

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： がん免疫療法との併用による分子標的薬の治療抵抗性の克服
2. 研究開発代表者： 酒井 敏行（京都府立医科大学大学院医学研究科分子標的癌予防医学）
3. 研究開発の成果

本研究の最終目的は、新規RAF/MEK阻害剤CH5126766と抗PD-1抗体nivolumabとの併用臨床試験、および新規HDAC阻害剤OBP-801と抗PD-1抗体nivolumabとの併用臨床試験に向けた前臨床試験データを収集することである。そのために、本研究課題では、複数のマウス同種腫瘍移植モデルを用い、上記の併用投与試験を施行し、最も抗腫瘍効果を発揮しうる用法、用量、投与順序の検討と併用による作用増強のメカニズム解明を目指す。今年度の研究開発期間（平成27年9月1日～平成28年3月31日）では、まず各種薬剤の単剤による抗腫瘍効果について検討を行った。研究開発分担者の曾和、堀中、安田（京都府立医科大学）、土井（国立がん研究センター）と、研究開発協力者の森田（京都府立医科大学）、石川（中外製薬）、笹倉（オンコリスバイオフィーマ）、吉田（小野薬品工業）らと関連する実験について情報共有の上で下記の実験を計画し、施行した。なお、本研究での*in vivo*実験および*in vitro*実験では、CH5126766は中外製薬より、OBP-801はオンコリスバイオフィーマより、マウス抗PD-1抗体は小野薬品工業より提供されたものを使用している。

### in vivo実験（担当：曾和、堀中、安田、森田）

#### 【方法】

マウスKRAS変異大腸がんCT26細胞（BALB/c）、マウス肺がんLLC細胞（C57BL6/J）の移植条件を検討した。まず、CT26細胞移植モデルにおいて、CH5126766単剤投与、OBP-801単剤投与、マウス抗PD-1抗体単剤投与による抗腫瘍効果の検証を開始した。

がん免疫療法と分子標的薬との併用投与試験における「作用増強機構」検討項目として、マウス腫瘍内浸潤性CD8<sup>+</sup>T細胞数、T<sub>reg</sub>細胞数、骨髄由来免疫抑制細胞数の評価を計画した。各種細胞の細胞表面抗原解析の予備試験として、CT26細胞移植モデルマウスから、腫瘍・全血・脾臓サンプルを採取し、抗体の反応条件や、BD FACSCanto II フローサイトメーターを用いた細胞表面抗原解析における測定条件の検討を行った。

#### 【結果】

併用投与試験におけるCH5126766の投与量を決定した。OBP-801およびマウス抗PD-1抗体単剤投与試験に関しては、継続して平成28年度に再現性確認試験を行った後、投与量を決定する。CT26細胞移植モデルを用いた、腫瘍免疫システムへの影響評価試験については、研究開発協力者からの情報により大幅に改善された。現在も、細胞分離の手順および使用抗体について条件検討を続けている。さらに、CT26細胞移植モデル、LLC細胞移植モデル以外のマウス同種移植モデルでの検討を進めていく予定である。

### in vitro実験（担当：堀中、安田）

#### 【方法】

ヒト肺がんA549細胞、H460細胞、マウス大腸がんCT26細胞の細胞表面PD-L1発現および細胞表面NKG2D リガンドに対するCH5126766およびOBP-801の影響を検討した。

#### 【結果】

CH5126766はいずれの細胞においても細胞表面PD-L1発現を抑制した。NKG2Dリガンドに対する影響はほとんど認められなかった。OBP-801はA549細胞に対してはPD-L1発現を抑制し、H460細胞に対しては、PD-L1発現を誘導した。A549細胞、H460細胞に対しては、NKG2D リガンドであるULBPの顕著な発現亢進が認められた。

4. その他  
特になし