

201118075A

厚生労働科学研究費補助金

第3次対がん総合戦略研究事業

がん・精巢抗原を標的としたATLに対する
新規免疫療法の開発
(H23-3次がん-一般-011)

平成 23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石田 高司

平成 24 (2012) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告	
がん・精巣抗原を標的としたATLに対する新規免疫療法の開発 (H 2 3-3 次がん-一般-0 1 1)	1
石田 高司 (名古屋市立大学大学院医学研究科)	
II. 分担研究報告	
1. 免疫学的実験	5
西川 博嘉 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター)	
2. ATLにおけるがん・精巣抗原発現の病理学的検討	8
稲垣 宏 (名古屋市立大学大学院医学研究科)	
3. 患者検体採取時の説明と同意、患者臨床情報収集研究の統括	10
宇都宮 與 (公益財団法人 慈愛会今村病院分院)	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	13
IV. 研究成果の刊行物・別刷	17

I. 総括研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
総括研究報告書（平成23年度）

「がん・精巣抗原を標的とした ATL に対する新規免疫療法の開発」班

研究課題： 研究の統括 遺伝子解析 動物実験 免疫学的実験

研究代表者

名前 石田高司 所属 名古屋市立大学大学院医学研究科 職名 講師

研究要旨

ATL 患者由来の腫瘍細胞においてがん・精巣抗原の発現を高頻度に認めた。RT-PCR での発現頻度は NY-ESO-1 (61.4%)、MAGE-A3 (31.6%)、MAGE-A4 (61.4%)であり、このうちいずれかを発現している ATL 患者は 87.7%であった。NY-ESO-1 陽性 ATL 患者において NY-ESO-1 特異的液性免疫、および細胞性免疫を検出し得た。本研究によって、ATL においてがん・精巣抗原が高頻度に発現していることが明らかになり、がん・精巣抗原が ATL において有望な免疫療法の標的抗原になり得ることが明らかになった。

A. 研究目的

HTLV-1感染者は日本国内に約108万人、世界には約2,000万人存在すると推定されており、現時点ではATL発症予防法は確立されていない。また、ATLは著しく予後不良な疾患であり、標準的治療は確立されていない。一方、ATL患者にみられる同種造血細胞移植療法での長期生存例は、本腫瘍に免疫療法が有効であることを示唆する。

ATL に対する免疫療法の標的として HTLV-1 関連抗原、Tax および HBZ が広く検討されてきた。しかし、HTLV-1 キャリアからアグレッシブ ATL へ病期が進展する過程で Tax の発現頻度が低下すること、さらにはアグレッシブ ATL 患者では Tax に対する有効な免疫応答が観察されないこと、報告されており、現時点では免疫療法の標的抗原としての妥当性に結論が出ていない。HBZ についても免疫原

性が低いことが報告されており、免疫療法の標的抗原としての可能性は現時点ではむしろ否定的である。

研究者らは ATL に対する新規免疫療法の標的として、多くの固形がんに対する免疫療法の標的抗原として臨床試験が進んでいる、がん・精巣抗原を位置づけた。その上で、HTLV-1/ATL に対する新

規治療開発研究(CCR4 抗体)で実績を有する、石田、稲垣、宇都宮と、がん・精巣抗原に対する免疫応答分野で、日本を代表する研究者である西川が本研究班を構成した。その上で以下に示す3つの項目を研究目的に掲げた。

- i) HTLV-1 感染から ATL 発症に至るまでの免疫病態の解明
- ii) HTLV-1 キャリアの ATL 発症予防法の確立
- iii) ATL に対するがん・精巣抗原を標的とした新規

B. 研究方法

ATL 患者から書面、口頭での説明の上、書面で同意を得て、リンパ節、末梢血由来の ATL 細胞、または血清を取得した(石田、宇都宮)。

がん・精巣抗原の発現は、ATL 患者リンパ節もしくは末梢血より mRNA を採取し、11 種類のがん・精巣抗原の発現を RT-PCR および real-time PCR 法にて検討した(石田、西川)。蛋白レベルでの発現は免疫組織染色で検討した(稲垣)。

また、ELISA 法により 10 種類のがん・精巣抗原に対する液性免疫応答を解析した(西川)。NY-ESO-1 に関しては末梢血検体が十分に得られた 9 症例で CD4 および CD8 T 細胞免疫応答を検討した(石

田、西川)。さらにそのうち 1 例では自己 ATL 細胞が得られたため、これらに対する反応性も検討した(西川)。

C. 研究結果

i) がん・精巣抗原は ATL 細胞に高頻度に発現している

57 例の ATL 患者細胞で 11 種類のがん・精巣抗原 (NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT-7, CT-10, SSX-1, SSX-2, SSX-4, and SCP-1)の発現を検討したところ、NY-ESO-1 (61.4%)、MAGE-A3 (31.6%)、MAGE-A4 (61.4%)で高頻度に発現が認められた。SCP-1 で 23.2%の発現が認められたが、他の抗原の発現は限られたものだった。また、NY-ESO-1、MAGE-A3 もしくは MAGE-A4 のいずれかを発現している ATL 患者は 87.7%にのぼった。

ii) ATL 患者ではがん・精巣抗原に対する液性免疫応答がみとめられる

ATL 患者では、がん・精巣抗原が高発現していることが明らかとなったため、43 例の ATL 患者血清を用いて 10 種類のがん・精巣抗原(NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT-7, CT-10, SSX-1, SSX-2, and SSX-4)に対する液性免疫応答を検討した。11.6%の患者で NY-ESO-1 に対する液性免疫応答が認められた。他のがん・精巣抗原に対する抗体反応は限られたものだった。

iii). ATL 患者ではがん・精巣抗原 NY-ESO-1 に対する細胞性免疫応答がみとめられる

NY-ESO-1 に対する抗体反応が認められたため、末梢血検体が十分に得られた 9 名の ATL 患者において NY-ESO-1 特異的 CD8 および CD4+T 細胞の同定を試みた。CD8+T 細胞誘導は、HLA/ペプチドテトラマー(テトラマーが使用可能な HLA を持っている患者)と NY-ESO-1 抗原刺激に対する細胞内サイトカイン染色法により検討した。9 症例中 5 症例で NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞応答が同定された。一方 NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞は 9 症例中 1 症例で認めるのみであった。これは CD4+ 細胞分画には ATL 細胞が残存しているためであると考えられた。

iv). がん・精巣抗原 NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞は自己 ATL 細胞に反応する

5 症例の NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞応答が同定された患者のうち 1 症例で自己 ATL 細胞が得られ

たため、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞が認識し、エフェクター機能を発揮できるかを検討した。ATL 患者由来 NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞は自己 ATL 細胞を認識し、エフェクターサイトカインを産生した。

D. 考察

ATL において がん・精巣抗原が高頻度に発現していることが明らかになった。一方で ATL 患者における、がん・精巣抗原に対する液性免疫応答は、他の固形腫瘍に比較し低率であった。研究者らはかつて ATL 細胞が FOXP3 を発現しており、制御性 T 細胞としての機能を有することを明らかにし報告している。この事実は ATL 患者では抗腫瘍免疫が惹起されにくい可能性を示唆する。がん・精巣抗原に対する低率な液性免疫応答は上記の所見で説明可能である。

研究者らは CCR4 を分子標的とする抗体薬 (KW-0761)の開発研究を実践してきた。KW-0761 は CCR4 陽性の ATL 細胞を選択的に殺傷し、免疫療法のエフェクターとなる CD8 陽性細胞に対する直接作用を有さない。加えて免疫療法の障害となる内因性の制御性 T 細胞の除去作用を有するため、KW-0761 とがん・精巣抗原を標的とする免疫療法(ワクチン療法あるいは養子免疫療法)は有望でと考えられる。KW-0761 は本邦で 2012 年 3 月または 4 月に承認の予定である。

今後は KW-0761 治療との併用を見据え、KW-0761 前後でのがん・精巣抗原に対する免疫反応のモニタリングの実施により、より至適な免疫療法の確立につながることを期待される。

E. 結論

がん・精巣抗原はATLに対する免疫療法の新規標的分子となり得ることが示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表
英文論文発表

- (1) Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R.; Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma: A Multicenter Phase II Study. *J Clin Oncol*. 2012 Feb 6. [Epub ahead of print] DOI: 10.1200/JCO.2011.37.3472
- (2) Nishikawa H*, Maeda Y*, Ishida T*, Gnjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R and Sakaguchi S; Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*. *Equal contribution, 2012 February 8. [Epub ahead of print] DOI:10.1182/blood-2011-09-37998.
- (3) Ishida T, Ueda R.; Immunopathogenesis of lymphoma: focus on CCR4. *Cancer Sci*. 2011 Jan;102(1):44-50.
- (4) Ishida T, Ueda R.; Antibody therapy for Adult T-cell leukemia-lymphoma. *Int J Hematol*. 2011 Nov;94(5):443-52.
- (5) Yamada S, Sato F, Xia H, Takino H, Kominato S, Ri M, Ishida T, Iida S, Inagaki H, Yamada K. Forkhead box P1 overexpression and its clinicopathological significance in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Hum Pathol*. in press.
- (6) Shimizu K, Murakami H, Sawamura M, Hattori Y, Iida S, Ishida T, Sunami K, Asaoku H, Sakai A, Abe M, Takagi T. Efficacy of Long-Term Treatment with Low-Dose Thalidomide for Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. *International Journal of Clinical Medicine* 2011; 2:570-575.

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定含む)
特になし

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書（平成23年度）

「がん・精巣抗原を標的とした ATL に対する新規免疫療法の開発」班

分担研究課題： 免疫学的実験

研究分担者

名前 西川 博嘉 所属 大阪大学免疫学フロンティア研究センター 職名 特任准教授

研究要旨

ATLは著しく予後不良な疾患であり、標準的治療は確立されていない。従ってATLに対する新規の治療法の確立が急務である。平成23年度は、がん・精巣抗原を標的とした新規免疫療法の開発のために、ATL患者における11個のがん・精巣抗原の発現頻度を詳細に解析した。解析したがん・精巣抗原のなかで、NY-ESO-1 (61.4%)、MAGEファミリー抗原 (MAGE-A3 31.6%、MAGE-A4 61.4%) の発現が高頻度に認められた。またATL患者で、これらのがん・精巣抗原に対する免疫応答を詳細に解析したところ、がん・精巣抗原に対する液性、細胞性免疫応答が認められた。とりわけがん・精巣抗原の一つであるNY-ESO-1特異的CD8+ T細胞は自己ATL細胞を認識しエフェクター機能を発揮することが明らかとなった。これらのことから、がん・精巣抗原はATLに対する免疫治療の標的となり得ることが明らかとなった。

A. 研究目的

HTLV-1 感染者は日本国内に約 108 万人、世界には約 2,000 万人存在すると推定されており、現時点では ATL 発症予防法は確立されていない。また、ATL は予後不良の疾患で、標準的治療が確立されているとは言い難く、新規治療法開発とともに、効果的な ATL 発症予防法の確立が急務である。新規治療法として免疫療法が注目されているが、HTLV-1 感染に対する免疫応答はウイルス抗原、とりわけ Tax および HBZ に対する免疫応答が広く検討されてきた。しかし、ATL 急性型では Tax 発現頻度は低下していることから、多くの ATL 患者では Tax に対する免疫応答が ATL 排除に有効ではない可能性が指摘され、問題となっている。HBZ は免疫原性が低く、免疫治療への応用の可能性は今後の課題である。これらのことから、新たな免疫療法の標的の同定と HTLV-1 キャリアおよび ATL 患者でのそれらの抗原に対する免疫応答を明らかにし、免疫療法の候補としての可能性を明らかにすることが急務である。本研究においてはすでに悪性黒色腫等の固形癌で免疫治療の標的として臨床試験が開始されている、がん・精巣抗原について、ATL 免疫治療の候補としての可能性を

検討するとともに、HTLV-1 キャリアからの発症予防へと展開する可能性を明らかにするため、がん・精巣抗原に対する免疫応答を明らかにする。

B. 研究方法

書面にて同意が得られた ATL 患者のリンパ節病変、末梢血単核球、血清を用いてがん・精巣抗原の発現頻度およびそれらに対する液性・細胞性免疫反応を解析した。

がん・精巣抗原発現は、ATL 患者リンパ節もしくは末梢血より mRNA を採取し、11 種類のがん・精巣抗原の発現を RT-PCR および real-time PCR 法にて検討した。一部病理検体が入手できた患者では、免疫組織染色でも検討した。

また、ELISA 法により 10 種類のがん・精巣抗原に対する液性免疫応答を解析した。その中で最も反応が見られた NY-ESO-1 に関しては末梢血検体が十分に得られた 10 症例で CD4 および CD8 T細胞免疫応答も検討した。さらにそのうち 1 例では自己 ATL 細胞が得られたため、これらに対する反応性も検討した。

C. 研究結果

1.がん・精巢抗原は ATL 細胞に高頻度に発現している 57 例の ATL 患者細胞で 11 種類のがん・精巢抗原(NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT-7, CT-10, SSX-1, SSX-2, SSX-4, and SCP-1)の発現を検討したところ、NY-ESO-1 (61.4%)、MAGE-A3 (31.6%)、MAGE-A4 (61.4%)で高頻度に発現が認められた。SCP-1 で 23.2%の発現が認められたが、他の抗原の発現は限られたものだった。また、NY-ESO-1、MAGE-A3 もしくは MAGE-A4 のいずれかを発現している ATL 患者は 87.7%にのぼった。

2. ATL 患者ではがん・精巢抗原に対する液性免疫応答がみとめられる ATL 患者では、がん・精巢抗原が高発現していることが明らかとなったため、43 例の ATL 患者血清を用いて 10 種類のがん・精巢抗原(NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT-7, CT-10, SSX-1, SSX-2, and SSX-4)に対する液性免疫応答を検討した。11.6%の患者で NY-ESO-1 に対する液性免疫応答が認められた。他のがん・精巢抗原に対する抗体反応は限られたものだった。

3. ATL 患者ではがん・精巢抗原 NY-ESO-1 に対する細胞性免疫応答がみとめられる NY-ESO-1 に対する抗体反応が認められたため、末梢血検体が十分に得られた 9 名の ATL 患者において NY-ESO-1 特異的 CD8 および CD4+T 細胞の同定を試みた。CD8+T 細胞誘導は、HLA/ペプチドテトラマー(テトラマーが使用可能な HLA を持っている患者)と NY-ESO-1 抗原刺激に対する細胞内サイトカイン染色法により検討した。9 症例中 5 症例で NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞応答が同定された。一方 NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞は 9 症例中 1 しょうれいのみで認められるのみであった。これは CD4+ 細胞分画には ATL 細胞が残存しているためであると考えられた。

4.がん・精巢抗原 NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞は自己 ATL 細胞に反応する

5 症例の NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞応答が同定された患者のうち 1 症例で自己 ATL 細胞が得られたため、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞が認識し、エフェクター機能を発揮できるかを検討した。ATL 患者由来 NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞は自己

ATL 細胞を認識し、エフェクターサイトカインを産生した。

D. 考察

ATLにおいてがん・精巢抗原が高率に発現していることが示された。ATLでの発現頻度は、これまで固形癌でほうこくされてきたもの（悪性黒色腫 NY-ESO-1 32-45%、MAGE-A4 28%、食道癌 NY-ESO-1 24-33%、MAGE-A4 63-90.2%、卵巣癌 NY-ESO-1 30-43%、MAGE-A4 57%、膀胱癌 NY-ESO-1 18-35%、MAGE-A4 33%）と比較して、同等もしくはかなり頻度が高かった。さらにこれらのがん・精巢抗原、とりわけNY-ESO-1を発現しているATL患者では、液性、細胞性免疫応答が認められた。これは、がん・精巢抗原が、ATLに対する免疫治療の新たな標的として有望であることを示していると考えられた。

一方で、がん・精巢抗原の発現頻度に比較して液性免疫応答が自然に誘導されている患者の割合は他の固形癌（悪性黒色腫、非小細胞肺癌 約 50%）に比較して低かった。これは、ATL細胞自身がFoxp3を発現し、CD4+制御性細胞様の免疫抑制活性を示すためであることが考えられた。よって、がん・精巢抗原を用いたがん免疫療法（ワクチン療法）を考える際は、化学療法もしくは抗CCR4抗体療法等により十分にATL細胞を体内より予め減らしておく必要がある可能性が示唆された。すなわち、現行の化学療法との併用が、より効果的である可能性が考えられた。

ATLは50-60年のHTLAV-1無症候性キャリア期を経て発症する。今後、がん・精巢抗原が、キャリア期のどの時期から発現し、ATL発症にどのように影響を与えるかを詳細に検討することが、がん・精巢抗原を標的とした、本来の意味でのATLワクチン療法を開発する上で重要である。

E. 結論

がん・精巢抗原はATLに対する免疫療法の新規標的分子となり得ることが示された。これにもとづき、現在ATL患者を対象としたNY-ESO-1蛋白を用いたがんワクチン療法のphase 1試験を倫理委員会に申請し、開始予定である（本臨床試験は、読売新聞朝刊 1 月 22 日版および朝日新聞朝刊 2 月 11 日版にて報道された）。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

英文論文発表

- (1) Nishikawa H*, Maeda Y*, Ishida T*, Gnjatich S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R and Sakaguchi S; Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. **Blood**. *Equal contribution, published ahead of print February 8, 2012, doi:10.1182/blood-2011-09-37998.
- (2) Noguchi T, Kato T, Wang L, Maeda Y, Ikeda H, Sato E, Knuth A, Gnjatich S, Ritter G, Sakaguchi S, Old LJ, Shiku H, and Nishikawa H.; Intracellular tumor-associated antigens represent effective targets for passive immunotherapy. **Cancer Res**. Published OnlineFirst February 8, 2012; doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-3072
- (3) Kawada J, Wada H, Isobe M, Gnjatich S, Nishikawa H, Jungbluth AA, Okazaki N, Uenaka A, Nakamura Y, Fujiwara S, Mizuno N, Saika T, Ritter E, Yamasaki M, Miyata M, Ritter G, Murphy R, Hoffman EW, Pan L, Old LJ, Doki Y, Nakayama E.; Heteroclitic serological response in esophageal and prostate cancer patients after NY-ESO-1 protein vaccination. **Int J Cancer**. 130:584-592 2012.

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定含む)

特になし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書（平成23年度）

「がん・精巣抗原を標的とした ATL に対する新規免疫療法の開発」班

分担研究課題： ATLにおけるがん・精巣抗原発現の病理学的検討

研究分担者

名前 稲垣宏 所属 名古屋市立大学大学院医学研究科 臨床病態病理学 職名 教授

研究要旨

ATL 病変の生検パラフィン標本を用いて NY-ESO-1、MAGE 免疫染色の条件設定を行い、最適な条件を設定した。標本は研究使用への文書での同意を取得したものをを用いた。結果、パラフィン標本を用いた NY-ESO-1、MAGE 免疫染色により、ATL では、がん・精巣抗原が発現している症例があることが明らかになった。現状ではパラフィン標本での免疫染色の感度は新鮮細胞を用いた RT-PCR に比べ低い。検出手法の改善を目指すとともに、各がん・精巣抗原の発現パターン、および発現の臨床的意義についての検討を進める。

A. 研究目的

ATL の予後は不良であり有効な治療法確立は急務である。研究者は ATL に対する新規免疫療法の標的としてがん・精巣抗原を位置づけ、ATL 生検標本での発現解析方法確立を目的とした。

B. 研究方法

ATL 病変の生検パラフィン標本を用いて NY-ESO-1、MAGE 免疫染色の条件設定を行い、最適な条件を設定した。標本は研究使用への文書での同意を取得したものをを用いた。

C. 研究結果

ATL では、がん・精巣抗原が発現している症例があることが明らかになった。

D. 考察/結論

パラフィン標本を用いた免疫組織学的 NY-ESO-1、MAGE の発現率は、同一患者から得られた新鮮 ATL 細胞を用いた RT-PCR での発現率に比較し、低率であった。現時点でのパラフィン標本を用いた NY-ESO-1、MAGE が陰性のケースにおいて、

NY-ESO-1、MAGE 特異的免疫反応が検出される症例があることから、現在の検出感度は十分ではないと考えられた。今後、免疫染色手法を改良し、より鋭敏な検出手法の確立を目指す。また各がん・精巣抗原の発現パターン、および発現の臨床的意義についての検討を進める。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

英文論文発表

- (1) Yamada S, Sato F, Xia H, Takino H, Kominato S, Ri M, Ishida T, Iida S, Inagaki H, Yamada K. FOXP1 Overexpression and Its Clinicopathological Significance in Peripheral T-cell Lymphoma, Not Otherwise Specified. **Hum Pathol**, in press
- (2) Okumura F, Sakuma H, Nakazawa T, Hayashi K, Naitoh I, Miyabe K, Yoshida M, Yamashita H, Ohara H, Inagaki H, Joh T. Analysis of VH gene rearrangement and somatic hypermutation in type 1 autoimmune pancreatitis. **Pathol Int**, in press.

- (3) Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R.; Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma: A Multicenter Phase II Study. *J Clin Oncol*. 2012 Feb 6. [Epub ahead of print] DOI: 10.1200/JCO.2011.37.3472
- (4) Nishikawa H*, Maeda Y*, Ishida T*, Gnjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R and Sakaguchi S; Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood*. *Equal contribution, 2012 February 8. [Epub ahead of print] DOI:10.1182/blood-2011-09-37998.
- (5) Kominato S, Nakayama T, Sato F, Yamada S, Xia H, Fujiyoshi Y, Hattori H, Inagaki H. Characterization of chromosomal aberrations in thymic MALT lymphoma. *Pathol Int*. 2012 Feb;62(2):93-8.
- (6) Ebi M, Kataoka H, Shimura T, Hirata Y, Mizushima T, Mizoshita T, Tanaka M, Tsukamoto H, Ozeki K, Tanida S, Kamiya T, Inagaki H, Joh T. The role of neuregulin4 and HER4 in gastrointestinal malignant lymphoma. *Mol Med Report*. 2011;4(6):1151-5.
- (7) Okumura Y, Miyabe S, Nakayama T, Fujiyoshi Y, Hattori H, Shimozato K, Inagaki H. Impact of CRTC1/3-MAML2 fusions on histological classification and prognosis of mucoepidermoid carcinoma. *Histopathology*. 2011;59(1):90-7.
- (8) Kojima M, Nakamura N, Nakazato Y, Igarashi T, Masawa N, Inagaki H. Light-chain-restricted monocytoid B-cell cluster in reactive lymphadenitis associated with Sjögren syndrome. *Leuk Lymphoma*. 2011 Jun;52(6):1150-2.
- (9) Xia H, Nakayama T, Sakuma H, Yamada S, Sato F, Takino H, Okabe M, Fujiyoshi Y, Hattori H, Inagaki H. Analysis of API2-MALT1 fusion, trisomies, and immunoglobulin VH genes in pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma. *Hum Pathol*. 2011;42(9):1297-304.
- (10) Sakakibara E, Kimachi S, Hashimoto K, Inagaki H, Nagasaka T, Wakusawa S, Yokoi T. An aspiration material preparation system: application of a new liquid-based cytology technique for fine-needle aspiration of the breast. *Acta Cytol*. 2011;55(1):92-9.
- (11) Wada N, Zaki MA, Kohara M, Ogawa H, Sugiyama H, Nomura S, Matsumura I, Hino M, Kanakura Y, Inagaki H, Morii E, Aozasa K. Diffuse large B cell lymphoma with an interfollicular pattern of proliferation shows a favourable prognosis: a study of the Osaka Lymphoma Study Group. *Histopathology*. 2012 Feb 9. doi: 10.1111/j.1365-2559.2011.04161.x. [Epub ahead of print]
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定含む)
特になし

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書（平成23年度）

「がん・精巣抗原を標的とした ATL に対する新規免疫療法の開発」班

分担研究課題： 患者検体採取時の説明と同意 患者臨床情報収集研究の統括

研究分担者

名前 宇都宮 興 所属 公益財団法人 慈愛会今村病院分院 血液内科 職名 院長

研究要旨

今村病院分院に通院中、あるいは入院中のATL患者あるいはHTLV-1感染キャリアから文書での同意を取得し、研究目的に血液を提供していただいた。その後、血液検体は個人情報分担管理者により連結可能匿名化が施され、ATL患者あるいはHTLV-1感染キャリア由来の末梢血単核球、血清は名古屋市立大学大学院医学研究科あるいは大阪大学免疫学フロンティア研究センターでがん・精巣抗原を標的としたATLに対する新規免疫療法の開発研究に使用された。

A. 研究目的

ATLの予後は不良であり有効な治療法確立は急務である。また、HTLV-1キャリアからATLを発症するのは約5%であるが、発症者、非発症者を事前に予測することはできない。HTLV-1キャリアからATLの発症に、HTLV-1感染細胞に対する宿主の免疫が重要な役割を果たしていると考えられており、がん・精巣抗原がその標的抗原の1つである可能性がある。本研究ではHTLV-1キャリアからATL発症にいたるまでの、がん・精巣抗原に対する免疫応答を明らかにすることを目的とする

B. 研究方法

今村病院分院に通院中、あるいは入院中のATL患者あるいはHTLV-1感染キャリアから文書での同意を取得し、研究目的に血液を提供していただいた。その後個人情報分担管理者により連結可能匿名化が施され、匿名化された検体を名古屋市立大学大学院医学研究科あるいは大阪大学免疫学フロンティア研究センターに送付した。

C. 研究結果

研究者が説明と同意の上採取したATL細胞での解析で、がん・精巣抗原が高頻度に発現している

ことが明らかになった。さらに寛解状態の一部のATL患者において、NY-ESO-1に対する細胞性免疫、液性免疫が誘導されている事が明らかになった。

D. 考察/結論

がん・精巣抗原は、ATLに対する免疫治療の新たな標的として有望であると考えられた。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

英文論文発表

- (1) Kannagi M, Hasegawa A, Kinpara S, Shimizu Y, Takamori A, Utsunomiya A: Double control systems for human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) by innate and acquired immunity. **Canter Sci** 102(4):670-676, 2011
- (2) Umino A, Nakagawa M, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Taira N, Katayama N, Seto M: Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node. **Blood**, 117(20):5473-5478, 2011
- (3) Araya N, Sato T, Yagishita N, Ando H, Utsunomiya A, Jacobson S, Yamano Y: Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and

- regulatory T cells in HTLV-1-associated neuroinflammatory disease. **Viruses** 3: 1532-1548, 2011
- (4) Waki F, Masuoka K, Fukuda T, Kanda Y, Nakamae M, Yakushijin K, Togami K, Nishiwaki K, Ueda Y, Kawano F, Kasai M, Nagafuji K, Hagihara M, Hatanaka K, Taniwaki M, Maeda Y, Shirafuji N, Mori T, Utsunomiya A, Eto T, Nakagawa H, Murata M, Uchida T, Iida H, Yakushiji K, Yamashita T, Wake A, Takahashi S, Takaue Y, Taniguchi S.: Feasibility of reduced-intensity cord blood transplantation as salvage therapy for graft failure: results of a nationwide survey of adult patients. **Biol Blood Marrow Transplant** 17(6): 841-851, 2011
- (5) Uota S, Dewan MZ, Saitoh Y, Muto S, Itai A, Utsunomiya A, Watanabe T, Yamamoto N, Yamaoka S: An I κ B kinase 2 inhibitor IMD-0354 suppresses the survival of adult T-cell leukemia cells. **Cancer Sci**, [Epub ahead of print]
- (6) Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T: Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers. **Cancer Cell** 21: 121-135, 2012
- (7) Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, Utsunomiya A, Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kurosawa G, Morishita K. Clinical significance of CADM1/TS�C1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma. **Leukemia** 2012 Jan 6. Doi. [Epub ahead of print]
- (8) Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R.; Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma: A Multicenter Phase II Study. **J Clin Oncol**. 2012 Feb 6. [Epub ahead of print] DOI: 10.1200/JCO.2011.37.3472
- (9) Nishikawa H*, Maeda Y*, Ishida T*, Gnjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R and Sakaguchi S; Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. **Blood**. *Equal contribution, 2012 February 8. [Epub ahead of print] DOI:10.1182/blood-2011-09-37998.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定含む)
特になし

III. 研究成果の刊行一覧

研究成果の刊行に関する一覧表レイアウト（参考）

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, sukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R	Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma : A Multicenter Phase II Study.	J Clin Oncol.	Epub ahead of print		2012
Nishikawa H*, Maeda Y*, Ishida T*, Gnjjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R and Sakaguchi S.	Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma.	Blood.	Epub ahead of print		2012
Ishida T, Ueda R.	Immunopathogenesis of lymphoma: focus on CCR4.	Cancer Sci.	102(1)	44-50	2011
Ishida T, Ueda R.	Antibody therapy for Adult T-cell leukemia-lymphoma.	Int J Hematol.	94(5)	443-52	2011
Yamada S, Sato F, Xia H, Takino H, Kominato S, Ri M, Ishida T, Iida S, Inagaki H, Yamada K.	Forkhead box P1 overexpression and its clinicopathological significance in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified.	Hum Pathol.	in press		
Shimizu K, Murakami H, Sawamura M, Hattori Y, Iida S, Ishida T, Sunami K, Asaoku H, Sakai A, Abe M, Takagi T.	Efficacy of Long-Term Treatment with Low-Dose Thalidomide for Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma.	International Journal of Clinical Medicine	2	570-75	2011
Noguchi T, Kato T, Wang L, Maeda Y, Ikeda H, Sato E, Knuth A, Gnjjatic S, Ritter G, Sakaguchi S, Old LJ, Shiku H, Nishikawa H.	Intracellular tumor-associated antigens represent effective targets for passive immunotherapy.	Cancer Res.	Epub ahead of print		2012
Kawada J, Wada H, Isobe M, Gnjjatic S, Nishikawa H, Jungbluth AA, Okazaki N, Uenaka A, Nakamura Y, Fujiwara S, Mizuno N, Saika T, Ritter E, Yamasaki M, Miyata M, Ritter G, Murphy R, Hoffman EW, Pan L, Old LJ, Doki Y, Nakayama E.	Heteroclitic serological response in esophageal and prostate cancer patients after NY-ESO-1 protein vaccination.	Int J Cancer.	130	584-92	2012

Okumura F, Sakuma H, Nakazawa T, Hayashi K, Naitoh I, Miyabe K, Yoshida M, Yamashita H, Ohara H, Inagaki H, Joh T.	Analysis of <i>VH</i> gene rearrangement and somatic hypermutation in type 1 autoimmune pancreatitis.	<i>Pathol Int</i>	in press		
Kominato S, Nakayama T, Sato F, Yamada S, Xia H, Fujiyoshi Y, Hattori H, Inagaki H.	Characterization of chromosomal aberrations in thymic MALT lymphoma.	<i>Pathol Int.</i>	62(2)	93-8	2012
Ebi M, Kataoka H, Shimura T, Hirata Y, Mizushima T, Mizoshita T, Tanaka M, Tsukamoto H, Ozeki K, Tanida S, Kamiya T, Inagaki H, Joh T.	The role of neuregulin4 and HER4 in gastrointestinal malignant lymphoma.	<i>Mol Med Report.</i>	4(6)	1151-5	2011
Okumura Y, Miyabe S, Nakayama T, Fujiyoshi Y, Hattori H, Shimozato K, Inagaki H.	Impact of CRTC1/3-MAML2 fusions on histological classification and prognosis of mucoepidermoid carcinoma.	<i>Histopathology.</i>	59(1)	90-7	2011
Kojima M, Nakamura N, Nakazato Y, Igarashi T, Masawa N, Inagaki H.	Light-chain-restricted monocytoid B-cell cluster in reactive lymphadenitis associated with Sjögren syndrome.	<i>Leuk Lymphoma.</i>	52(6)	1150-2	2011
Xia H, Nakayama T, Sakuma H, Yamada S, Sato F, Takino H, Okabe M, Fujiyoshi Y, Hattori H, Inagaki H.	Analysis of API2-MALT1 fusion, trisomies, and immunoglobulin <i>VH</i> genes in pulmonary mucosa-associated lymphoid tissue lymphoma.	<i>Hum Pathol</i>	42(9)	1297-304	2011
Sakakibara E, Kimachi S, Hashimoto K, Inagaki H, Nagasaka T, Wakusawa S, Yokoi T.	An aspiration material preparation system: application of a new liquid-based cytology technique for fine-needle aspiration of the breast.	<i>Acta Cytol.</i>	55(1)	92-9	2011
Wada N, Zaki MA, Kohara M, Ogawa H, Sugiyama H, Nomura S, Matsumura I, Hino M, Kanakura Y, Inagaki H, Morii E, Aozasa K.	Diffuse large B cell lymphoma with an interfollicular pattern of proliferation shows a favourable prognosis: a study of the Osaka Lymphoma Study Group.	<i>Histopathology.</i>	Epub ahead of print		

Kannagi M, Hasegawa A, Kinpara S, Shimizu Y, Takamori A, <u>Utsunomiya A</u>	Double control systems for human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) by innate and acquired immunity.	Canter Sci	102(4)	670-6	2011
Umino A, Nakagawa M, <u>Utsunomiya A</u> , Tsukasaki K, Taira N, Katayama N, Seto M	Clonal evolution of adult T-cell leukemia/lymphoma takes place in lymph node.	Blood	117(20)	5473-8	2011
Araya N, Sato T, Yagishita N, Ando H, <u>Utsunomiya A</u> , Jacobson S, Yamano Y	Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and regulatory T cells in HTLV-1-associated neuroinflammatory disease.	Viruses	3	1532-48	2011
Waki F, Masuoka K, Fukuda T, Kanda Y, Nakamae M, Yakushijin K, Togami K, Nishiwaki K, Ueda Y, Kawano F, Kasai M, Nagafuji K, Hagihara M, Hatanaka K, Taniwaki M, Maeda Y, Shirafuji N, Mori T, <u>Utsunomiya A</u> , Eto T, Nakagawa H, Murata M, Uchida T, Iida H, Yakushiji K, Yamashita T, Wake A, Takahashi S, Takaue Y, Taniguchi S.	Feasibility of reduced-intensity cord blood transplantation as salvage therapy for graft failure: results of a nationwide survey of adult patients.	Biol Blood Marrow Transplant	17(6)	841-51	2011
Uota S, Dewan MZ, Saitoh Y, Muto S, Itai A, <u>Utsunomiya A</u> , Watanabe T, Yamamoto N, Yamaoka S.	An I κ B kinase 2 inhibitor IMD-0354 suppresses the survival of adult T-cell leukemia cells.	Cancer Sci,	Epub ahead of print		
Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, <u>Utsunomiya A</u> , Yamaguchi K, Uchimaru K, Ogawa S, Watanabe T	Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- κ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers.	Cancer Cell	21	121-35	2012
Nakahata S, Saito Y, Marutsuka K, Hidaka T, Maeda K, Hatakeyama K, Shiraga T, Goto A, Takamatsu N, Asada Y, <u>Utsunomiya A</u> , Okayama A, Kubuki Y, Shimoda K, Ukai Y, Kurosawa G, Morishita K.	Clinical significance of CADM1/TS�C1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/lymphoma.	Leukemia	Epub ahead of print		2012

IV. 研究成果の刊行物・別冊

Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma: A Multicenter Phase II Study

Takashi Ishida, Tatsuro Joh, Naokuni Uike, Kazuhito Yamamoto, Atae Utsunomiya, Shinichiro Yoshida, Yoshio Saburi, Toshihiro Miyamoto, Shigeki Takemoto, Hitoshi Suzushima, Kunihiro Tsukasaki, Kisato Nosaka, Hiroshi Fujiwara, Kenji Ishitsuka, Hiroshi Inagaki, Michinori Ogura, Shiro Akinaga, Masao Tomonaga, Kensei Tobinai, and Ryuzo Ueda

Takashi Ishida, Hiroshi Inagaki, and Ryuzo Ueda, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences; Kazuhito Yamamoto, Aichi Cancer Center; Michinori Ogura, Nagoya Daini Red Cross Hospital, Nagoya; Tatsuro Joh and Masao Tomonaga, Japanese Red Cross Nagasaki Genbaku Hospital; Shinichiro Yoshida, Nagasaki Medical Center; Kunihiro Tsukasaki, Atomic Bomb Disease Institute, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Science, Nagasaki; Naokuni Uike, National Kyushu Cancer Center; Toshihiro Miyamoto, Kyushu University Graduate School of Medical Sciences; Kenji Ishitsuka, Fukuoka University School of Medicine, Fukuoka; Atae Utsunomiya, Imamura Bun-in Hospital, Kagoshima; Yoshio Saburi, Oita Prefectural Hospital, Oita; Shigeki Takemoto, Kumamoto Medical Center; Hitoshi Suzushima, NTT West Japan Kyushu Hospital; Kisato Nosaka, Kumamoto University Hospital, Kumamoto; Hiroshi Fujiwara, Ehime University Graduate School of Medicine, Ehime; Shiro Akinaga, Kyowa Hakko Kirin; and Kensei Tobinai, National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan.

Submitted June 3, 2011; accepted December 5, 2011; published online ahead of print at www.jco.org on February 6, 2012.

Supported by Kyowa Hakko Kirin (Tokyo, Japan).

Presented in part at the 52nd Annual Meeting of the American Society of Hematology, December 4-7, 2010, Orlando, FL.

Authors' disclosures of potential conflicts of interest and author contributions are found at the end of this article.

Clinical Trials repository link available on JCO.org.

Corresponding author: Takashi Ishida, MD, PhD, Department of Medical Oncology and Immunology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, 1 Kawasumi, Mizuho-chou, Mizuho-ku, Nagoya, Aichi, 467-8601, Japan; e-mail: itakashi@med.nagoya-cu.ac.jp.

© 2012 by American Society of Clinical Oncology

0732-183X/12/3099-1/\$20.00

DOI: 10.1200/JCO.2011.37.3472

ABSTRACT

Purpose

Adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL) is usually resistant to conventional chemotherapies, and there are few other treatment options. Because CC chemokine receptor 4 (CCR4) is expressed on tumor cells from most patients with ATL, KW-0761, a humanized anti-CCR4 monoclonal antibody, which markedly enhances antibody-dependent cellular cytotoxicity, was evaluated in the treatment of patients with relapsed ATL.

Patients and Methods

A multicenter phase II study of KW-0761 for patients with relapsed, aggressive CCR4-positive ATL was conducted to evaluate efficacy, pharmacokinetic profile, and safety. The primary end point was overall response rate, and secondary end points included progression-free and overall survival from the first dose of KW-0761. Patients received intravenous infusions of KW-0761 once per week for 8 weeks at a dose of 1.0 mg/kg.

Results

Of 28 patients enrolled onto the study, 27 received at least one infusion of KW-0761. Objective responses were noted in 13 of 26 evaluable patients, including eight complete responses, with an overall response rate of 50% (95% CI, 30% to 70%). Median progression-free and overall survival were 5.2 and 13.7 months, respectively. The mean half-life period after the eighth infusion was 422 ± 147 hours ($\pm$ standard deviation). The most common adverse events were infusion reactions (89%) and skin rashes (63%), which were manageable and reversible in all cases.

Conclusion

KW-0761 demonstrated clinically meaningful antitumor activity in patients with relapsed ATL, with an acceptable toxicity profile. Further investigation of KW-0761 for treatment of ATL and other T-cell neoplasms is warranted.

J Clin Oncol 30. © 2012 by American Society of Clinical Oncology

INTRODUCTION

Adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL) is an aggressive peripheral T-cell neoplasm caused by human T-cell lymphotropic virus type I. The disease is resistant to conventional chemotherapeutic agents, and there currently exist limited treatment options; thus, it has a poor prognosis.¹⁻⁴ A recent phase III trial for previously untreated patients with aggressive ATL (acute, lymphoma, or unfavorable chronic type) age 33 to 69 years demonstrated that a dose-intensified multidrug regimen, VCAP-AMP-VECP (vincristine, cyclophosphamide, doxorubicin, and prednisone; doxorubicin, ranimustine, and prednisone; and vindesine, eto-

poside, carboplatin, and prednisone), resulted in median progression-free (PFS) and overall survival (OS) of 7.0 and 12.7 months, respectively.⁵ This remains unsatisfactory compared with responses in other hematologic malignancies. Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation has evolved into a potential approach to treating patients with ATL over the last decade. However, only a small fraction of patients with ATL have the opportunity to benefit from transplantation, such as those who are younger, have achieved sufficient disease control, and have an appropriate stem-cell source.^{6,7} Therefore, the development of alternative treatment strategies for patients with ATL is an urgent issue.