

# 論文内容要旨

Stimulation of natural killer cells with rhCD137  
ligand enhances tumor-targeting antibody efficacy  
in gastric cancer

(rhCD137 リガンドによる NK 細胞刺激により胃癌  
に対する分子標的薬の効果は増強する)

PLoS ONE, 13(10):e0204880,2018.

主指導教員：大段 秀樹教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：安井 弥教授

(医歯薬保健学研究科 分子病理学)

副指導教員：田邊 和照准教授

(医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学)

三隅 俊博

(医歯薬学総合研究科 創生医科学専攻)

【背景】CD137は腫瘍壊死因子受容体スーパーファミリーに属する膜貫通型糖蛋白質で、活性化した免疫細胞に表出し、増殖や生存、サイトカインの産生を増加させる共刺激分子として知られている。悪性新生物においては、B細胞リンパ腫、乳癌、頭頸部癌、大腸癌などで、分子標的薬の投与によりNK細胞にCD137を発現誘導し、Agonist CD137抗体を投与することによって抗体依存性細胞障害性(ADCC)を増強することが報告された。しかし、胃癌におけるCD137の発現の有無や発現誘導機序について検討した報告はない。そこで、胃癌制癌治療におけるCD137の意義について検討するとともに、発現誘導機序について解析を行った。

【方法】胃癌に対しADCC活性を生じたNK細胞にCD137が発現するかを解析するため、健常人より抽出したNK細胞と各胃癌細胞株をTrastuzumab、Cetuximab、Pertuzumab投与下に培養し、CD137の発現をフローサイトメトリーで測定した。さらに recombinant human CD137 ligand (rhCD137L)による抗腫瘍効果の増強の有無について検討するため、<sup>51</sup>Cr 遊離試験や Cytometric Bead Array を用いたサイトカイン (IFN $\gamma$ 、TNF、Granzyme A、Granzyme B) の測定、CD56/CD107a 二重染色を行った。次にNK細胞のCD137発現誘導については、IgG抗体サブクラスやNK細胞の一塩基多型との親和性に着目してフローサイトメトリーで解析した。

【結果】各種胃癌細胞株にTrastuzumabを投与しNK細胞と培養したところ、HER2陽性率に相関してNK細胞のCD137の発現が著明に増加した ( $p < 0.001$ )。また抗腫瘍効果について検討したところ、Trastuzumabに加えrhCD137Lを投与することにより、10-15%の抗腫瘍効果の増強を認めた。rhCD137Lの投与により、NK細胞のphenotypeに変化は認められなかったが、IFN $\gamma$ 、TNFなどのサイトカイン分泌は有意に増加した ( $p < 0.05$ )。Cetuximabにおいても、NK細胞のCD137発現が増加し、rhCD137Lの投与による抗腫瘍効果の増強を認め ( $p < 0.01$ )、Trastuzumabと同様の結果が得られた。さらに異なるHER2ドメインに結合するTrastuzumabとPertuzumabの併用投与が、CD137の発現やrhCD137Lによる抗腫瘍効果におよぼす影響について検討したところ、NK細胞のCD137の発現は単独投与と比べ、相加的に増加し、rhCD137Lの投与による抗腫瘍効果も増強することを見出した ( $p < 0.05$ )。次にNK細胞のCD137発現誘導機序について検討した。ADCCはNK細胞のFc $\gamma$ Rと抗体のFc構造との結合が重要であることより、IgGサブクラスの違いによるCD137の発現変化について検討した。IgG1-4サブクラスを各々固相化し、NK細胞を共培養したところ、Fc $\gamma$ Rと親和性の高いIgG1、IgG3サブクラスで有意にCD137の発現が増加した ( $p < 0.001$ )。さらにNK細胞のFc $\gamma$ RにはFc $\gamma$ RIIIAの一塩基多型が存在し、感染症や抗腫瘍効果に影響していることが報告されており、Fc $\gamma$ RIIIAの一塩基多型についても検討したところ、158F(V/F、F/F)と比較し、158V/VのNK細胞で有意にCD137の発現を認めた ( $p = 0.014$ )。

CD137 の発現誘導には FcγR と Fc 構造の親和性が深く関与していると考えられた。

【結語】胃癌においても、rhCD137L の投与により NK 細胞の ADCC 活性を増強することを明らかにした。さらに NK 細胞の CD137 発現が、抗体の Fc 構造および FcγRIIIA の遺伝子多型に伴う親和性に依存することを明らかにした。CD137 は胃癌における免疫化学療法の新たな標的分子となりうる可能性が示唆された。