

令和 4 年度産業科学研究所報告書

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
特任教授 森本幾夫

研究課題名 : 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併用療法の研究

研究実施期間 : 令和 4 年 4 月 1 日から令和 5 年 3 月 31 日まで

【研究目的】

悪性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社会的にも大きな問題となっている。研究代表者の森本等は 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、悪性中皮腫における CD26 の発現、抗体の抗腫瘍作用機構を明らかにしてきた。臨床試験では CD26 抗体では**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 抵抗性患者にも有効である可能性が示唆**された。現在施行されている 2 種類の ICI 併用療法では単剤よりも 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。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、**多くの悪性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を行う。

【研究成果】

1) ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体との併用効果の検討

重度の免疫不全マウスである NOG マウスに低線量の放射線を照射し、ヒト免疫化マウスを作成しヒト悪性中皮腫細胞株 H226(上皮型)および JMN(肉腫型)をマウスの側腹部に皮下移入した。小さな腫瘍形成を確認した時点から、control human IgG₁, ヒト化 CD26 抗体単独, mouse anti-human PD-1 mAb (以下、PD-1 抗体)単独, ヒト化 CD26 抗体と PD-1 抗体の併用をそれぞれ 200μg/dose で週 3 回投与を続けた。腫瘍サイズを週に 2 回採寸した結果、JMN と H226 の両方ともで、control 抗体投与群と比較して、CD26 抗体単独、PD-1 抗体単独それぞれで腫瘍増殖の抑制が見られ、併用投与群ではさらに腫瘍サイズが小さいことが示された。JMN と比較して H226 の方が併用投与の効果が顕著であった。

2) 腫瘍浸潤リンパ球の解析

皮下の腫瘍を回収して一部は病理学的解析とフローサイトメトリーによる腫瘍浸潤リンパ球(TIL)の割合の解析を行い、残りは TIL の精製に用いてフェノタイプの解析、mRNA 発現解析を行った。CD26 抗体単独または CD26 抗体と PD-1 抗体の併用投与群ではヒト T 細胞およびがん細胞膜上の CD26 の発現が顕著に低下していることが示された。このことは、CD26 抗体が結合することで細胞膜上から細胞内への CD26 分子の移行が起こっていると予想される。また、脾臓の T 細胞だけでなく、腫瘍内の T 細胞でも同様の変化が見られたことから、マウスに投与した CD26 抗体は腫瘍周囲に浸潤する T 細胞にも結合していると考えられる。同様に、細胞膜上の PD-1 の発現も解析した結果、ヒト

T細胞の細胞膜上のPD-1の発現も顕著に低下していることが示された。

肉腫型のJMNでは、CD26抗体とPD-1抗体の併用投与により、腫瘍内に浸潤したヒトCD8 T細胞数がcontrol IgG投与群と比べて有意に増加した。JMNよりも強い抗腫瘍効果が認められた上皮型のH226では、CD26抗体とPD-1抗体の併用投与により、腫瘍内のヒトCD8 T細胞数が有意に増加するとともにヒトCD4 T細胞数もいずれの群と比べても有意に増加していた。このことから、CD8 T細胞だけでなくCD4 T細胞の浸潤を促進することも、腫瘍免疫を亢進するうえで重要であることが示唆された。

3) 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臨床試験患者23例中「男性・上皮型・Nivolumab投与無し」の条件で無増悪生存期間PFSが長いSD3例とPD4例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。PD群と比較してSD群で高発現している遺伝子群とSD群と比較してPD群で高発現している遺伝子群をヒートマップにまとめ、SD症例では抗線維化、炎症亢進、増殖・代謝亢進に関わる遺伝子の発現が高く、SD症例3例に共通してPD症例よりも顕著に発現が高い遺伝子Xを見出した。また、PD症例では骨格筋や横紋筋、筋収縮、筋線維芽細胞に関係する遺伝子の発現が高く、PD症例4例に共通してSD症例よりも顕著に発現が高い遺伝子Yを見出した。CD26抗体有効例とPD症例とを判別できるバイオマーカー候補分子として特にXとYに着目し、悪性中皮腫組織の免疫染色に最適な抗体、及び、染色条件の検討を行い、最適条件を決定した。(今後特許申請を行う予定のため遺伝子の名前は明記せずX、Yとした。)

【結論】

ヒト悪性中皮腫細胞株H226とJMNを皮下移入する担がんモデルにおいて、ヒト化CD26抗体と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腫瘍増殖抑制効果が見られることが示された。腫瘍浸潤リンパ球の解析を行った結果、CD26抗体とPD-1抗体の併用投与を行った群の中でも特に強い抗腫瘍効果が認められた個体では、ヒトCD8 T細胞とともにCD4 T細胞の浸潤も顕著であった。CD26抗体はCD26陽性がん細胞に直接作用するとともに、ヒトT細胞とがん細胞膜上のCD26発現・可溶性CD26量を低下させることでDPP4酵素活性低下にも働くことを示した。

ヒト化CD26抗体の国内第I/II相臨床試験患者のSD症例3例とPD症例4例のDNAマイクロアレイ解析を行った。その結果、mRNAレベルにおいてSD症例で共通して発現が顕著に高い遺伝子XとPD症例で共通して発現が顕著に高い遺伝子Yを見出し、免疫染色で悪性中皮腫組織におけるそれらの発現評価を行える最適染色条件を決定した。