

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「免疫機構をターゲットとした創薬」(抗CD73抗体を用いた癌の免疫療法の開発)
2. 研究開発代表者：黒澤良和（学校法人藤田学園 藤田保健衛生大学・研究支援推進センター）
3. 研究開発の成果

**(概要)** がん細胞は、細胞膜上に CD73 を大量に発現することにより周囲のアデノシン濃度を高めて自分を攻撃する可能性のある NK 細胞や CTL 細胞の活性化を抑制し、周囲の微小環境を免疫不活化状態に保つ。そこで抗 CD73 抗体投与により AMP をアデノシンに変換する CD73 の酵素活性を抑制すれば癌細胞微小環境の免疫系を活性化し、CTL による癌細胞の攻撃を誘発できると考えられている。

本プロジェクトは新規がん治療用抗体開発を目指して、抗 CD73 ヒト抗体を多数単離しその性質を解析する研究を進めてきた。本研究では、動物（マウス及びラット）モデル、Xenograft モデル、ヒトレベルと多層的に実験系を揃え、申請者らの抗体単離能力を生かして標的となる CD73 に対して、対象とする動物及びヒト由来分子に結合する抗体を準備し、がん組織がどのような条件下にあれば抗 CD73 抗体がそれを絶滅させる効果を示すかについて検討した。また、すでに所有する抗 CD73 ヒト抗体の臨床試験開始に向け、実験的証拠をまとめる計画で研究が進められた。

分担研究者である名古屋市立大学津田洋幸教授のグループは、がん細胞移植を経ずにウイルスを用いてがんを誘発する膵管がんラットの実験系開発に成功している。この場合は intact な免疫系を有する実験系であるために、抗 CD73 抗体投与による癌細胞微小環境への影響、CTL 活性化の有無を解析すること可能となる。この目的に合致する実験系の確立を行った。

これら一連の開発系を用いて抗体の選別を進め、安全性（正常組織に反応性や集積性を持たない）、高機能性（アデノシン産生阻害能を有し、抗がん作用を示す）、高特異性・親和性（精製 CD73 のみならず、動物動態試験でがん部への高い集積性を示す）を保持する抗体を得ることに成功した。

### **(結果)**

**1. ヒト抗 CD73 抗体セットの完備**：抗ヒト CD73 抗体 14 種類（がん治療用抗体候補）と抗マウス CD73 ヒト抗体 5 種類（CD73 抗体による治療の POC 確立の為に使用）を単離した。これらの抗体の中から優れた性質を示すクローンを選別し、IgG 型ヒト抗体を作製し、機能評価を行った。その結果、結合性、機能性、安定性の点で優れた抗体の作製に成功した。

**2. 抗 CD73 抗体投与によるがん周辺微小環境の免疫寛容評価系の確立**：抗 CD73 抗体投与によるアデノシン産生阻害によるがん抑制効果を評価する為に、抗体、がん細胞、精製 CD73 分子および AMP や低分子を用いた in vitro 評価系の確立を行った。

**3. 膵管がん発症モデルラットの完備**：免疫系を標的とする“がん治療法並びに新薬開発”にとって i) 免疫系が intact で有り、ii) 発がん様式、組織形態がヒトがん患者と同一もしくは極めて近いモデル動物の存在は必要不可欠である。本研究では、免疫不全マウスを用いた Xenograft では達成できない、膵がんモデルラット作製とその評価法を確立した。

**4. アデノシン経路のオン・オフ制御を可能にする抗体取得法の確立**：免疫系の活性化/不活性化を制御するアデノシン経路は、AMP をアデノシンに分解する CD73（がん細胞側で発現）と共に、アデノシンを受け取る側に相当する受容体 A2AR（免疫制御細胞側で発現）から成り立っている。そこで抗 CD73 抗体投与によるアデノシン産生の抑制とアンタゴニスト活性を示す抗 A2AR 抗体投与は、免疫系の活性化という同じ効果を示すことが期待される。そこで本研究では広く応用可能な抗 A2AR 抗体単離法を確立して、アゴニスト抗体及びアンタゴニスト抗体単離を目指した。A2AR は七回膜貫通分子で一般的にモノクローン抗体単離が困難なことで知られているが、全く新規な抗体単離法を考案して既に数個の抗 A2AR 抗体候補クローン単離に成功した。

### **(結語)**

本研究は、免疫系活性/不活性化を決定する癌細胞の微小環境のアデノシン濃度に大きな影響を与えるアデノシン経路（CD73 及び A2AR）を標的とする抗体を癌治療薬とするための重要な一歩となった。