Program No. I (1)

CD26 分子の機能と構造：悪性中皮腫への新規治療法を目指して

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

CD26 分子は DPPⅣ酵素を含む T 細胞活性化分子で、我々は単クローン CD26 抗体の開発、CD26 cDNA の単離を世界に先駆けて行い、当分野の研究では世界の最先端にいる。この研究過程で悪性中皮腫細胞株 JMN が CD26 を発現していることを発見し、高親和性、高生物学活性の高いヒト化 CD26 抗体を開発した。本抗体は in vitro で中皮腫細胞株の増殖及び浸潤を抑制し、中皮腫株移植マウスで腫瘍縮小、生存延長をきたし、正常中皮では発現のない CD26 が悪性中皮腫、特に上皮型では 8 割以上に発現していることを見いだした。CD26 は悪性中皮腫の増殖、浸潤に重要な役割を果たし、本抗体がその機能を抑制することから悪性中皮腫の新規治療法として有望な可能性が強く示唆された。

アスベストは潜伏期 20～40 年を経て悪性中皮腫を引き起こすため、今後益々患者数が増加し、2030 年にピークを迎えるといわれ、死亡者数も 2013 年には 1425 人にのぼり、大きな社会問題となっている。多くの患者は最初の症状発現から 10－17 ヶ月以内に死亡している。現時点では悪性中皮腫に対する有効な治療法はなく、新規かつ有効な治療法開発は急務である。

ヒト化 CD26 抗体はフランスでの悪性中皮腫及びその他 CD26 陽性悪性腫瘍をターゲットにした First in Man 第 I 相臨床試験において特記すべき有害事象も認められず、安全性を確認し、有効性を示唆する結果も得られた。特に悪性中皮腫評価可能例 19 例中 10 例が modified RESIST 評価で SD と判定され、うち 1 例が 3 ヶ月以上、5 例が 6 ヶ月以上 SD を継続し、最長では投与後 399 日 SD を維持した。ヒト化 CD26 抗体は様々な抗腫瘍機序を有している。本邦においても、悪性中皮腫をターゲットにして 2017 年 6 月から第 I 相臨床試験がスタートした。　　　本シンポジウムでは、CD26 分子の機能と構造及び悪性中皮腫でのヒト化 CD26 抗体の臨床応用について、その概略を紹介したい。

Program No. I (2)

可溶性 CD26/DPP4 はヒト化 CD26 抗体の悪性中皮腫治療のバイオマーカーか

金子有太郎
Y's AC 株式会社

固形がん治療における、がん治療の治療効果を予測でき、そしてさらに予後を予測可能な血清中の物質(バイオマーカー)について、現在、確実な物質は存在せず研究中なものが多い。ここでは、フランスで実施された CD26 分子に対する抗ヒト化抗体 YS110 によるがん治療(主に悪性中皮腫を対象として、他に腎がん、尿管がん）第 1 相試験で得られた結果について、治療中の血清可溶性 CD26(sCD26)及び DPP4 活性を指標としたバイオマーカーとしての可能性を検討した。

【材料および方法】

1. YS110 の投与スケジュール及び
 RECIST(抗腫瘍効果)評価・血清サンプリングの時期

1) YS110 投与スケジュール：投与量 0.1, 0.4, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0mg/kg の各水準で実施
 (YS110 の血中濃度を勘案し投与回数を途中で変更)
 a) Day1, 15, 29　3 回投与を First Cycle として Day43 に RECIST 評価。
 b) Day1, 8, 15, 22, 29　5 回投与を First Cycle として Day43 に RECIST 評価。

2) 血清サンプリングスケジュール：
 Day1, 15, 29 の前後で血清サンプリング。Baseline 値は Day1 投与前の値。

2. sCD26/DPP4 の測定
 sCD26 測定; ELISA 法により測定(ng/ml)。DPP4 測定; 酵素活性を測定(μM/min)。

【結果】

3. YS110 投与前後における血清中 sCD26/DPP4 の測定値の変化と RECIST 評価との関係を
 統計学的に解析。

1) 評価対象 26 例患者背景因子(性, 年齢, BMI, 腫瘍量など)と RECIST 評価(SD13 例, PD13 例)
 との間に偏りの有無を検定し、偏りのない事を確認。

2) X 軸：RECIST 評価における腫瘍量の変化(%), Y 軸：sCD26/DPP4 測定値の変化(%)
 をプロットし、RECIST 評価と sCD26/DPP4 値の間の相関性を検定。
 対象 25 例(26 例中 1 例は腫瘍量変化の測定不能のため除外)。
 Pearson's Product-moment correlation 及び Spearman's rank different correlation 法により検定し、Day29 YS110 投与前の変化値(PreDay29 値)(%)と腫瘍量変化値(%)との間に有意に相関性があることが認められた。検定値：夫々 r=0.548, p=0.006 ; ρ=0.553, p=0.009

3) Baseline 値に対する PreDay29 における SD, PD 症例の sCD26 値の変化率(%)比較検定。
 Wilcoxon rank sum test により検定。対象 23 例(3 例は測定値欠損のため除外)。
 a) 全 23 例：SD(12 例): 34.9±16.8%, PD(11 例): 59.4±25.4%　p=0.016
 b) 悪性中皮腫 18 例：SD(9 例): 33.7±19.2%, PD(9 例): 58.7±27.6%　p=0.047
 c) 腎がん 5 例：SD(3 例): 38.6%, PD(2 例): 62.6%　p=0.083

4) Receiver Operating Characteristics(ROC)解析による SD 症例としての sCD26 値変化率
 の Cut-off 値の検索
 Baseline(100%)からの sCD26 値低下率 46.7%以下：Sensitivity: 91.7%(11/12), 1-Specificity: 27.3%(3/11), AUC: 0.795, Fisher's Exact Test: p=0.0028, PPV=0.786, NPV=0.889

【結論】

4. YS110 によるがん治療において、血清中 sCD26/DPP4 の値は腫瘍の変化量に連動して動き、
 治療効果の予測可能な Biomarker であると考えられる。DPP4 を用いた解析においても
 sCD26 による解析と同様な結果が得られている。

Program No.Ⅱ(1)

ヒト化 CD26 抗体 YS110 の抗腫瘍作用メカニズムの新たな可能性：
腫瘍免疫に及ぼす影響

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

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。われわれは、新規治療標的分子として悪性胸膜中皮腫に発現する CD26 に着目し、ヒト化 CD26 抗体を開発しフランスにて第 I 相臨床試験を行った。治療抵抗性の悪性胸膜中皮腫 22 例を含む計 33 例の CD26 陽性腫瘍患者に投与し、安全性が確認されるとともに治療薬としての有効性を示唆する結果も得られ、平成 29 年 6 月から国内での第 I/II 相臨床試験を開始した。有効かつ安全な CD26 抗体との併用療法の開発とともに、CD26 抗体の抗腫瘍作用メカニズムの更なる解明は極めて重要である。CD26 抗体の抗腫瘍作用メカニズムとしてこれまでに、抗体医薬特有の ADCC/CDC に加え、CD26 陽性腫瘍の細胞膜上の CD26 に結合することによる増殖抑制作用、浸潤・転移抑制作用を報告してきたが、近年の成果から CD26 抗体は腫瘍免疫にも影響を及ぼす可能性が期待される。CD26 は dipeptidyl peptidase IV (DPPIV)酵素活性を有するタンパク質で、生体内でケモカインを含む様々な因子の活性調節に関与している。近年、DPPIV 酵素阻害薬が腫瘍免疫亢進に作用することが報告され、CD26 抗体でも同様の作用が期待される。また、CD26 はヒト T 細胞にも高発現しており、活性化シグナルを伝達する共刺激分子として機能する。健常者の末梢血 T 細胞を用いて、CD26 シグナルによって抑制性サイトカイン IL-10 の高産生、免疫チェックポイント分子 BTLA と LAG3 の高発現が特徴的に誘導されることを見出した。このことから、CD26 抗体は T 細胞への CD26 シグナルの伝達をブロックし、特に IL-10 と BTLA の発現誘導を阻害する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る。現在行っている悪性胸膜中皮腫患者の末梢血および胸水中 T 細胞の CD26、免疫チェックポイント分子、エフェクター分子の解析結果についても報告する。

Program No. Ⅱ(2)

ヒト化抗 CD26 抗体と YB-1 阻害アンチセンスとの悪性中皮腫治療における併用療法の可能性

岡本俊博、山崎裕人、波多野良、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

ヒト化抗 CD26 モノクローナル抗体は、中皮腫を中心とした CD26 陽性腫瘍に対する Phase I 臨床試験が 2014 年に終了した。その結果、従来の化学療法が効かない中皮腫患者 19 例に対し、CD26 抗体の単剤投与により 10 例で SD が見られ、そのうち 5 例は 6 ヶ月以上 SD が継続し、有用性が示された。ただし、単剤投与での完全寛解はまだ困難と予想された。

一方、Y-box binding protein 1 (YB-1) は、がんの浸潤・転移促進に関与する分子で、近年がんの治療標的として注目されている。九大の中野らにより、YB-1 antisense oligonucleotide (AON) が開発され、がん治療に有用と判明したため、今回我々は、より安全かつさらに有効な中皮腫治療法を確立する目的で、ヒト化 CD26 抗体と YB1-AON との併用効果についての検討を行った。

CD26 抗体と YB-1 AON は中皮腫細胞に対し、ともに単剤で増殖と浸潤を抑制し、抗腫瘍効果が認められたが、併用によってその効果が増強された。そのさい、YB-1 AON は CD26 発現を蛋白質レベルで減少させたが、mRNA レベルでは影響しなかった。そのため、YB-1 AON は翻訳レベルで CD26 発現を抑制していると示唆され、また CD26 抗体と YB-1 AON の併用では、その効果が増強された。

この分子メカニズム解明するため、CD26-knockdown 細胞と CD26 抗体処理細胞のマイクロアレイ解析を行った。そして浸潤関連分子のうち、我々は cyclophilin A (CyA) に着目した。CyA は多くのがんで過剰発現しているだけでなく、細胞増殖や浸潤に関与し、予後因子としても注目されているが、CD26-knockdown、CD26 抗体、YB-1 AON により、CyA の蛋白発現が抑制され、CD26 抗体と YB-1 AON の併用で、その効果が増強されることが明らかとなった。

次に、CD26 と CyA との相互作用を検討したところ、免疫沈降実験では、YB-1 と CyA は共沈して来なかったが、CD26 と CyA は共沈した。共焦点顕微鏡で観察すると、両者は細胞質で共局在し、実際に in vivo で associate していることが示唆された。

また CD26-kockdown、YB-1 AON および CD26 抗体による CyA 発現への影響を調べると、それらにより CyA の蛋白発現は減少したが、mRNA 発現には影響しなかった。そのため、Cycloheximide chase assay で CyA の protein stability を検討したところ、これらの処理は全て、CyA 蛋白を不安定化させ、CyA の蛋白量を減少させることがわかった。またこのことから、細胞内では CD26 が CyA 蛋白を安定化させており、CD26 抗体と YB-1AON は共に CyA 発現を抑制することで、悪性中皮腫に対する治療効果を発揮していることが示唆された。

Program No.Ⅲ(1)
中皮腫の病理

山田　健人
埼玉医科大学・病理学

悪性中皮腫は、がんの中でも特異な位置を占める腫瘍である。その理由として、まず発生母地が「中皮細胞」由来の腫瘍とされていること、ほとんどの中皮腫がアスベストに起因していること、そのアスベスト暴露から発症までに約20年以上という長い潜伏期間を有していること、そして発症機序が不明なこともあって難治性でいまだに良い治療法が確立されていないこと、が挙げられる。

そこで腫瘍病理学の中でも、さまざまな特徴を有する本腫瘍について、以下の面から概説したい。

<u>中皮細胞とは</u>：ヒト胚発生の第3週末に中胚葉から胚内体腔が形成されはじめ、壁側中胚葉が中皮化し胸腔・心膜腔・腹腔の表面を覆い、一方、臓側中胚葉は肺・心臓・腹腔臓器の表面を覆う。つまり中皮細胞は、主に支持組織を形成する中胚葉に起源を持つ一方、内胚葉由来の上皮細胞のように表面を覆う性質を有するものと思われる。

<u>中皮腫の肉眼像</u>：中皮が存在する胸腔・心膜腔・腹腔・精巣鞘膜から発生するが、ほとんどは胸膜に生じる。限局型とびまん型があり、前者は比較的予後がよいとされる。臓側胸膜に発生し、隆起する腫瘍が散在するものから胸膜前面に広がり、増大と融合を伴うと肺を取り囲み、葉間胸膜や肺実質に進展していく。

<u>中皮腫の病理組織像</u>：多彩な組織像が特徴の腫瘍であり、ときに病理診断には困難を伴う。組織型として、1）上皮型、2）肉腫型、3）二相型、4）線維形成型、の4つに分けられ、発生頻度もこの順で多いとされる。最近、腫瘍の分化度での分類や“早期”中皮腫の提唱がなされている。

<u>中皮腫における CD26 発現</u>：上皮型および二相型中皮腫の 85%で高発現を示す一方、肉腫型では、陽性例は25%にとどまる。中皮腫では、細胞膜・細胞質・核内に局在し、多様な分子機能がうかがわれ、分子標的治療への応用が期待される。

Program No.Ⅲ(2)
悪性中皮腫の遺伝子異常と細胞特性

関戸好孝
愛知県がんセンター研究所　分子腫瘍学部

悪性中皮腫は、アスベスト曝露後約30年の潜伏期を経て発生する極めて難治性の腫瘍である。現在、進行した悪性中皮腫に対する根治的な治療法は限られており、患者さんの生命予後は極めて不良である。

最近の網羅的な遺伝子解析技術の発達により、悪性中皮腫における遺伝子異常の本態が明らかとなってきた。悪性中皮腫は他の固形がんと比較すると、体細胞突然変異数は少なく染色体の欠失が顕著である。がん抑制遺伝子ではCDKN2A, BAP1, NF2, TP53遺伝子などの異常が高頻度に認められるが、活性型のがん遺伝子異常の頻度は極めて低い。また、広範な染色体の欠失異常として、特徴的なnearly-haploidの症例が約3%に認められる。

NF2腫瘍抑制遺伝子がコードする蛋白、Merlinは細胞内Hippoシグナル伝達系を制御する。Hippoシグナル伝達系は最初、器官の大きさを決定する伝達系として同定されたが、様々な生命現象に関与していることが明らかにされてきている。Hippoシグナル伝達系の構成因子であるLATS1/2、SAV1なども悪性中皮腫において不活性化変異が認められ、Merlin-Hippoシグナル伝達系の高頻度の不活性化が悪性中皮腫の増殖、進展に大きく関与すると考えられる。

Merlin-Hippoシグナル伝達系の不活性化の結果、転写コアクチベーターであるYAPおよびTAZが恒常的に活性化し、細胞周期に関わる遺伝子（CCDN1、FOXM1)、細胞間質の増殖に関わる遺伝子（CTGF)、さらにはサイトカイン・サイトカイン受容体をコードする遺伝子の発現亢進が引き起こされる。YAPおよびTAZはパラローグであり、機能的にredundantであると考えられている。一連の解析により、悪性中皮腫細胞においてYAPおよびTAZをそれぞれ抑制すると細胞増殖はpartialに阻害されるが、両者の同時抑制は強い細胞増殖抑制を引き起こすことが明らかとなった。さらに、不死化中皮細胞株に活性化変異を導入したYAPあるいはTAZを導入すると、nude miceへの移植において造腫瘍能を付与することが明らかとなった。TAZにおいては特にIL-1betaシグナル伝達系の関与が強く示唆された。このように、Hippoシグナル伝達系が破綻した悪性中皮腫細胞株では、その細胞増殖・生存はYAP/TAZにaddictiveな状態になっていると同時に、細胞の悪性形質の付与に大きく貢献していることが明らかとなった。

以上の結果により、Merlin-Hippoシグナル伝達系が破綻しYAP/TAZが恒常的に活性化した中皮腫に対してはYAP/TAZを同時に抑制する治療戦略の開発が有望であることが強く示唆された。

Program No.Ⅳ(1)

悪性胸膜中皮腫に対する全胸膜摘除（P/D）および術中胸腔内温熱抗癌剤灌流

大久保憲一
東京医科歯科大学呼吸器外科

悪性胸膜中皮腫に対する標準治療は確立していない。われわれは根治的治療法として壁側胸膜臓側胸膜全摘除（P/D）を含む集学的治療を行なってきた。これまでの治療成績を報告する。

対象と方法 : 切除可能な悪性胸膜中皮腫（T1-3N0-2M0）を対象とし、① 2010.4.〜2014.3 : EPP 不耐術例　②2014.4.〜現在 : 全例　に対して P/D および術中胸腔内温熱シスプラチン灌流（42℃、CDDP 80mg/m² in 生食 2L, 灌流 1 時間）を行い，術後に抗癌剤化学療法（CDDP+PEM）4 コース、の治療プロトコルを施行した。全 23 例の内訳は、年齢 55-76 歳（平均 67.9 歳）、男/女 20/3 例、右/左 10/13 例。組織型・TNM 分類（術後）は、上皮型/肉腫型/二相型 17/1/5 例、T1/2/3/4: 7/3/10/3 例、N0/1/2: 17/0/6 例、M0 23 例であった。術前化療 1 例、残る 22 例で初手から P/D 施行し、心膜・横隔膜は必要時に合併切除再建した。

結果 : 全例で肉眼的完全切除（MCR）が達成された。術後合併症 20 例（87%）、うち肺瘻遷延 7 日超 11 例（48%）、不整脈 8 例（35%）、無気肺 5 例（22%）、膿胸胸膜炎 3 例（13%）、再手術 4 例（17%）、在院死なし。術後化療遂行（複数コース）21 例（91%）。OS: 2 生/5 生 80%//41%で、median 57 月。DFS: 2 生/5 生 49%/32%で median 23 月であった。再発は 10 例（43%）にみられ、初発再発部位は局所 7 例、局所遠隔同時 3 例であった。

結語 : P/D および術中胸腔内温熱シスプラチン灌流をふくむ集学的治療は忍容性が高く生存期間を延長する。

Program No.Ⅴ(1)
悪性胸膜中皮腫の薬物治療 Up to date

武田真幸
近畿大学医学部腫瘍内科

非小細胞肺癌に於いては、*EGFR* 遺伝子変異や、*ALK* 融合遺伝子、*ROS1* 融合遺伝子の発見及びそれを標的とした薬剤の臨床導入により、ドライバー陽性肺癌症例は長期生存が得られるようになった。一方、悪性胸膜中皮腫は、その希少性や druggable gene alternation が低頻度の為、他の固形がんと比較し、分子標的薬開発は遅れを取っているのが実情である。ペメトレキセドとシスプラチンの併用療法は、化学療法未治療の悪性胸膜中皮腫に対して唯一承認されている薬物治療であるが、その生存期間中央値は約 12 ヶ月と十分ではなく、さらなる治療成績の向上が喫緊の課題である。約10年間新規薬剤の登場が待ち望まれていたが、ここ 2 年程の間に①血管新生阻害剤、②免疫チェックポイント阻害剤等の有望な薬剤の早期臨床試験データーが発表されつつある。悪性胸膜中皮腫は VEGFR, FGFR シグナルパスウェイが活性化していると考えられており、血管新生阻害の効果が期待される。シスプラチン+ペメトレキセドにベバシズマブの上乗せ効果を検証した第 3 相試験に於いて、ベバシズマブ併用群は有意な全生存期間の延長が示された。一方、ペメトレキセドとシスプラチンにニンテダニブの上乗せの有効性を評価するランダム化第Ⅱ相試験に於いてもニンテダニブ群が良好であったため、現在日本も含めたグローバル Phase III が進行中である。一方、2 次治療以降に於いてはエビデンスのある治療法は無いが、現在ニボルマブ、イピリムマブ等の免疫チェックポイント阻害剤の臨床試験が進行中であり、一定の効果が認められており、早期承認が求められる。他の新規分子標的として CD26 を標的とした薬剤開発も進んでおり、一部有効例も認められており、その実症例についても提示し、今後の悪性胸膜中皮腫の薬剤開発についてディスカッションを深めたい。

Program No.Ⅴ(2)

胸膜中皮腫における免疫チェックポイント阻害剤 Up to date

藤本伸一
岡山労災病院腫瘍内科

近年免疫チェックポイント阻害剤によるあらたながん免疫療法が注目されており、悪性黒色腫、非小細胞肺癌、腎細胞癌、ホジキンリンパ腫に加え頭頸部癌、胃癌においてもすでに臨床導入されている。悪性胸膜中皮腫に対する既存の化学療法の効果は限定的であるため、免疫チェックポイント阻害剤に強い期待が寄せられている。その中でも抗 CTLA-4 抗体や抗 PD-1 抗体について、近年すでにいくつかの臨床試験の成績が報告されている。

2015 年の世界肺癌会議において、既治療進行胸膜中皮腫（PD-L1 陽性例）を対象とした Pembrolizumab の臨床試験(KEYNOTE-028)の成績が報告され、少数例ではあるものの奏効率 28%、病勢コントロール率 73%と良好な成績であった。翌 2016 年には、国際中皮腫会議において Nivolumab について同じく良好な成績がオランダから報告されている。

本シンポジウムでは、これらを含め中皮腫における免疫チェックポイント阻害剤の現状を総括し、今後の動向を展望する。

メモ