

201220052A

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24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 石田 高司

平成 25 (2013) 年 5 月

## 目 次

I. 総括研究報告		
研究の統括 遺伝子解析 動物実験 免疫学的実験 -----		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. ATLにおけるがん・精巢抗原に対する免疫応答の解析 -----		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・精巢抗原発現の病理学的検討 -----		9
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 -----		12
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 -----		15
IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----		21

# 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24年度）

「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」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 石田高司  
所属 名古屋市立大学大学院医学研究科 職名 准教授

研究要旨

HTLV-1キャリアからATL発症にいたるまでのNY-ESO-1およびXAGE-1bに対する免疫応答と病態の関連を詳細に解析する目的で、多数例のHTLV-1キャリアにおいてがん・精巢抗原の発現様式、免疫応答を解析した。結果、複数のHTLV-1キャリアでNY-ESO-1に対する特異的T細胞応答を認めた。またNY-ESO-1に対する液性免疫応答を約20%に認めた。この事実はHTLV-1感染細胞からATL細胞にいたる多段階発がんの比較的早期の段階で、がん・精巢抗原の発現を獲得する症例が存在することを意味する。

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・精巢抗原を位置づけた。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・精巢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・精巢抗原を標的とした新規

昨年度までに

- i) がん・精巢抗原はATL細胞に高頻度に発現している
- ii) 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
- iii) 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
- iv) がん・精巢抗原NY-ESO-1特異的CD8+T細胞は自己ATL細胞に反応する事を明らかにした。今年度はHTLV-1感染からATL発症に至るまでの免疫病態の解明、を目的にHTLV-1無症候性キャリアにおけるがん・精巢抗原の発現、免疫応答を解析した。

## B. 研究方法

ATL 患者、あるいは HTLV-1 無症候性キャリアから書面、口頭での説明の上、書面で同意を得て、末梢血単核球、血清を取得した。末梢血単核球を用いて HTLV-1 ウイルス量を測定するとともに、がん精巣抗原に対する特異的細胞免疫応答を解析した。血清を用いて sIL2R を測定するとともに NY-ESO-1 と XAGE-1b に対する抗体価を測定した。NY-ESO-1 と XAGE-1b に対する ELISA は研究者自ら、タンパク発現から測定系までを確立し、従来の ELISA 系に比して感度、特異度が向上した。

## C. 研究結果

がん・精巣抗原のなかでも NY-ESO-1 と XAGE-1b は、他の抗原に比較し高頻度に特異的抗体反応を惹起し、抗原性が強い。よってこの 2 つの抗原に焦点を絞り検討を深めた。ATL 細胞は、同一患者体内でもその存在部位（リンパ節 versus 末梢血液中）で mRNA あるいは蛋白の発現様式が異なる。様々に相互作用する分子が存在するリンパ節などリンパ組織に存在する ATL 細胞と、浮遊した状態で血中に存在する ATL 細胞が、異なる遺伝子発現様式を示すことは、むしろ理にかなっている。多数の ATL 症例で腫瘍細胞の存在部位毎の遺伝子発現を検出する目的で、パラフィン固定標本から NY-ESO-1 および XAGE-1b mRNA を高感度に検出する実験系を確立した。結果、NY-ESO-1 および XAGE-1b の発現は末梢血中の ATL 細胞に比較し、ATL 細胞の増殖の場であるリンパ節で高頻度であった。

次に HTLV-1 キャリアから ATL 発症にいたるまでの NY-ESO-1 および XAGE-1b に対する免疫応答と病態の関連を詳細に解析する目的で、多数例の HTLV-1 キャリアにおいてがん・精巣抗原の発現様式、免疫応答を解析した。結果、複数の HTLV-1 キャリアで NY-ESO-1 に対する特異的 T 細胞応答を認めた。また NY-ESO-1 に対する液性免疫応答を約 20% に認めた。この事実は HTLV-1 感染細胞から ATL 細胞にいたる多段階発がんの比較的早期の段階で、がん・精巣抗原の発現を獲得する症例が存在することを意味する。一方、HTLV-1 無症候性キャリア末梢血単核球の RT-PCR では NY-ESO-1 mRNA の検出は 95% 以上で陰性であった。

NY-ESO-1 抗体陽性キャリアは陰性キャリアに比較し有意に末梢血 HTLV-1 ウイルス量が低値であった。

## D. 考察

ATL は HTLV-1 感染から 50-60 年の多段階発癌過程を有する。今年度の研究では、ATL 発症前の HTLV-1 無症候性キャリアの段階で、HTLV-1 感染細胞はがん・精巣抗原の発現を獲得しており、さらにそれに対する特異的免疫応答が誘導されていることが明らかになった。さらに無症候性キャリアで NY-ESO-1 に対する抗体保有者において HTLV-1 ウイルス量が低値であった事実は、NY-ESO-1 に対する特異免疫が HTLV-1 感染細胞の増殖を抑えていることを示唆する。

HTLV-1 無症候性キャリアの末梢血単核球で NY-ESO-1 mRNA が検出困難であった理由として、抗原性を有した細胞 (NY-ESO-1 陽性細胞) が、宿主の抗腫瘍免疫が働きやすい環境 (血液中) に出現しにくい可能性が考えられる。がん細胞は、リンパ節などがん微小環境ないで宿主免疫反応から回避しつつ生存している。HTLV-1 感染細胞の体内での挙動を明らかにすることは今後の大きな課題である。

一般的に、NY-ESO-1 をはじめとする、がん・精巣抗原の、がん細胞における機能は明らかになっていないが、固形がんにおいては病期の進行とともに発現を獲得し、その発現は予後不良因子になるとの報告が多い。しかしながら研究者らの解析では、ATL においては、NY-ESO-1 の発現は ATL において予後不良因子ではなかった。NY-ESO-1 発現 ATL 細胞に対する宿主側の NY-ESO-1 特異免疫が、予後良好因子として作用している可能性が示唆され、更なる解析を必要とする。

今年度 (2012 年度)、研究者らが開発研究を主導してきたヒト化 CCR4 抗体、モガムリズマブが保険承認され販売が開始された。研究者らは、発売と同時に、多施設共同前向き臨床研究”成人 T 細胞白血病リンパ腫に対するモガムリズマブ治療中の免疫モニタリング、UMIN000008696”を開始した。本試験で得られた細胞および血清を用いて各種がん・精巣抗原に対する細胞性および液性免疫を経時的に解析中である。さらに、ウイルス抗原 (Tax, HBZ) に対する液性、細胞性免疫反応を解析し、各種がん・精巣抗原への免疫反応との相関を詳細に解析中である。

E. 結論

がん・精巢抗原はHTLV-1無症候性キャリアの段階から発現を認め、ATL発症抑制の標的抗原となりうる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

1. Sato F, Ishida T, Ito A, Mori F, Masaki A, Takino H, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Suzuki S, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma mice model. *Leuk Res.* 2013;37:21-7 (*corresponding author*)
2. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study. *Blood.* 2012 ;120:1734-41. (*corresponding author*)
3. Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci.* 2012; 103:1764-73. (*corresponding author*)
4. Mori F, Ishida T, Ito A, Sato F, Masaki A, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Potent antitumor effects of bevacizumab in a microenvironment-dependent human lymphoma mouse model. *Blood Cancer J.* 2012 Apr;2(4):e67. (*corresponding author*)
5. Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, Narita T, Masaki A, Ito A, Ding J, Kusumoto S, Ishida T, Komatsu H, Shiotsu Y, Ueda R, Iwakaki T, Imoto M, Iida S. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. *Blood Cancer J.* 2012 Jul;2(7):e79.
6. 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* 43:1322-7;2012.
7. 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, Sakaguchi S. Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood.* 2012;119:3097-104.
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;30:837-42.
9. Kato H, Saito C, Ito E, Furuhashi T, Nishida E, Ishida T, Ueda R, Inagaki H, Morita A. Bath-PUVA Therapy Decreases Infiltrating CCR4-Expressing Tumor Cells and Regulatory T Cells in Patients With Mycosis Fungoides. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2013 Jan 15. doi:pii: S2152-2650(12)00288-1. 10.1016/j.clml.2012.12.002. [Epub ahead of print]

10. Ishida T, Ito A, Sato F, Kusumoto S, Iida S, Inagaki H, Morita A, Akinaga S, Ueda R. Stevens-Johnson Syndrome associated with mogamulizumab treatment of adult T-cell leukemia / lymphoma. *Cancer Sci.* 2013 Jan 30. doi: 10.1111/cas.12116. [Epub ahead of print] (*corresponding author*)
  11. Suzuki T, Kusumoto S, Yoshida T, Mori F, Ito A, Ri M, Ishida T, Komatsu H, Niimi A, Iida S. Successful salvage therapy using lenalidomide in a patient with relapsed multiple myeloma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Int J Hematol.* 2013 Mar 2. [Epub ahead of print]
  12. Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A. Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hepatol Res.* in press.
- 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24年度）

「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」班

分担研究課題： ATLにおけるがん・精巢抗原に対する免疫応答の解析

研究分担者 西川 博嘉  
所属 大阪大学 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 年度で ATL 患者体内にがん・精巢抗原特異的免疫応答が存在することが示されたため、平成 24 年度は、これらの免疫応答を患者体内でいかに効率よく誘導可能かを検討した。がん・精巢抗原の一つである NY-ESO-1 に注目し、特異的 T 細胞誘導を検討した。ATL 治療で用いられる抗 CCR4 抗体処理を併用することにより、効果的に NY-ESO-1 特異的 T 細胞が誘導された。以上より現在 ATL 治療に用いられている抗 CCR4 抗体と NY-ESO-1 ワクチン療法との併用による ATL 免疫治療の可能性が示唆された。

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、約 5%の感染者が ATL を発症する。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、これらの抗原は抗原発現の低下および免疫原性の問題から、必ずしも適切な抗原とはいえず、免疫治療への応用の可能性は今後の課題である。よって、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。昨年度本研究において、がん・精巢抗原が ATL 細胞に発現し、ATL 患者の一部でそれらに対する細胞性、液性免疫応答が認められることを明らかにし

た。本年度はこれらのがん・精巢抗原を用いた免疫療法が ATL 患者に対して応用可能かを検討するため、ATL 患者で治療目的に用いられる抗 CCR4 抗体ががん・精巢抗原に対する免疫応答に与える影響を検討した。

B. 研究方法

書面にて同意が得られた健康人および ATL 患者の末梢血単核球を用いてがん・精巢に対する免疫反応を解析した。

末梢血単核球より CD4+ および CD8+ T 細胞を単離し、もしくは CCR4 発現細胞を除去した後に CD4+ および CD8+ T 細胞を単離し、NY-ESO-1 特異的 T 細胞応答を検討した。また誘導された NY-ESO-1 特異的 T 細胞のサイトカイン産生および腫瘍細胞認識能も検討した。

（倫理面への配慮）

本研究は大阪大学研究倫理審査会にて審査され、承認されたプロトコールに準拠して行った。また、すべての健康人および患者検体は書面での同意が得られたのち採取し、研究に用いた。

## C. 研究結果

### 1. CCR4 陽性細胞除去によりエフェクター型制御性 T 細胞 (Tregs) が除去される

CCR4 が Tregs に発現しており、なかでもエフェクター型 Tregs に強発現していることを明らかにしている (Nishikawa et al, manuscript in preparation)。このデータに基づき末梢血単核球中の CD4+T 細胞から CCR4 陽性細胞を除去することにより、どのような細胞が影響を受けるかを検討した。コントロールとして抗 CD25 抗体を用いた。抗 CCR4 抗体処理により、エフェクター型 Tregs が完全に除去された。ナイーブ型 Tregs、Foxp3 陽性のエフェクター T 細胞 CD8+T 細胞は除去されなかった。一方、抗 CD25 抗体では、ナイーブ型、エフェクター型 Tregs の両者が除去されるとともに、Foxp3 陽性のエフェクター T 細胞も除去されることが明らかとなった。

### 2. CCR4 陽性細胞除去により NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞誘導が認められる

健常人では、末梢血単核球から NY-ESO-1 特異的 T 細胞誘導が認められないことを多数の健常人サンプルを用いて明らかにしてきた (Gnjatic S, Nishikawa H et al. *Adv Cancer Res.* 95: 1-30 2006)。一方、抗 CD25 抗体により Tregs を除去することで、健常人でも NY-ESO-1 特異的 T 細胞誘導が誘導されることを報告した (Nishikawa H et al. *Blood.* 106: 1008-1011 2005)。

抗 CCR4 抗体が選択的にエフェクター型 Tregs を除去することが明らかになったことから、これらの細胞を除去することにより、NY-ESO-1 に対する特異的 T 細胞応答が末梢血から誘導されるかどうかを検討した。13名の健常人で検討したところ4名の健康人で CCR4 陽性 CD4+T 細胞除去により NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞誘導が認められた。この NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞誘導は抗 CD25 抗体処理とで差は認められなかった。

### 3. CCR4 陽性細胞除去により NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞誘導が増強される

次にごがん患者検体を用いて、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞誘導の増強が認められるかを検討した。5名のごがん患者末梢血単核球を抗 CCR4 抗体により処理し、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞誘導を検討した。5名中2名の患者で抗 CCR4 抗体処理により NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞誘導の増強が認められた。また、十分な検体が得られた患者(1名)で腫瘍細胞へ反応を検討したところ、腫瘍認識およびエフェクターサイトカイン産生の増強が認められた。

### 4. 抗 CCR4 抗体投与 ATL 患者では、エフェクター型 Treg 分画が減少する

現在抗 CCR4 抗体が ATL 治療の応用されている。そこで抗 CCR4 抗体を投与された ATL 患者での T 細胞分画の変動を検討した。3名の急性型 ATL 患者で検討したところ、エフェクター型 Treg 分画に存在する細胞 (ATL 細胞もしくはエフェクター Tregs) が抗 CCR4 抗体投与により減少した。一方で CD8+T 細胞分画に有意な変動が見られなかった。

## D. 考察

Tregs 除去により抗腫瘍免疫応答を活性化するため、Treg マーカーの一つである CD25 を標的とした抗体(抗 CD25 抗体)が臨床試験に用いられ、検討されてきた。しかし、CD25 の発現がエフェクター T 細胞にも認められることから、Tregs とともに抗腫瘍活性を発揮するエフェクター T 細胞も除去してしまうため、十分な抗腫瘍活性が認められないことが明らかになっている。一方、数々の免疫チェックポイントを標的とした抗体が現在臨床応用の過程にあるが、腸炎等のさまざまな免疫関連副作用が報告され、その一部は極めて重篤化することも明らかになっている。よって、Tregs 除去による免疫増強では Tregs のなかでも腫瘍内に存在し、抗腫瘍免疫応答を抑制しているエフェクター型 Tregs を選択的に除去することが、抗腫瘍免疫応答を最大限に活性化でき、かつ副作用を最小化できる理想的な手法の一つと考えられる。

健常人検体を用いて抗 CCR4 抗体によりエフェクター Tregs が選択的に除去可能であること

を示した。CCR4 の発現は、当初 Th2 型細胞で報告されたが、エフェクター型 Tregs ではより高い発現が認められた。また、末梢血から抗 CCR4 抗体により CCR4 発現細胞を除去すると、NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞誘導が認められるようになることが明らかとなった。すなわち CCR4 陽性細胞(エフェクター型 Tregs など)を除去することにより、これまで生体内で抑制されていた免疫応答を賦活化することが可能であることが示された。

今後は抗 CCR4 抗体を投与された ATL 患者での検体を用いて in vivo での抗 CCR4 抗体投与によりがん・精巣抗原特異的 T 細胞反応が増強するかどうかを解析していく必要があると考えられた。

#### E. 結論

現在 ATL 治療に用いられている抗 CCR4 抗体と NY-ESO-1 ワクチン療法との併用による新規 ATL 免疫治療の可能性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文

1. Hirayama M\*, Nishikawa H\*, Nagata Y, Tsuji T, Kato T, Kageyama S, Ueda S, Sugiyama D, Hori S, Sakaguchi S, Ritter G, Old LJ, Gnjatic S, and Shiku H.; Overcoming regulatory T-cell suppression by a lyophilized preparation of *Streptococcus pyogenes*. Eur J Immunol. 2013 Feb 22. [Epub ahead of print] \*Equal contribution (Corresponding author)
2. Muraoka D, Nishikawa H\*, Noguchi T, Wang L, Harada N, Sato E, Luescher I, Nakayama E, Kato T; Hiroshi Shiku H.; Establishment of animal models to analyze the kinetics and distribution of

human tumor antigen-specific CD8<sup>+</sup> T cells. Vaccine. 2013 Mar 11. [Epub ahead of print] (\*Corresponding author)

3. Gupta A, Nuber N, Esslinger C, Wittenbrink M, Treder M, Landshammer A, Noguchi T, Kelly M, Gnjatic S, Ritter E, von Boehmer L, Nishikawa H, Shiku H, Old LJ, Ritter G, Knuth A, and van den Broek M.; A novel human-derived monoclonal antibody against NY-ESO-1 improves the efficacy of chemotherapy. Cancer Immun. 2013 Jan;13:E3.
4. Eikawa S, Kakimi K, Isobe M, Kuzushima K, Luescher I, Ohue Y, Ikeuchi K, Uenaka A, Nishikawa H, Uono H, Oka M, Nakayama E.; Induction of CD8 T-cell responses restricted to multiple HLA class I alleles in a cancer patient by immunization with a 20-mer NY-ESO-1f (NY-ESO-1 91-110) peptide. Int J Cancer. 132(2):345-354 2013.
5. Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R.; Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. Cancer Sci. 103(10):1764-1773 2012.

和文

- (1) 西川博嘉、坂口志文；制御性 T 細胞の臨床応用への展望 炎症と免疫 21: 66-72 2013
- (2) 西川博嘉、坂口志文；ヒトにおける制御性 T 細胞と関連疾患 感染・炎症・免疫 42 20-27 2012

##### 2. 学会発表

- (1) 西川博嘉 成人 T 細胞白血病患者における免疫応答 —免疫療法への応用の可能性— 第 60 回日本ウイルス学会 教育講演

2012年11月14日 大阪

(2) 西川博嘉 制御性 T 細胞を標的としたがん  
免疫療法の開発

第16回日本がん免疫学会 シンポジウム  
2012年7月28日 札幌

(3) 西川博嘉、坂口志文 制御性 T 細胞による  
疾患制御 第77回日本インターフェロン・サ  
イトカイン学会 シンポジウム

2012年6月22日 神戸

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定含む)

該当なし

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24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 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た病理免疫染色において、がん精巣抗原、NY-ESO-1 および MAGE の発現解析のための条件設定の最適化を行い、染色性の向上をめざした。また上記以外のがん精巣抗原に対する免疫染色についても検討した。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。その結果、免疫染色の条件設定を改善することにより NY-ESO1 と MAGE の免疫染色の陽性率、染色性の向上が得られた。免疫染色を、NY-ESO-1、MAGE 特異的免疫反応が検出される症例を選別する有用な手段とするため、さらなる感度向上を進める。ATL 以外の各リンパ腫を網羅的に解析したところ、未分化大細胞性リンパ腫やホジキンリンパ腫の症例に NY-ESO1 や MAGE が陽性を示すことを見出した。その他のがん精巣抗原の発現についても検討を行った。SAGE に対する免疫染色は染色条件設定が終わり、臨床症例へ応用中である。XAGE に対する免疫染色はパラフィン切片用の抗体選別を含め、現在条件検討の段階にある。

A. 研究目的

ATL 患者の予後は極めて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 生検標本での病理学的発現解析方法確立を目的とした。

B. 研究方法

昨年 ATL の生検パラフィン標本を用いて NY-ESO1、MAGE の免疫染色条件設定し施行したが、検出感度に問題があり再度条件を設定した。新しく設定した条件を用いて、ATL に加え、AILT、PTCL-U、ALCL、NK-T、MF、DLBCL、LBL、HL など種々のリンパ腫を網羅的に解析した。また今年度は他の CT 抗原 SAGE、XAGE について検討も行った。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

NY-ESO1 や MAGE の染色条件について賦活処理や1次抗体の反応時間・濃度を変更するなどの検討を行った。以前の検討では ATL における NY-ESO1 の RT-PCR の発現率が 48% (18/37 例) に対して免疫染色は 33% (18/53 例) であったが、条件変更後 41% (22/53 例) に改善した。MAGE については条件変更後も発現率は変わらなかったが、陽性細胞の染色性が改善した。

新しい条件で各リンパ腫を網羅的に解析したところ、未分化大細胞性リンパ腫やホジキンリンパ腫の一部の症例に陽性例が認められた。

SAGE に対する免疫染色は染色条件設定が終わり、臨床症例へ応用中である。XAGE に対する免疫染色はパラフィン切片用の抗体選別を含め、現在条件検討の段階にある。

## D. 考察

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、設定条件を改良することにより改善された。しかし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てやや低率であった。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も、NY-ESO-1、MAGE 特異的免疫反応が検出される症例を少数認めることから、現在の検出感度をさらに改善する必要があると考えられた。逆に発現陽性でも特異的免疫反応が得られない症例もあり、この現象についてもさらなる検討が必要である。各がん・精巢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解析を進める予定である。

## E. 結論

免疫染色の条件設定を改善することによりNY-ESO1とMAGEの免疫染色の陽性率、染色性の向上が得られた。ATL以外に未分化大細胞性リンパ腫やホジキンリンパ腫の症例にNY-ESO1やMAGEが陽性を示すことを見出した。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表 英文

- Ishida T, Ito A, Sato F, Kusumoto S, Iida S, Inagaki H, Morita A, Akinaga S, Ueda R. Stevens-Johnson Syndrome associated with mogamulizumab treatment of Adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci* In press
- Takino H, Li C, Yamada S, Sato F, Masaki A, Fujiyoshi Y, Hattori H, Inagaki H. Thymic Extranodal Marginal Zone Lymphoma of Mucosa-associated Lymphoid Tissue: A Gene Methylation Study. *Leuk Lymphoma* In press
- Kato H, Saito C, Ito E, Furuhashi T, Nishida E, Ishida T, Ueda R, Inagaki H, Morita A. Bath-PUVA therapy decreases infiltrating CCR4-expressing tumor cells and regulatory T cells in patients with mycosis fungoides. *Clinical Lymphoma Myeloma Leuk* In press
- Sato F, Ishida T, Ito A, Mori F, Masaki A, Takino H, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Suzuki S, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma mice model. *Leuk Res* 2013;37:21-7.
- Mori F, Ishida T, Ito A, Sato F, Masaki A, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Potent antitumor effects of bevacizumab in a microenvironment-dependent human lymphoma mouse model. *Blood Cancer J* 2:e67;2012.
- 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* 43:1322-7;2012.
- 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* 60:924-32;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 *VH* gene rearrangement and somatic hypermutation in type 1 autoimmune pancreatitis. *Pathol Int* 2012;62:318-23.
- 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, Sakaguchi S. Cancer/testis antigens are

novel targets of immunotherapy for adult  
T-cell leukemia/lymphoma.  
Blood. 2012;119:3097-104.

10. 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;30:837-42.
11. 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;62:93-8.
12. Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. Cancer Sci. 2012;103:1764-73.

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24年度）

「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」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 宇都宮 與

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でがん・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・精巢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・精巢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・精巢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。これらの応答は同種造血細胞移植後で増強傾向にあることが明らかになった。

D. 考察/結論

がん・精巢抗原は、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

1. 論文発表  
英文

1. Kannagi M, Hasegawa A, Takamori A, Kinpara S, Utsunomiya A: The roles of acquired and innate immunity in human T-cell leukemia virus type 1-mediated diseases. *Frontiers in Microbiology* 3(323): 1-10, 2012.
2. Higashi Y, Kawai K, Yonekura K, Takeda K, Kanzaki T, Utsunomiya A, Kanekura K: Indication for random skin biopsy for the diagnosis of intravascular large B cell

- lymphoma. *Dermatology* 224: 46-50, 2012
3. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study. *Blood* 120(8):1734-1741, 2012
  4. Satou Y, Utsunomiya A, Tanabe J, Nakagawa M, Nosaka K, Matsuoka M. HTLV-1 modulates the frequency and phenotype of FoxP3+CD4+ T cells in the HTLV-1 infected individuals. *Retrovirology* 9(1): 46, 2012
  5. Fukuda RI, Tsuchiya K, Suzuki K, Itoh K, Fujita J, Utsunomiya A, Tsuji T: HTLV-I Tax regulates the cellular proliferation through the down-regulation of PIP3-phosphatase expressions via the NF- $\kappa$ B pathway. *Int J Biochem Mol Biol* 3(1): 95-104, 2012
  6. Katsuya H, Yamanaka T, Ishitsuka K, Utsunomiya A, Sasaki H, Hanada S, Eto T, Moriuchi Y, Saburi Y, Miyahara M, Sueoka E, Uike N, Yoshida S, Yamashita K, Tsukasaki K, Suzushima H, Ohno Y, Matsuoka H, Jo T, Suzumiya J, Tamura K: Prognostic index for acute- and lymphoma-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *J Clin Oncol* 30(14): 1635-1640, 2012
  7. 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, Sakaguchi S. Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T cell leukemia/lymphoma. *Blood* 119(13): 3097-3104, 2012
  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, Fuzjiwara 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* 30(8):837-842, 2012
  9. 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, Kuosawa G, Morishita K. Clinical significance of CADM1/TSLC1/IgSF4 expression in adult T-cell leukemia/ lymphoma. *Leukemia* 26(6): 1238-1246, 2012
  10. Kanda J, Hishizawa M, Utsunomiya A, Taniguchi S, Eto T, Moriuchi Y, Tanosaki R, Kawano F, Miyazaki Y, Masuda M, Nagafuji K, Hara M, Takanashi M, Kai S, Atsuta Y, Suzuki R, Kawase T, Matsuo K, Nagamura-Inoue T, Kato S, Sakamaki H, Morishima Y, Okamura J, Ichinohe T, Uchiyama T. Impact of graft-versus-host disease on outcomes after allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia: a retrospective cohort study. *Blood* 119(9):2141-2148, 2012
  11. Yamagishi M, Nakano K, Miyake A, Yamochi T, Kagami Y, Tsutsumi A, Matsuda Y, Sato-Otsubo A, Muto S, Utsunomiya A, Yamaguchi K, Uchimaruru K, Ogawa S, Watanabe T. Polycomb-mediated loss of miR-31 activates NIK-dependent NF- $\kappa$ B pathway in adult T-cell leukemia and other cancers. *Cancer Cell* 21: 121-135, 2012
  12. Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R, Utsunomiya A. Reactivation of hepatitis B virus in a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hepatol Res*. in press.
- 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

## 書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
西川博嘉ら	がん免疫と移植免疫	熊ノ郷淳ら	免疫学コア講義 (改訂第3版)	南山堂	東京都	2012	146-156

## 雑誌 (英文)

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*, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A. <i>*corresponding author</i>	Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study.	Blood.	120	1734-41	2012
Suzuki S, Masaki A, Ishida T*, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. <i>*corresponding author</i>	Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma.	Cancer Sci.	103	1764-73	2012
Mori F, Ishida T*, Ito A, Sato F, Masaki A, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Ueda R, Inagaki H, Iida S. <i>*corresponding author</i>	Potent antitumor effects of bevacizumab in a microenvironment-dependent human lymphoma mouse model.	Blood Cancer J.	2(4)	e67	2012

Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, Narita T, Masaki A, Ito A, Ding J, Kusumoto S, <u>Ishida T</u> , Komatsu H, Shiotsu Y, Ueda R, Iwawaki T, Imoto M, Iida S.	Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing.	Blood Cancer J.	2(7)	e79	2012
Yamada S, Sato F, Xia H, Takino H, Kominato S, Ri M, <u>Ishida T</u> , Iida S, <u>Inagaki H</u> , Yamada K.	FOXP1 Overexpression and Its Clinicopathological Significance in Peripheral T-cell Lymphoma, Not Otherwise Specified.	Hum Pathol.	43	1322-7	2012
Nishikawa H, Maeda Y, Ishida T, Gnjjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, <u>Inagaki H</u> , Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S.	Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma.	Blood.	119	3097-104	2012
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, <u>Inagaki H</u> , 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.	30	837-42	2012
Kominato S, Nakayama T, Sato F, Yamada S, Xia H, Fujiyoshi Y, Hattori H, <u>Inagaki H</u> .	Characterization of chromosomal aberrations in thymic MALT lymphoma.	Pathol Int.	62	93-8	2012
Okumura F, Sakuma H, Nakazawa T, Hayashi K, Naitoh I, Miyabe K, Yoshida M, Yamashita H, Ohara H, <u>Inagaki H</u> , Joh T.	Analysis of <i>VH</i> gene rearrangement and somatic hypermutation in type 1 autoimmune pancreatitis.	Pathol Int.	62	318-23	2012