

背景：切除不能膵がんの予後は極めて不良である。様々な化学療法が施行されており、近年は Gemcitabine(GEM)+Nab-paclitaxel、FORFILINOX 療法等のレジメンで予後延長効果が報告されているが、副作用も多く更なる治療法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発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 高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本稿では、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。

方法：同意を得て 12 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。本細胞の抗腫瘍活性は NK 細胞感受性ヒト胸腺腫細胞株 K562 に対する抗腫瘍活性で確認した。HER2 強発現ヒト膵癌細胞株 Capan-1、同弱発現株 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 法で測定した。NK 細胞と IgG-Fc の結合親和性は Fc-Receptor (FcR) の多様性により異なるため、用いた NK 細胞の Fc γ R-III 多様性を解析し、Tmab による ADCC 活性との関連を検討した。本実験系における NK 細胞が産生する Interferon gamma (IFN- γ)、Tumor necrosis factor (TNF)- α は Enzyme-Linked

Immunosorbent Assay (ELISA)で定量した。細胞表面、細胞内分子発現は Flow cytometry を用いて解析を行った。

結果：NK 細胞の HER2 強発現ヒト膵癌細胞株 Capan-1 に対する ADCC は Tmab により著明に増強したが、弱発現株 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 のみ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-RIII 多様性による Tmab と NK 細胞 FcR 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-RIII-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。また NK 細胞が放出する IFN γ 、TNF α は VV/VF 群で Tmab により増強が認められたが、抗 CD137 抗体添加による増量は確認されなかった。

細胞内 Flow cytometry の結果、Tmab の Capan-1 に対する ADCC 誘導において NK 細胞内の perforin, granzyme-B 発現量が減少することが確認された。

考察：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-RIII-VV/VF を有する NK 細胞で HER2 弱発現ヒト膵癌細胞株 Panc-1 に対する ADCC を増強しうることが示唆され、この傷害活性には NK 細胞の Perforin, Granzyme-B 脱顆粒が関与していることが示唆された。本実験結果は本邦で多数を占める HER2 低発現膵癌に対する抗 CD137 併用 Tmab 投与が新たな治療 Strategy となりうる可能性を示したものである。

本邦における Fcγ-RIII 遺伝子多型は VV/VF; 31-60%、FF; 42-50%と報告されており、こ

れによれば本邦の HER2 低発現膵癌症例の 30~60%に Tmab/抗 CD137 抗体併用の効果が期待されるが、本研究の規模は非常に小さく、検証のためには大規模解析が必要である。

ヒト乳癌細胞株を用いた報告と比較して本研究で示した ADCC 活性はやや弱く、この原因として NK 細胞数が少ないことが考えられた。また NK 細胞活性は制御性 T 細胞 (T-regulatory cell, Treg) による抑制的なコントロールを受けていることも報告されており、Tmab/抗 CD137 抗体併用による ADCC 誘導を更に効果的にするためには *in vivo* における NK 細胞 recruit、Treg 活性抑制による NK 細胞活性維持の実現が有効な手法と思われた。Paclitaxel 投与により末梢血中 NK 細胞数が増加すること、Gemcitabine が Myeloid-derived suppressor cell への影響を介して Treg 活性を抑制することが報告されており、本稿の結果は既に臨床に用いられている Nab-paclitaxel-Gemcitabine 療法に併用することで膵癌に対する抗腫瘍効果を増強することが期待される。