

## 第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

### Anti-CD137 monoclonal antibody enhances trastuzumab-induced, natural killer cell-mediated cytotoxicity against pancreatic cancer cell lines with low human epidermal growth factor-like receptor 2 expression

抗 CD137 抗体による HER2 低発現ヒト膵癌細胞株に対する  
Trastuzumab の ADCC 増強作用の検討

日本医科大学大学院医学研究科 消化器内科学分野  
研究生 柘 卓史

PLoS One. Volume 13, number 12, e0200664, 2018 掲載.

doi: 10.1371/journal.pone.0200664.

切除不能膵がんの予後は極めて不良であり、様々な化学療法が施行されているが治療成績は満足できるものではなく、副作用の問題もあり更なる治療法の開発が望まれている。Trastuzumab (Tmab)は腫瘍細胞表面に発現する Human Endothelial Growth Factor Receptor-related 2 (HER2)を標的とし、Natural Killer (NK)細胞をエフェクターとする抗体依存性細胞介達性細胞傷害 (Antigen-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC) により抗腫瘍活性を發揮するモノクローナル抗体であり、乳癌をはじめとする HER2 強発現腫瘍に対する臨床的有用性は周知のとおりである。HER2 は様々な程度でヒト膵癌細胞にも発現しており、Tmab の抗腫瘍活性を検証した報告が散見されるが、一般的に膵癌細胞の HER2 発現は低く、効果は限定的であると考えられてきた。しかし最近様々なモノクローナル抗体を用いた Tmab の ADCC 増強が試みられており、特に抗 CD137 抗体は乳癌細胞に対する Tmab の効果を増強させることが報告されている。以上の知見に基づき、HER2 低発現ヒト膵癌細胞株に対する Tmab の ADCC を増強しうるモノクローナル抗体の探索および最適条件について *in vitro* で検証を行った。

11人の健常者より採取した末梢血単核球から磁気ビーズ法により CD3-/CD56+細胞をNK細胞として単離した。HER2 強発現ヒト膵癌細胞株 Capan-1、HER2 低発現株 Panc-1 に対する Tmab の ADCC 活性に関与する NK 細胞表面分子を探索した結果、CD137 を関連分子として選択し、抗 CD137 抗体添加が Tmab の ADCC 活性に及ぼす効果について LDH-releasing assay 法により測定した。細胞表面、細胞内分子発現は Flow cytometry を用いて解析を行った。

NK 細胞の Capan-1 に対する ADCC は Tmab により著明に増強したが、Panc-1 に対する

ADCC は微弱であり、Tmab 添加による増強はみられなかった。NK 細胞活性化に伴う表面分子発現に Tmab が及ぼす効果を解析した結果、CD137 に発現増強が認められたため、抗 CD137 抗体添加が Panc-1 に対する Tmab の ADCC に及ぼす影響を検証した。抗 CD137 抗体添加による Tmab の Panc-1 に対する ADCC 増強効果には個体差があり、NK 細胞表面の CD137 発現増強の有無との関連が示唆された。この要因を明らかにする目的で Fcγ receptor IIIa 多様性による Tmab と NK 細胞の Fcγ receptor の結合親和性に着目し、抗 CD137 抗体添加後の Tmab による Panc-1 に対する ADCC 活性との関連を解析した結果、ADCC 活性増強効果は結合親和性の強い Fcγ receptor IIIa -VV/VF を保有する群において、親和性が弱い FF を保有する群に比べ強く認められた。以上の結果より、抗 CD137 抗体は特に Tmab と結合親和性が高い Fcγ receptor IIIa -VV/VF を有する NK 細胞で HER2 低発現ヒト膵癌細胞に対する ADCC を増強しうることが示唆された。

第二次審査では、HER2 低発現株に対して Tmab 及び抗 CD137 抗体を投与した際の ADCC 増強効果は HER2 強発現細胞株に対する Tmab 関連 ADCC と比肩しうるか、Tmab 及び抗 CD137 抗体投与の用量やタイミングについて、HER2 発現が多い臓器と Tmab による免疫学的な副作用の関連について、Tmab による CD137 発現増加、Paclitaxel による NK 細胞数増加のメカニズム、抗 CD137 抗体の実臨床での成績や副作用についてなど多岐にわたる質問があったが、いずれも本研究で得られた知見や過去の文献的考察からの的確な回答を得られ、申請者が本研究に関連する知識を十分に有していることが示された。

今回の検討から、ヒト膵癌細胞株に対する Tmab を介する NK 細胞由来の ADCC が、抗 CD137 抗体併用により増強することで Fcγ receptor IIIa の遺伝子多型が ADCC 活性に関与することを示し、本邦で多数を占める HER2 低発現膵癌に対する抗 CD137 併用 Tmab 投与が切除不能膵癌に対する新たな化学療法の可能性を示し、今後の展開を期待できる成果を得た。以上より、本文は学位論文として価値あるものと認定した。