評価法について検討した。その結果、84 症例において、CD26 および YB-1 は、それぞれ 69、79 症例で陽性であり、CD26 陰性 15 症例中では 4 症例で YB-1 陰性であった。また肉腫型中皮腫では CD26 発現頻度は低く 9 症例中陽性は 2 例であったが、YB-1 は 9 症例中 9 例陽性と高率に発現していることを見出した。また、画像解析から CD26 は細胞膜および細胞質に 95%、核に 1-2%の発現があり、一方、YB-1 は細胞質に 90%の発現が認められ、核内に 2-3%の発現が観察された。
3. 悪性胸膜中皮腫患者 11 例の末梢血および胸水中 T 細胞の解析を行った結果、悪性胸膜中皮腫患者の末梢血 CD8 T 細胞では、健常者の末梢血 CD8 T 細胞よりも Terminal Effector の割合が予想に反して顕著に増加しており、一方で、胸水中 CD8 T 細胞では PD1 や BTLA、CD39 の発現上昇や Perforin、Granzyme B の著明な発現低下が見られた。このことから、胸水中 T 細胞は、近位に存在する悪性胸膜中皮腫からの影響を受けて機能不全になっている可能性が示唆された。
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 CD26 と CyA が共局在していた。中皮腫検体において 81%の症例で CD26 と YB-1 の共発現が明らかとなった。胸水中 T 細胞は近位に存在する胸膜中皮腫からの影響をうけて機能不全になっている可能性が示唆された。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 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が考えられた。

【今後の展望】

- ① YB-1 AON 及び CD26 抗体の併用の、最適投与プロトコルの確立を行う。また、それらによる CyA の発現抑制メカニズムと、CD26 陽性細胞における CyA の役割を、より詳細に調べる。さらに、中皮腫病理組織における CyA の発現と、予後因子としての可能性を検討する。
- ② 悪性中皮腫自身やその周囲の細胞に BTLA や LAG3、そのリガンドである HVEM や MHC class II が発現しているか免疫組織染色で検討する。
- ③ CD26 共刺激に特徴的な BTLA の発現誘導に関わるシグナル伝達経路、及び転写因子についての解析が必要となる。更に、悪性中皮腫患者の末梢血 T 細胞、胸水 T 細胞、悪性中皮腫周囲に浸潤した T 細胞を用いて、各種免疫チェックポイント分子の発現パターンやエフェクター分子、CD26 の発現を解析する。更に昨年度からスタートした悪性中皮腫をターゲットとしたヒト化 CD26 抗体の国内第 I /II 相臨床試験抗体を用いて CD26 抗体投与による血清中可溶性 CD26 濃度/DPPIV 酵素活性値、DPPIV 酵素の基質となるケモカインなど特に CXCL10 濃度やその切断様式、IL-10 濃度、末梢血 T 細胞上の BTLA、LAG3 の発現変動を経時点にモニタリングしていく予定である。

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。