

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第 I a/ I b相医師主導治験

分担研究課題：進行又は再発固形がん患者に対するMogamulizumabの第Ia/Ib相多施設共同医師主導治験

研究分担者 土井 俊彦 国立がん研究センター東病院 早期・探索臨床研究センター先端医療科長

**研究要旨：**進行再発がん患者に対してMogamulizumab（抗CCR4抗体）を週1回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること（第 I a相部）、及び週1回反復投与した際の安全性及び制御性T細胞除去効果を検討すること（第 I b相部）を目的として多施設共同試験を計画し、研究を継続している。平成24年2月より登録が開始され、目標症例数は第Ia相部 9例(最大18例)、第Ib相部 40例である。平成25年3月31日現在、全施設で3例の新規症例登録が登録された。

A. 研究目的

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab（抗 CCR4 抗体）を週 1 回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること（第 I a 相部）、及び週 1 回反復投与した際の安全性及び制御性 T 細胞除去効果を検討すること（第 I b 相部）を目的とする。

B. 研究方法

多施設共同研究としてプロトコル作成、共通プロトコルでの症例集積および試験治療を実施している。

（倫理面への配慮）

本試験は、ヘルシンキ宣言に則った試験実施計画書に基づいて計画され、参加全施設の倫理審査の承認と患者本人からの文書での同意を得てから登録を行う。また、個人情報等の保護も十分に配慮して試験を遂行する。

C. 研究結果

本試験は、平成 25 年 2 月より登録が開始。平成 25 年 3 月 31 日現在、全施設で 3 例の新規症例が登録された。

これまでのところ全症例で重篤な有害事象は見られていない。

D. 考察

がん患者では、制御性 T 細胞が抗腫瘍免疫反応を抑制していることが知られている。制御性 T 細胞のうち、特に活性化制御性 T 細胞は膜表面に CCR4 を発現することから、Mogamulizumab 投与により活性化制御性 T 細胞分画を除去し臨床効果をもたらされることが評価されれば、進行再発がんの治療成績の向上が期待される。

E. 結論

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab（抗 CCR4 抗体）を週 1 回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること（第 I a 相部）、及び週 1 回反復投与した際の安全性及び制御性

T細胞除去効果を検討すること（第Ib相部）を目的として多施設共同試験を計画し、研究を継続している。平成24年2月より登録が開始され、目標症例数は第Ia相部9例（最大18例）、第Ib相部40例である。平成25年3月31日現在、全施設で3例の新規症例登録が登録された。目標症例数の達成まで試験を継続する。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Doi T, Ohtsu A, Yoshino T, Boku N, Onozawa Y, Fukutomi A, Hironaka S, Koizumi W, Sasaki T. Phase I study of TAS-102 treatment in Japanese patients with advanced solid tumours. Br J Cancer 107:429-34, 2012
- 2) Doi T, Takiuchi H, Ohtsu A, Fuse N, Goto M, Yoshida M, Dote N, Kuze Y, Jinno F, Fujimoto M, Takubo T, Nakayama N, Tsutsumi R. Phase I first-in-human study of TAK-285, a novel investigational dual HER2/EGFR inhibitor, in cancer patients. Br J Cancer 106:666-72, 2012
- 3) Nakajima Y, Zenda S, Minashi K, Yano T, Tahara M, Doi T, Onozawa M, Nihei K, Fujii S, Ohtsu A. Non-surgical approach to small cell carcinoma of the esophagus: does this rare disease have the same tumor behavior as SCLC? Int J Clin Oncol 17:610-5, 2012.

4)

### 2. 学会発表

- 1) T. Doi, L. Rhoda Molife Result of phase 1 studies of golvatinib(E7050), a c-Met and Eph receptor targeted multi-kinase

inhibitor. 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会 大阪 2012年。

- 2) 宮本 英明, 小島 隆嗣, 矢野 友規, 全田 貞幹, 布施 望, 吉野 孝之, 土井 俊彦, 金子 和弘, 秋元 哲夫, 大津 敦 臨床病期I期食道癌に対する予防照射を加えた根治的化学放射線療法の治療成績 第10回日本臨床腫瘍学会学術集会 大阪 2012年。

## G. 知的財産権の出願・取得状況

### 1. 特許取得

なし

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

分担研究課題：抗体療法企画・管理

研究分担者 飯田 真介 公立大学法人名古屋市立大学 准教授

研究要旨

活性化制御性 T 細胞(Treg)表面に発現するケモカイン受容体である CCR4 分子を標的としたヒト化ポテリジェント抗体である Mogamulizumab(KW-0761) を用いて、進行・再発固形がん患者における抗腫瘍免疫増強効果を狙った第 Ia/Ib 相医師主導治験を計画した。第 Ia 相においてはフィボナッチ変法を用いて 0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg の 3 コホートでの安全性と薬物動態の検討を行い、第 Ib 相においては 0.1mg/kg と、0.5mg/kg または 1.0mg/kg のうち耐用可能な高用量群との 2 群間で長期投与した際の安全性と Treg 除去効果を主要評価項目とした。治験調整委員会委員として研究計画書の作成に携わり、名古屋市立大学病院 IRB でその承認を受けた。施設内関連 5 診療科内での協力体制を確立し、本年度は 2013 年 3 月に第 Ia 相で 1 名の患者登録を行い治験治療を開始した。

A. 研究目的

進行再発固形がん患者を対象に、ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体 (Mogamulizumab/KW-0761) の医師主導第 Ia/Ib 相治験を計画し実施する。第 Ia 相では、Mogamulizumab を週 1 回反復投与した際の安全性および薬物動態を検討する。第 Ib 相では、週 1 回投与した際の安全性および制御性 T 細胞除去効果を検討し、第 II 相部での推奨投与量を決定することを目的とする。

B. 研究方法

下記研究計画概要に従って研究計画書を作成し、施設 IRB での承認を受けた後に患者登録を開始する。

主要評価項目：

- 1) 第 Ia 相 ① 安全性：最大耐用量 (MTD)、用量制限毒性 (DLT)、有害事象の種類・頻度・程度、②薬物動態の検討
- 2) 第 Ib 相 ①安全性：有害事象の種類・頻度・程度、②制御性 T 細胞除去効果

対象患者：

進行又は再発固形がん患者で、登録時に以下の規準を満たす場合に適格とする：1) 腫瘍細胞の CCR4 発現が陰性であり、且つ病理組織診断で肺癌、胃癌、食道癌、悪性黒色腫、卵巣癌の悪性腫瘍の診断が確定している、2) 標準治療に不応・不耐性の患者、適切な治療法がない患者、又は標準治療を拒否した患者、3) performance status (ECOG 基準) が 0、1、2、4) 主要臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく臨床検査値（登録前 2 週間以内）が以下の基準を満たす、5) 好中球数 1,500/ $\mu$ L 以上、ヘモグロビン値 8.0g/dL 以上、血小板数 75,000/ $\mu$ L 以上、血清総ビリルビン値 2.0mg/dL 以下、AST/ALT 値 施設上限値 x 2.5 倍以下、血清クレアチニン 1.5mg/dL 以下、動脈血酸素飽和度 93% 以上、心電図上治療を要する異常を認めない、左心駆出率 50%以上、6) 同意取得時から治験薬投与終了後 24 週まで避妊に同意、7) 本人が書面で同意している、8) Mogamulizumab 初回投与から翌日までの入院

が可能、9) RECIST ver1.1における測定可能病変を有する、10) 3ヶ月以上の生存が期待できること。ただし下記の除外規準を満たさないこと：1) HIV 抗体陽性、2) HCV 抗体陽性、3) 自己免疫疾患あり、4) HBs 抗原が陽性もしくはHBV-DNA が陽性、5) 抗体製剤の投与により重篤な過敏症の既往歴を有する、6) 重複がんを有する、7) 前治療から治験薬投与開始予定日まで4週以上経過していない、8) 妊娠中、授乳中、あるいは妊娠の可能性がある、9) 活動性の感染症を合併している、10) 精神障害又は認知症患者、11) 全身性のステロイド剤投与による治療の継続が必要、12) 造血幹細胞移植等の移植療法が実施された患者、13) 中枢神経浸潤を有する、14) 登録4週間以内に他の治験薬を投与されている、15) その他治験遂行に不適当と考えられる。

#### 治験デザイン：

第Ia相部は、フィボナッチ変法を用いて各 cohorts 3～6名づつ、0.1mg/kg から開始し、忍容性が確認されれば0.5mg/kg 及び1.0mg/kg へ増量を行う。第Ib相部では、忍容性が確認された投与群のうち高用量群及び0.1mg/kg の2群(第Ia相部で0.5mg/kg がMTDの場合、0.1mg/kg 1群)で実施。がん種を割り付け因子として各群20例となるように登録する。

#### 投与方法：

【第Ia相部】0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg のいずれかの投与量を1週間に1回2時間かけて静脈内投与し、計8回投与する。用量制限毒性(DLT)評価期間は5回目の投与前までとした。

【第Ib相部】第Ia相部で1.0mg/kg までの忍容性が確認された場合は0.1mg/kg 又は1.0mg/kg のいずれか、0.5mg/kg までの忍容性が確認された場合は0.1mg/kg 又は0.5mg/kg のいずれか、0.1mg/kg までの忍容性が確認された場合は0.1mg/kg を1週間に1回2時間かけて静脈内投与し、計8回投与する。【第Ia相部・第Ib相部共通】9回目以降の投与は、維持投与の実施基準(8回投与後に制御性T細胞除去効果及び抗原特異的抗体免疫反応又はRECISTにおいてSD以上が確認された被験者)を満たした場合に可能とし、4週毎に治験薬を投与する。投与前の前処置として、治験薬投与の30分前にジフ

ェンヒドラミン 30～50mg 及びアセトアミノフェン 300～500mg を内服する。初回投与時にはヒドロコチゾン 100mg を静脈内に投与する。併用療法：骨転移例に対するゾレドロン酸やパミドロネートの静脈内点滴、及びデノスマブの皮下注射については、本治験参加前から継続していた場合は、4週に1回の投与であれば併用可とする。

#### 投与中止基準：

1) 投与延期基準により2週間を超えて延期となった場合、2) 24週目以降においてRECISTの変法の評価で総合効果がPDであった場合、3) grade 3以上の皮膚障害が発現した場合、4) 治験責任医師により治験継続が困難と判断される場合、5) 被験者が治験の中止を申し出た場合、6) 不適格例であることが判明した場合、7) その他、治験責任医師が中止すべきと判断した場合である。

#### 治験で実施する検査：

ベースライン検査としては、一般血液検査、腫瘍マーカー、尿検査、CTまたはMRIによる画像検査、腫瘍抗原(NY-ESO-1, XAGE-1b)発現検査、CCR4発現検査、抗原特異的抗体免疫反応検査、制御性T細胞検査を実施する。治験治療開始後は、一般血液検査や尿検査に加えて、抗原特異的抗体免疫反応検査、制御性T細胞検査を実施する。第Ia相部では薬物動態検査を実施する。加えて、任意ではあるが書面での同意がいただけた場合には、免疫増強効果検査、遺伝子バイオマーカー検査も実施する。

#### 予定登録症例数：

第Ia相部は各群3例(最大6例)で計3～18例、第Ib相部は各群20例づつで計40例

#### 治験実施期間：

2013年2月～2015年6月

### C. 研究結果

#### 研究計画書の作成：

「進行又は再発固形がん患者に対するMogamulizumabの第Ia/Ib相多施設共同医師主導治験」の実施計画書作成に治験調整委員会の一員として携わった。上記の研究計画概要に沿って治験調整委員会を繰り返し開催し、研究計画書の作成を開始した。その過程で、2012年9月13日に医

薬品医療機器総合機構（PMDA）との事前面談を実施した。その際には、第Ia/Ib相での主要エンドポイントを含む治験デザイン、免疫療法の評価法として提案されているImmune-Related Response Criteria (irRC) を用いた効果判定、NY-ESO-1やXAGE-1b抗原に対する抗体価測定の治療検査での実施などについての議論が成された。それを踏まえて作成された研究計画書について、2012年11月15日にPMDAとの対面助言を実施した。その際に第Ia相における薬物動態解析の実施及び、第Ib相において第Ia相で登録された患者を含めることなく別個に症例数を設定すること、そして制御性T細胞除去効果の有効性評価指標としての適切性を判断できるような腫瘍縮小効果との関連性の検討などについての提言をいただいた。多くの議論を踏まえて2012年12月17日に上田班班会議を名古屋市立大学にて開催し、共同研究施設での合意を得るとともに多くのSOP作成にCROであるファイブリングス社とともに取りかかった。2013年2月26日に再度上田班班会議を開催し、治験実施に関する統一事項を確認した。

#### 施設IRB申請と承認：

完成した研究計画書を名古屋市立大学病院の施設IRBに申請し、2013年1月15日に承認を得た。その後、関連する血液・化学療法内科、呼吸器内科、消化器内科、産婦人科、皮膚科の治療分担医師やCRC、薬剤師、放射線科技術師、病棟および外来看護師を含めたスタートアップミーティングを2013年2月12日に開催し、院内での登録から治験薬投与手順について確認した。その際に、患者予後の推定を含む適格性の判定や治療後の効果判定は協力診療科で担当いただき、治験薬（Mogamulizumab: KW-0761）投与や治験薬投与中の検査、そして有害事象の判定については血液・化学療法内科で実施することが確認された。またCCR4の免疫染色用のパラフィンブロックからの薄切切片標本の作製は臨床病態病理学講座で実施いただき東京医大へSOPに従って送付する手順が確認された。

#### 患者同意の取得と治験治療の開始：

当院では第Ia相の第1コホートであるKW-0761 0.1mg/kgの3例目の患者様として本治験参加にご同意いただき登録を行った。本患者に対しては2013年3月26日に初回の治験薬投与を実施した。重篤な輸注反応は認めず、その後も治験治療を継続している。さらに1名の患者様に本治験参加にご同意いただき、治験治療の開始時

期を待っていただいている状況である。

#### D. 考察

がんの発生や制御には個体の免疫系、特に細胞傷害性T細胞（cytotoxic T lymphocyte: CTL）が重要な役割を担っている。最近、CTLの働きを抑制する分子を制御する治療法開発が進み、特にCTLA4分子やPD-1/PD-L1分子を標的とした抗体療法がCTLの活性化に作用し腫瘍の縮小効果を有することが臨床試験レベルで示されてきた。もう一つの治療標的と期待されているのが免疫系を負に制御している制御性T細胞（regulatory T-cell: Treg）である。TregはCD4陽性CD25陽性FoxP3陽性分画に存在するとされているが、本研究班の分担研究者である大阪大学の西川らはその中でもCCR4陽性の分画に活性化Tregが存在していることを明らかにしている。現在の腫瘍ワクチン療法が十分な効果を発揮できていないのも活性化Tregによる抗腫瘍免疫抑制作用によるものであることが推定されている。実際、最近CCR4ノックアウトマウスにおいては、Treg作用の減弱のため腫瘍増殖が抑制されることが明らかになっている。

我々が、本治験において進行・再発固形がん患者に対する抗腫瘍免疫増強効果を期待して用いるMogamulizumab (KW-0761) はポテリジェント技術を用いてADCC効果を増強したヒト化抗CCR4抗体であり、成人T細胞白血病/リンパ腫 (adult T-cell leukemia/lymphoma: ATLL) 患者の治療に対して薬事承認されている。我々は、Mogamulizumab 療法を受けたATLL患者においては、Tregを体内から長期間にわたって枯渇させる効果があることを示してきた。この効果により固形がん患者に対するTregの減少によるCTLの増殖や活性化効果が期待される。しかし、固形がん患者においてはATLL患者のように腫瘍細胞が直接CCR4を発現しているわけではないため、Mogamulizumabの投与量はより少なくても済む可能性がある。ATLL患者においてのMogamulizumabによる有害事象で最も高頻度に認められるのは投与時の輸注反応である。しかし最も重篤な有害事象は、Treg抑制により活性化された自己反応性T細胞によると考えられる皮膚障害をはじめとした自己免疫性有害事象（immune-related adverse events: irAE）である。したがって本治験では、第Ia相においてATLL患者に対する推奨投与量である1mg/kgの1/10の投与量である0.1mg/kgから慎重に投与を開始し、安全性と薬物動態を確認し

ながら1.0mg/kgまで増量するデザインとした。第Ib相においては、患者体内におけるTregの動態をセカンダリーエンドポイントに設定し、長期のMogamulizumab投与の安全性とTregの減少効果、そして臨床効果や安全性を考慮して推奨投与量を決定するためのランダム化試験のデザインとした。また同時に5がん種を割り付け因子として、Mogamulizumab療法の有効性が期待できるがん種を探索できるように設定した。

治験の実施については、年度内にfirst patient inまで到達することが目標であったが、2013年2月に分担研究施設である川崎医科大学病院で実施された。名古屋市立大学病院においても関連各診療科との連携体制を構築し2013年3月26日に第1コホートの3例目となる患者に治験治療を開始することが出来た。今後残りの2年間で目標症例を完遂できるように治験体制を整えてゆく方針である。

#### E. 結論

ヒト化単クローン性抗CCR4抗体 (Mogamulizumab) を用いてTregを抑制し固形がん患者に対する抗腫瘍免疫の活性化を期待した医師主導の第I相臨床治験を計画し開始することが出来た。今後の2年間で治験登録を完遂し、企業主導の臨床第II相治験に繋げてゆくことが本研究班の使命である。しかし、固形がん患者に対するMogamulizumabの投与経験は本研究班において世界で初めて成されるものであり、治験治療中の患者様の安全性に十分に配慮を行いながら進めることが重要である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文

(1) 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, 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* 2012; 2(7):e79.

(2) Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci* 2012; 103: 1764-1773.

(3) Sato F, Ishida T, Ito A, Mori F, Masaki A, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Suzuki S, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma mice model. *Leuk Res* 2012; 37(1): 21-27.

(4) 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; *Epub ahead of print on Jan 30*.

和文

該当なし

##### 2. 学会発表

該当なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

該当無し

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

分担研究課題：第I/II相臨床治験の実施及び管理

研究分担者 土岐祐一郎 大阪大学 教授

研究要旨

成人 T 細胞白血病リンパ腫に対する日本発のがん治療薬であるヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体 (Mogamulizumab) を、制御性 T 細胞 (Treg) の除去を介した抗腫瘍免疫増強による固形がん治療に用いるという革新的がん治療の実用化に関する臨床研究を行う。安全性、T 細胞除去効果及び薬物動態を検討することを目的に医師主導第 Ia/Ib 相臨床治験を実施するための組織構築を進めるとともに、食道癌・胃癌における腫瘍抗原発現・腫瘍抗原特異的抗体産生を解析することにより免疫療法の基礎研究を進めた。

A. 研究目的

「がん対策基本法」による「がんの克服を目指し、がんに関する専門的、学際的又は総合的な研究を推進するとともに、がんの予防、診断、治療等に係る技術の向上その他の研究等の成果を普及し、活用し、及び発展させること」という基本理念の達成のため、成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL) に対する日本発のがん治療薬であるヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体 (Mogamulizumab/KW-0761) を、制御性 T 細胞 (Treg) の除去を介した抗腫瘍免疫増強による固形がん治療に用いるという革新的がん治療の実用化に関する臨床研究を行う。Treg 細胞表面に CCR4 抗原が著明に強発現していることによる。大阪大学大学院・消化器外科では、安全性、T 細胞除去効果及び薬物動態を検討することを目的に医師主導第 Ia/Ib 相臨床治験を実施する。

B. 研究方法

①臨床試験；標準治療抵抗性 CCR4 抗原発現陰性の進行・再発肺・胃・食道・卵巣・皮膚がん患者を対象とし、第 Ia 相では、第 Ib 相に用いる Mogamulizumab の最大投与量を決定する。投

与量増量試験を、0.1 mg/kg 群に 3 例（最大 6 例）、0.5 mg/kg 群に 3 例（最大 6 例）、1.0 mg/kg 群に 3 例（最大 6 例）について行い、安全かつ十分な Treg 除去（減少）効果を認める投与量を決定する。Mogamulizumab の投与回数は 8 回とし、週 1 回で投与する。第 Ib 相部は、第 Ia 相部において忍容性が確認された投与量のなかで高用量の 1 用量及び 0.1mg/kg にて各群 20 例となるように投与する。投与は、週に 1 回 8 週連続で静脈内投与する。ただし、第 Ia 相部において、忍容性が確認された投与量が 0.1mg/kg のみであった場合は、第 Ib 相部では、0.1mg/kg の 1 用量を用いて 20 例となるように投与する。

②胃癌・食道癌患者に対する免疫療法の実践と解析；当科では 2004 年より癌精巢抗原 NY-ESO-1 を用いた癌ワクチン療法を行ってきた。ワクチン投与患者体内における種々の免疫学的解析として、NY-ESO-1 抗原特異的液性・細胞性免疫反応、腫瘍組織を用いた腫瘍細胞抗原・免疫担当細胞の免疫染色、投与抗原以外の腫瘍関連抗原に対する免疫反応の推移などを探索している。その中で、免疫療法を含む種々の治療前後における NY-ESO-1 抗体の推移に注目し、

腫瘍マーカーとしての有用性を探っている。

### C. 研究結果

①大阪大学医学部附属病院治験センターの協力のもと、治験センターに対して2013年1月10日仮申請、2月1日治験事務担当者との協議、2月12日本申請を経て、2月25日病院倫理委員会が開催され、3月5日修正を経て、本治験は3月8日承認を得た。事務手続き・諸契約の後、3月28日スタートアップ会議を行い、症例の検討を開始、3月29日食道癌症例を待機リストに登録した。また、実施体制構築のため2013年2月17日化学療法室・皮膚科・婦人科への協力依頼、2月21日消化器外科教室内の説明会を開催した。

②NY-ESO-1抗原は胃癌組織には従来、発現はまれと言われていた。しかし我々は363例の胃癌患者血清を集積し、NY-ESO-1抗体をELISAにて解析した結果、全症例中11%で陽性であり、ステージⅢ・Ⅳ症例に限ると23.2%が抗体陽性であった。胃癌の腫瘍マーカーとしては、診断マーカーとなりうる胃癌特異的マーカーはなくCEA/CA19-9などを組み合わせ、治療効果のモニタリングとして用いている。CEA/CA19-9に加えて今回、NY-ESO-1抗体を胃癌患者において組み合わせることにより、陽性率は28%から34%に、またステージⅢ・Ⅳ症例に限ると45.8%から57.0%と上昇した。手術あるいは化学療法などの治療前にNY-ESO-1抗体が陽性であった41例中25例に関して治療後も抗体反応を追跡したところ、根治手術をおこなえた16例では術後9か月以内にほとんどの症例でカットオフ値を下回り、半減期は平均で3か月であった。しかしその中でも再発をきたした2例では陰転化せず、再発とともに再上昇をきたした。根治的切除不可能で化学療法のみ行った症例9例では、抗体反応は低下傾向を示さなかった。

これら症例の中でも、抗体反応解析かつRT-PCRもしくは免疫染色にて抗原発現解析が可能であった60例においては、NY-ESO-1抗原陽性は19例(32%)、うち抗体陽性は8例(8/19、42%)であった。

### D. 考察

①これらにより症例選択・受け入れ・実施・他科協力などが可能となった。

②進行胃癌症例におけるNY-ESO-1発現が高頻度である事、NY-ESO-1抗体産生患者の頻度は多いこと、治療に伴い変動する事など、種々の免疫療法における腫瘍マーカーとして、特に胃癌症例での

NY-ESO-1抗体の有用性があると考えられた。

### E. 結論

抗CCR4抗体療法を胃癌、食道癌をはじめとする各種固形がんに対して投与する医師主導治験実施体制を確立した。さらに、投与症例に対する免疫学的モニタリング方法の基礎を確立した。

### F. 研究発表

#### 1. 論文発表

英文

- (1) Fujiwara S, Wada H, Kawada J, Kawabata R, Takahashi T, Fujita J, Hirao T, Shibata K, Makari Y, Iijima S, Nishikawa H, Jungbluth AA, Nakamura Y, Kurokawa Y, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Takiguchi S, Nakayama E, Mori M, Doki Y. NY-ESO-1 antibody as a novel tumour marker of gastric cancer. *Br J Cancer*. 108(5):1119-25. 2013
- (2) Hiura Y., Takiguchi S., Yamamoto K., Takahashi T., Kurokawa Y., Yamasaki M., Nakajima K., Miyata H., Fujiwara Y., Mori M., Kangawa K., Doki Y. Effects of ghrelin administration during chemotherapy with advanced esophageal cancer patients: a prospective, randomized, placebo-controlled phase 2 study. *Cancer*118(19):4785-4794, 2012
- (3) Hirota M., Nakajima K., Hara J., Takahashi T., Yamasaki M., Tsutsui T., Kobayashi E., Kurokawa Y., Miyata H., Takiguchi S., Mori M., Doki Y. A case of simultaneous transvaginal NOTES gastrectomy and vaginal hysterectomy in a patient with gastric submucosal tumor and uterine prolapse. *Asian J Endosc Surg* 5(4) : 168-171, 2012
- (4) Yasuda T., Sugimura K., Yamasaki M., Miyata H., Motoori M., Yano M., Shiozaki H., Mori M., Doki Y. Ten cases of gastro-tracheobronchial fistula: A serious complication after esophagectomy and reconstruction using posterior



- mediastinal gastric tube. *Dis Esophagus*. 25(8) : 687-693, 2012
- (5) Kobayashi S, Nagano H., Marubashi S, Wada H., Eguchi H., Takeda Y., Tanemura M., Doki Y., Mori M. Fibrin Sealant with PGA felt for Prevention of Bile Leakage after Liver Resection. *Hepatogastroenterology* 59(120) : 2564-2568, 2012
- (6) Nakajima K, Moon JH., Tsutsui S., Miyazaki Y., Yamasaki M., Yamada T., Kato M., Yasuda K., Sumiyama K., Yahagi N., Saida Y., Kondo H., Nishida T., Mori M., Doki Y. Esophageal submucosal dissection under steady pressure automatically controlled endoscopy: a preclinical trial in swine. *Endoscopy* 44(12) : 1139-1147, 2012
- (7) Nishimura J, Handa R., Yamamoto H., Tanaka F., Shibata K., Mimori K., Takemasa I., Mizushima T., Ikeda M., Sekimoto M., Ishii H., Doki Y., Mori M. MicroRNA-181a is associated with poor prognosis of colorectal cancer. *Oncol Rep* 28(6) : 2221-2226, 2012
- (8) Motoori M. Yano M., Yasuda T., Miyata H., Peng YF., Yamasaki M., Shiraishi O., Tanaka K., Ishikawa O., Shiozaki H., Doki Y. Relationship between Immunological Parameters and the Severity of Neutropenia and Effect of Enteral Nutrition on Immune Status during Neoadjuvant Chemotherapy on Patients with Advanced Esophageal Cancer. *Oncology* 83(2) : 91-100, 2012
- (9) Takiguchi S, Hiura Y., Miyazaki Y., Takata A., Murakami K., Doki Y. Clinical trial of ghrelin synthesis administration for upper GI surgery. *Methods Enzymol*, 514, 409-431, 2012
- (10) Nishida N, Nagahara M., Sato T., Mimori K., Sudo T., Tanaka F., Shibata K., Ishii H., Sugihara K., Doki Y., Mori M. Microarray analysis of colorectal cancer stromal tissue reveals upregulation of two oncogenic miRNA clusters. *Clin Cancer Res* 18(11) : 3054-3070, 2012
- (11) Nagano H, Kobayashi S., Marubashi S., Wada H., Eguchi H., Tanemura M., Tomimaru Y., Umeshita K., Doki Y., Mori M. Combined IFN- $\alpha$  and 5-FU treatment as a postoperative adjuvant following surgery for hepatocellular carcinoma with portal venous tumor thrombus. *Exp Ther Med* 5(1) : 3-10, 2013
- (12) Yamamoto K, Takiguchi S., Miyata H., Miyazaki Y., Hiura Y., Yamasaki M., Nakajima K., Fujiwara Y., Mori M., Kangawa K., Doki Y. Reduced plasma ghrelin levels on day 1 after esophagectomy: a new predictor of prolonged systemic inflammatory response syndrome. *Surg Today*. 43(1) : 48-54, 2013
- (13) Yamamoto H, Oshiro R., Ohtsuka M., Uemura M., Haraguchi N., Nishimura J., Takemasa I., Mizushima T., Doki Y., Mori M. Distinct expression of C4.4A in colorectal cancer detected by different antibodies. *Int J Oncol* 42(1) : 197-201, 2013
- (14) Suzuki Y, Haraguchi N., Takahashi H., Uemura M., Nishimura J., Hata T., Takemasa I., Mizushima T., Ishii H., Doki Y., Mori M., Yamamoto H. SSEA-3 as a novel amplifying cancer cell surface marker in colorectal cancers. *Int J Oncol* 42(1) : 161-167, 2013
- (15) Yamamoto H, Tei M., Uemura M., Takemasa I., Uemura Y., Murata K., Fukunaga M., Ohue M., Ohnishi T., Ikeda K., Kato T., Okamura S., Ikenaga M., Haraguchi N., Nishimura J., Mizushima T., Mimori K., Doki Y., Mori M. Ephrin-A1 mRNA is associated with poor

- prognosis of colorectal cancer. *Int J Oncol* 42(2) : 549-555, 2013
- (16) Nishimura J, Nakajima K., Souma Y., Takahashi T., Ikeguchi N., Takenaka R., Shinohara N., Nishida T., Doki Y., Mori M. The possibility of using fibrin-based collagen as an antibiotic delivery system. *Surg Today* 43(2) : 185-190, 2013
- (17) Yasuda T., Yano M., Miyata H., Yamasaki M., Takiguchi S., Fujiwara Y., Doki Y. Evaluation of dysphagia and diminished airway protection after three-field esophagectomy and a remedy. *World J Surg* 37(2) : 416-423, 2013
- (18) Okada K., Fujiwara Y., Takahashi T., Nakamura Y., Takiguchi S., Nakajima K., Miyata H., Yamasaki M., Kurokawa Y., Mori M., Doki Y. Overexpression of Forkhead Box M1 Transcription Factor (FOXM1) is a Potential Prognostic Marker and Enhances Chemoresistance for Docetaxel in Gastric Cancer. *Ann Surg Oncol* 20(3) : 1035-1043, 2013
- (19) Nakajima K., Takahashi T., Souma Y., Miyazaki Y., Mori M., Doki Y. "A novel percutaneous insufflating guidewire system for transgastric natural orifice transluminal endoscopic surgery (NOTES) (with video). *Surg Endosc* 27(3) : 1016-1020, 2013
- 和文
- (20) 藤原義之、岸健太郎、本告正明、矢野雅彦、石川治、岡田かおる、益澤徹、森正樹、土岐祐一郎、吉田浩二、角田卓也、中村祐輔 "特集 消化器がんにおけるがんワクチン療法 胃がんに対するがんペプチドワクチン療法 *G.I. Research* 20(2):30120-37127 2012
- (21) 森正樹、土岐祐一郎 "【臨床医学の展望 2013】消化管外科学 *Gastroenterological Surgery*" *日本医事新報* (4634) : 80-85、2013
2. 学会発表  
なし。
- G. 知的財産権の出願・登録状況  
なし。

固形がんに対する CCR4 抗体療法第 I a/ I b 相医師主導治験

分担研究課題：第 I a/ I b 相臨床治験

研究分担者 岡 三喜男 川崎医科大学 教授

研究要旨

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab（抗CCR4抗体）を週1回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること（第 I a 相部）、及び週1回反復投与した際の安全性及び制御性T細胞除去効果を検討すること（第 I b 相部）を目的とする医師主導治験である。

川崎医科大学は、約6カ月で医師主導治験の実施体制を整え、全国に先駆けて第一例目へ治験薬を投与した。2013年4月10日現在、登録した2例の患者に治験薬を投与中であり、更なる症例登録を予定している。今後、安全性、忍容性の確認、推奨用量の決定を行うとともに、臨床効果、制御性T細胞除去効果および免疫増強効果の検討を行う予定である。

A. 研究目的

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab（抗 CCR4 抗体）を週 1 回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること（第 I a 相部）、及び週 1 回反復投与した際の安全性及び制御性 T 細胞除去効果を検討すること（第 I b 相部）を目的とする。

B. 研究方法

治験実施予定期間は 2013 年 2 月～2015 年 6 月とし、進行又は再発固形がん①腫瘍細胞の CCR4 発現が陰性（診断は本邦で商品化されている方法を用いること）であり、且つ病理組織診断で肺がん、胃がん、食道がん、悪性黒色腫、卵巣がんの悪性腫瘍の診断が確定している患者、②標準治療に不応・不耐性の患者、適切な治療法がない患者、又は標準治療を拒否した患者、③performance status (ECOG 基準) が 0、1、2 であること、④治験参加同意取得日の年齢が 20 歳以上であること、⑤主要臓器（骨髄、心、肺、肝、腎等）に高度な障害がなく臨床検査値（登録前 2 週間以内）が基準を満たすこと、

⑥同意取得時から治験薬投与終了後 24 週まで、コンドーム等の避妊方法による避妊に同意していること（閉経後（最終月経から 1 年以上経過）又は外科的不妊手術を施行した女性及び外科的避妊術を施行した男性は除く）、⑦本人が文書により同意していること、⑧ Mogamulizumab の初回投与前から初回投与翌日まで投与入院が可能な患者⑨効果判定の対象になる RECIST version 1.1 (New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version 1.1)) 12) における測定可能病変を有すること、⑩3 カ月間以上の生存が期待できる患者を対象に以下のように執り行う。

【第 I a 相部】Mogamulizumab 0.1 mg/kg 群 3 例（最大 6 例）、その後 0.1 mg/kg 群の忍容性が確認された場合は 0.5mg/kg 群を 3 例（最大 6 例）、0.5mg/kg 群の忍容性が確認された場合は 1.0mg/kg 群 3 例（最大 6 例）について所定の用量の治験薬を週に 1 回 8 週連続で静脈内投与する。

【第 I b 相部】第 I a 相部において忍容性が確認された投与量（MTDの一段階下の投与量又はMTDに達していない場合は1.0mg/kg）のなかで高用量の1

用量及び0.1mg/kgにて各群20例となるように投与する。投与は、週に1回8週連続で静脈内投与する。ただし、第I a相部において、忍容性が確認された投与量が0.1mg/kgのみであった場合は、第I b相部では、0.1mg/kgの1用量を用いて20例となるように投与する。

なお、8回投与後の制御性T細胞検査及び抗原特異的抗体免疫反応検査あるいは画像診断において、制御性T細胞除去効果及び抗原特異的抗体免疫反応又はRECISTにおいてSD以上が確認された被験者については、被験者に治験薬の維持投与の希望があり、且つ治験責任医師等が治験薬の維持投与が適当と判断した場合は、12週以降4週毎に、投与中止基準に該当するまで治験薬の維持投与を可とする。

主要評価項目は 第I a相部では、①安全性：最大耐用量（MTD）、用量制限毒性（DLT）、有害事象の種類・頻度・程度と②薬物動態の検討を行い、第I b相部では、①安全性：有害事象の種類・頻度・程度および②制御性T細胞除去効果を検討する。

さらに副次的評価項目として、第I a相部では①制御性T細胞除去効果と②有効性：腫瘍縮小効果、無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）を検討し、第I b相部では①有効性：腫瘍縮小効果、無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）および②第II相試験以降の推奨投与量の決定を行う。

また、付随研究として、同意を得られた患者より得た検体を用いて、担当研究機関と連携をとりながら、①抗原特異的抗体免疫反応検査、②抗原特異的細胞免疫反応検査、③サイトカイン産生能評価、④免疫担当細胞・制御細胞解析などを総合的に解析し抗原特異的なT細胞免疫の増強効果を証明する。

## C. 研究結果

医師主導治験実施の院内体制整備の為、2012年7月に川崎医科大学学長、同附属病院病院長の了承を得てSOPの作成を開始した。同年11月のPMDA対面助言を契機に治験体制の準備が本格化し、同年12月に当院の治験委員会、病院運営委員会でSOPの承認を得た。さらに2013年1月21日、治験審

査委員会で治験の承認を得た後、病院運営委員会でも承認され、2013年1月23日付で川崎医科大学附属病院病院長から治験承認書が発行された。2013年2月1日からCRCの業務を開始し、2月4日には外部機関によるシステム監査を終了した。

同年2月12日、第一例目の治験同意を取得し、2月18日に治験登録を行った。2月26日、遂に全国で初となる第一例目に治験薬の投与を行った。

4月10日現在、当院は全国に先駆けて、2例の登録患者に対し治験薬を投与している。この2例には0.1mg/kgの用量で治験薬の投与を行い、4回投与終了時点でDLTの発生はなく忍容性が確認された。現在は維持投与中であり、1例目は7回目の投与が、2例目は6回目の治験薬投与が終了している。

今後、4月末に当院で3例目（全国で4例目）の同意取得を行い、治験薬を投与する予定である。

## D. 考察

2012年6月の厚生労働省のヒアリングから約6カ月で医師主導治験の実施体制を整え、全国に先駆けて症例登録し、第一例目へ治験薬を投与し、さらに治験が進行中である。今後、Ib相に向け更なる症例登録を行っていくとともに、関連研究施設と密に連携をとって、臨床効果、制御性T細胞除去効果および免疫増強効果の検討を行う予定である。

## E. 結論

当院では、4月10日現在、2名の患者に治験薬を投与中であり、安全性の検討を行い、投与量0.1mg/kgの忍容性が確認された。今後、症例を重ね臨床効果、制御性T細胞除去効果および免疫増強効果の検討を行う予定である。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

### 2. 学会発表

なし

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

分担研究課題： 第Ib相治験実施のための体制構築

研究分担者 垣見和宏 東京大学医学部附属病院 特任准教授

研究要旨

第 Ib 相治験実施施設として、速やかに治験実施を可能とするための院内の組織を構築した。第 Ia 相治験開始の平成 24 年度は、東大病院において直ちに患者に抗 CCR4 抗体を投与する診療を実施することは不可能であるが、治験を担当する診療科の医師で付随研究「癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析」を立ち上げ、がん患者において、腫瘍局所へ浸潤している抑制性 T 細胞 (Treg) が、末梢血中に存在する Treg と同様に CCR4 を発現しているかどうかを検証した。腹水中には resting に加えて activated タイプの Treg を認めた。すべての Foxp3<sup>+</sup>Treg は CCR4 を発現していたことから、腫瘍局所の Treg が抗 CCR4 抗体の標的となりうることが示唆された。

A. 研究目的

担がん生体において、がん抗原や MHC クラス I 分子などの抗原提示に関わる分子の発現低下による腫瘍の免疫原性の低下や、がん細胞が産生/誘導する多様な免疫抑制分子や免疫抑制性の細胞の誘導による免疫抑制性の環境が問題であることが明らかになってきた。これまで我々は腫瘍に対する免疫応答を如何にして誘導するか、あるいは増強するか、という点に着目して治療法を開発してきたが、これまで実施してきた単純な能動免疫法だけでは抗腫瘍効果が不十分である事はあきらかであり、免疫治療の障害となる抑制性の因子を制御することが求められている。

抑制性 T 細胞 (Treg) は腫瘍免疫を抑制する中心的な役割を担う細胞であり、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>細胞として同定される。腫瘍組織に浸潤しているリンパ球中の Treg の存在は、腫瘍細胞を宿主の免疫応答から回避させるだけでなく、がんワクチンなどのがん免疫療法が未だ十分な効果をあげられない一因と考えられており、Treg の制御はがん免疫療法が克服すべき重要な課題と考えられている。

ケモカイン受容体 CCR4 を発現する再発又は難治性の成人 T 細胞白血病リンパ腫 (ATL) に対する治療

薬として、抗 CCR4 抗体である Mogamulizumab (協和発酵キリン) が開発された。本抗体は、CCR4 発現腫瘍に対して、ADCC 活性

(Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity : 抗体依存性細胞傷害活性) に基づく細胞傷害活性を示し、臨床効果を発揮する。Treg が CCR4 を発現していることから、抗 CCR4 抗体を用いて Treg を除去(減少)することが可能であれば、Treg による免疫抑制機構を解除し、その結果として抗腫瘍免疫応答を増強させることが期待される。さらに、高免疫原性ワクチンを同時投与することで、強力な腫瘍特異的な免疫応答を誘導しうる次世代がんワクチンの基盤開発が可能となるのではないかと期待される。

我々は、第 Ib 相治験実施施設として、速やかに治験実施を可能とするために、院内の組織を構築した。第 Ia 相治験開始の平成 24 年度は、東大病院において、直ちに患者に抗 CCR4 抗体を投与する診療を実施することは不可能であるが、治験を担当する診療科の医師で治験に付随する研究「癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析」を立ち上げ、がん患者において、腫瘍局所へ浸潤している Treg が、末梢血中に存在する Treg と同様に CCR4 を発現しているかどうかを検証した。がん細胞と免疫細胞が同

時に存在している胸水/腹水を免疫抑制性の腫瘍局所として、末梢血と比較検討した。抗CCR4抗体の投与でTregを制御することが、免疫環境の改善につながるかどうかの検討を目的とした。

## B. 研究方法

### 1) 対象

癌性胸膜炎/腹膜炎患者で、その治療経過において、穿刺廃液処置を必要とする患者。

選択基準 東京大学医学部附属病院・呼吸器外科、呼吸器内科、胃食道外科、女性外科を受診し、癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水が貯留し、診断あるいは治療目的で胸水/腹水を穿刺採取する20歳以上の患者で性別を問わない。

除外基準 説明文書の内容が理解できない者、自筆で同意書が記入できない者。

### 2) 方法

(1) 当院において、癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水貯留に対する診断あるいは治療目的で胸水/腹水穿刺を実施する際に、採取した胸水/腹水の余剰分を研究に用いる。

(2) 採取された胸水/腹水(50ml-200ml)を遠心分離し、沈渣(細胞成分)と上清に分離し、測定まで凍結保存する。

(3) 沈渣中の細胞成分を蛍光標識されたモノクローナル抗体のパネルを用いて染色し、フローサイトメーターを用いてその細胞組成を解析し、免疫抑制性の細胞であるTregとそのCCR4発現を解析する。また、同時に存在する骨髄性抑制細胞(myeloid derived suppressor cells; MDSC)の比率を測定する。

(4) 比較のために末梢血10mlをヘパリン採血により採取し、遠心分離によりリンパ球と血漿に分けて同様の解析を行い、局所(胸腔/腹腔)と全身の免疫環境を比較する。

(倫理面への配慮)

#### (1) インフォームド・コンセント

説明文書および同意文書を患者に渡し、文書および口頭による十分な説明を行い、本研究への参加について依頼し、患者が本研究の内容をよく理解したことを確認した上で、患者の自由意思による同意を文書で得る。得られた同意文書には、説明を受けて同意した患者氏名及び同意した日付が患者本人によ

り記入されていることを確認する(代諾、代筆は不可)。また、同意をした後、いつでも同意を撤回することができることを説明する。被験者から研究参加の辞退の申し出や同意の撤回があった場合は、担当医は同意撤回書によりその意志を確認し、研究責任者に提出する。

特に倫理的な配慮を必要とする研究参加者は含まない

#### (2) 個人情報保護

カルテ情報、同意書等における「氏名、生年月日」が個人情報に該当する。連結可能匿名化を行い、同意書、対応表は研究責任者が免疫細胞治療学講座研究室3の鍵のかかるキャビネットに保管する。オリジナルデータは、研究責任者が免疫細胞治療学講座研究室3のLANにつながれていないスタンドアロンのパソコンに保管する。

#### (3) 研究期間終了後の個人情報の保存/廃棄方法

研究責任者が免疫細胞治療学講座研究室3内の鍵のかかるキャビネット内に保管し、研究終了5年後、紙ベースの資料はシュレッダーにかけて廃棄し、電子データは削除する。5年以上保存する場合は研究倫理審査委員会への延長申請を行う。

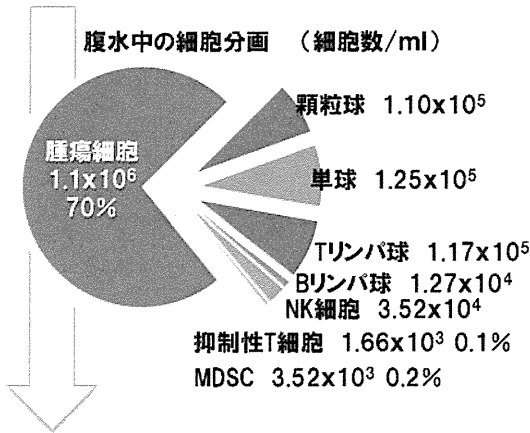
「癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析」(審査番号3880)は、平成24年9月5日東京大学大学院医学系研究科研究倫理審査委員会で承認された。

## C. 研究結果

治療目的で腹水穿刺を受けた7名の胃癌患者から腹水の提供を受けて、腹水中の細胞分画を解析した。腹水中の細胞を抗EpCAM抗体と抗CD45抗体を用いて腫瘍細胞と血球系の細胞に分類した。抗CD14抗体を用いて単球、抗CD3抗体を用いてT細胞を同定した。さらに抗 $\alpha\beta$ TCR抗体と抗V $\gamma$ 9抗体を用いて $\alpha\beta$ T細胞と $\gamma\delta$ T細胞に分類し、 $\alpha\beta$ T細胞はさらにそれぞれ抗体を用いてCD4陽性とCD8陽性T細胞に分類した。TregはCD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>細胞として同定し、さらにCD45RAの発現パターンによってresting Treg(rTreg)とactivated Treg(aTreg)に分類した。また、MDSCはCD14<sup>-</sup>CD15<sup>+</sup>あるいはCD33<sup>+</sup>HLA-DR<sup>-</sup>細胞とした。

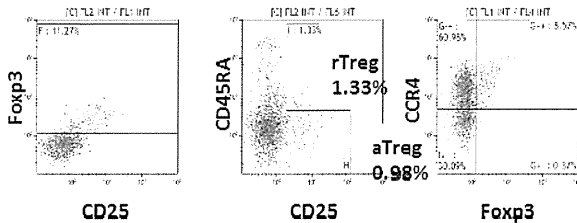
腫瘍細胞をEpCAMで同定可能な患者で、腹水中のTregとMDSCを検出することが可能であった症

例を認めた。

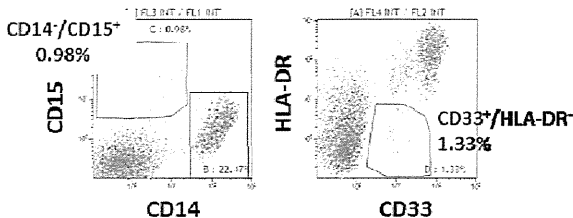


腹水 1ml の細胞数は  $1.5 \times 10^6$  個で、そのうち  $1.1 \times 10^6$  個の細胞 (70%) は EpCAM 陽性の腫瘍細胞 (胃癌細胞) であった。顆粒球は  $1.1 \times 10^5$  個 (7%)、単球は  $1.25 \times 10^5$  個 (8.3%)、T リンパ球は  $1.17 \times 10^5$  個 (7.8%)、B 細胞は  $1.27 \times 10^4$  個 (0.85%)、NK 細胞は  $3.52 \times 10^4$  (2.35%)、Treg は  $1.66 \times 10^3$  個 (0.11%)、MDSC は  $3.52 \times 10^3$  個 (0.2%) であった。

・腫瘍局所 (腹水中) には、CD45RA<sup>+</sup>である rTreg と CD45RA<sup>-</sup>である aTreg の抑制性 T 細胞が共存し、共に CCR4 を発現していた



・腫瘍局所 (腹水中) には、抑制性 T 細胞に加えて MDSC も存在した。



#### D. 考察

これまでの癌ワクチン治療などの経験から、実際に臨床効果を得るためには、末梢血中に抗腫瘍免疫応答を誘導するだけでなく、腫瘍局所における強力

な抗腫瘍免疫応答を誘導することが必要であることが明らかになってきた。そのためには、免疫抑制性の環境を制御することが重要であるが、末梢血中の Treg のみならず、腫瘍局所に浸潤している Treg を制御することが重要である。実際の腫瘍局所の解析を行うためには、手術や生検時に採取した検体が必要であるが、進行癌や再発癌患者において、改めて腫瘍組織を採取することは容易ではない。そこで本研究において、治療目的に胸水や腹水を穿刺廃液する癌性胸膜炎あるいは腹膜炎患者の胸水/腹水の提供を受け、がん細胞と免疫細胞が共存する胸水/腹水を腫瘍局所のモデルとして解析した。腫瘍細胞と免疫細胞が共存する環境下において、Treg や MDSC などの免疫抑制性の細胞浸潤が認められた。また、同時に T 細胞や NK 細胞など抗腫瘍免疫応答のエフェクター細胞も共存していることから、免疫抑制性の細胞を制御することにより、これらのエフェクター細胞の活性化を得ることが出来れば、抗腫瘍効果を得ることを期待できた。腹水中の Treg は resting に加えて activated タイプの Treg を認めることから、腹水を腫瘍局所のモデルとしてみなすことが可能であると考えられる。すべての Foxp3<sup>+</sup>Treg は CCR4 を発現していたことから、腫瘍局所の Treg が抗 CCR4 抗体の標的となりうることを証明することができた。

#### E. 結論

- ・東京大学医学部附属病院において、抗 CCR4 抗体治療の治験を実施するための体制を構築した。
- ・治験に参加する医師で共同研究を実施し、胸水/腹水中の免疫応答を解析した。
- ・腹水中にはがん細胞と免疫細胞が共存し、そこに含まれた Treg は CCR4 を発現していた。
- ・腫瘍局所の CCR4 陽性 Treg が、抗 CCR4 抗体治療の標的となる可能性を示した。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

英文

- (1) 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. Eikawa S, Kakimi K, Isobe M, Kuzushima K, Luescher I, Ohue Y, Ikeuchi K, Uenaka A, Nishikawa H, Udono H,

Oka M, Nakayama E. Int J Cancer. 2013 Jan 15;132(2):345-54.

- (2) Targeting spatiotemporal expression of CD137 on tumor-infiltrating cytotoxic T lymphocytes as a novel strategy for agonistic antibody therapy. Noji S, Hosoi A, Takeda K, Matsushita H, Morishita Y, Seto Y, Kakimi K. J Immunother. 2012 Jul;35(6):460-72.

## 2. 学会発表

- (1) 腹水貯留を伴う治療抵抗性胃癌に対する $\gamma\delta$ T細胞腹腔内投与治療の第1相臨床試験、和田郁雄、松下博和、垣見和宏、山形行徳、小川雅子、森一彦、畑尾史彦、清水伸幸、野村幸世、瀬戸泰之、第67回日本消化器外科学会総

会、2012/7/20、富山県

- (2) NY-ESO-1長鎖ワクチン、和田尚、垣見和宏、磯辺みどり、栄川伸吾、上中明子、森正樹、土岐祐一郎、中山睿一. 第71回日本癌学会学術総会、2012/9/19-21、札幌

(3) 腹水貯留を伴う治療抵抗性胃癌患者に対する $\gamma\delta$ T細胞腹腔内投与治療、田村直久、和田郁雄、清水伸幸、野村幸世、近藤篤、藤枝奈緒、近藤真、泉謙道、高橋卓也、前川隆司、松下博和、瀬戸泰之、垣見和宏、第50回日本癌治療学会学術集会、2012/10/26、横浜

## G. 知的財産権の出願・登録状況

なし



固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

分担研究課題：日本人の悪性黒色腫患者における NY-ESO-1, XAGE など腫瘍抗原の発現と免疫に関する解析

研究分担者 船越 建 慶應義塾大学 助教

研究要旨

近年、悪性黒色腫は分子学的にも疫学的にも異なる個性を有した疾患の集合体と考えられるようになってきている。今回我々は、1) 抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子の探索、2) 黄色人種の悪性黒色腫における主要シグナル伝達経路の活性化の検討と、患者の予後を予測し得るマーカーの探索 の二者を行うことを目的として研究を進めている。当院で集積した悪性黒色腫 123 検体を用いて候補となるバイオマーカーの免疫染色をし、その発現強度と患者の予後および治療反応性を統計学的解析により比較検討している。

研究協力者

森 真理子 助教

種瀬 啓士 助教

腫瘍患者より研究のための同意を得た。これまでに解析予定 90 症例 150 検体のうち、71 症例 123 検体が研究に使用可能な状態になっている。

悪性黒色腫患者の未染スライドを用いて、NY-ESO-1、XAGE、CCR4 の発現をみる。これらについては染色を行う施設間のばらつきの有無を検証することを併せて行う。さらに BRAF V600E の発現および c-Met、Stat3、p38 MAPK、p44/42 MAPK、AKT の各蛋白質のリン酸化抗体について染色態度の解析を行う。

A. 研究目的

本邦を含めた黄色人種症例における悪性黒色腫の病態の解明は欧米の症例と比べても十分になされている状態とは言えず、日本人悪性黒色腫症例を用いた詳細な病態解明が望まれている。そのような中で我々は、1) 抗 CTLA-4 阻害薬等の抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子 (NY-ESO-1 など) の確認と探索、2) 黄色人種における ERK1/2 MAPK シグナル伝達経路等の悪性黒色腫において重要と報告されているシグナル伝達経路の活性化の有無の確認およびその中から予後予測をし得るマーカーの探索、の二者を行うことで、日本人悪性黒色腫患者における治療反応性と予後予測が可能なバイオマーカーの確立を目指している。

B. 研究方法

本研究を行うにあたり、院内倫理委員会より承認された患者説明文書・同意書を用いて悪性黒色

1) 抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子の確認と探索

患者のがん精巣抗原の一つで、強い免疫原性を持つ NY-ESO-1 は、Ipilimumab (抗 CTLA-4 阻害薬) 投与による臨床効果の際の抗腫瘍免疫に関与する非常に重要な因子として報告されており、NY-ESO-1 抗体を持つ患者での臨床効果が有意に高かったと報告されている。日本人悪性黒色腫における陽性率は 10% と報告されており、欧米人の陽性率 (34%) と比較し低い、解析された症例数が 20 例と少ない。今回のわれわれの研究目的は、免疫原性が高く、抗 CCR4 抗体療法による治療効果が期待される悪性黒色腫における日本人での NY-ESO-1 陽性率を

明らかにするとともに、染色プロトコールの普遍性を検証することである。また、同じがん精巢抗原の一つである XAGE についても同様の研究を行う。

## 2) 黄色人種の悪性黒色腫における主要シグナル伝達経路の活性化の検討と、患者の予後予測をし得るマーカーの探索

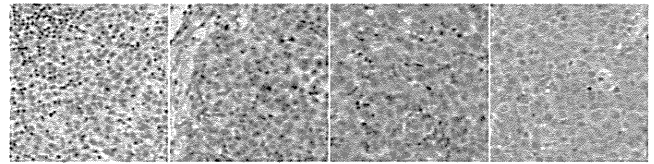
悪性黒色腫は欧米の症例を中心に BRAF、NRAS、c-KIT、PTEN分子の異常が多くの症例において報告され、それらの分子が構成する p44/42 MAPKおよびPI3-AKTシグナル伝達経路の活性化がその病態形成に重要な役割を果たしていることが示唆されている。その中で、BRAFV600E変異に対する阻害薬は本症の予後を改善するという臨床試験の結果が得られたほか、PI3-AKTシグナルの活性化は本症の予後予測マーカーとなることが報告されている。しかし、日本人を含めた黄色人種症例においてこれらの分子異常およびシグナルの活性化の有無を検討した報告は僅かであり、今後さらなる多くの研究報告を要する状況にある。また、欧米例を含め p44/42 MAPKおよびPI3-AKTシグナル伝達経路の活性化だけで全ての症例の病態が説明できるわけではなく、p38MAPK、JAK-STAT、HGF-METといった他のシグナル伝達経路も本症の発症進展に寄与していると予測されている。今回は、BRAF V600E変異の頻度を我々が集積した症例を用いて検討するとともに、各シグナルの活性化の有無をMET、STAT3、p38 MAPK、p44/42 MAPK、AKTのリン酸化抗体の免疫染色態度を解析することで評価する。

染色態度の評価は陽性細胞のパーセンテージ (Number) と陽性細胞の染色強度 (Intensity) の2項目に対して行う。

Numberの評価は以下の通りを行う。

陽性細胞	5%以下	スコア	0
陽性細胞	5-25%	スコア	1
陽性細胞	26-75%	スコア	2
陽性細胞	75%以上	スコア	3

Intensityの評価は以下に例示する染色強度の通りを行う。左からスコア0、1、2、3の順である。

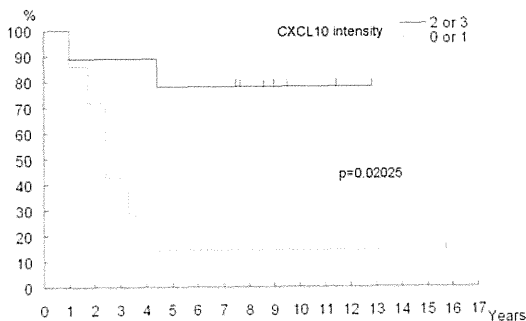


スコアリングは皮膚病理と免疫染色の原理に習熟した二人の皮膚病理医により独立に行われ、スコアの結果が異なる場合には二人でスコアリングにつき検討を行い、合意が得られたものを採用する。合意が得られない場合は第三者のスコアリングを参照するという手法をとる。

各染色態度の評価がそろった段階で、腫瘍のステージ、患者の予後等の臨床情報と対比することで、統計解析を行う。

## C. 研究結果

本研究は検体集積をほぼ終えた段階であり、免疫染色および統計解析は今後行う予定である。ただし、本研究を行う前段階の検討として研究協力者が他施設で以下の検討を行っている。米国の Stage III の悪性黒色腫患者において inducible nitric-oxide synthase (iNOS) が予後不良な患者群において有意に発現していることが報告されている (Ekmekcioglu S, et al. Int J Cancer, 119:861:2006) が、iNOSによって産生される一酸化窒素 (NO) がより腫瘍促進的な微小周囲環境の形成に寄与しているという仮説のもとに iNOS陽性群8例と iNOS陰性群8例の Stage IIIリンパ節転移検体を比較検討したところ、ケモカイン CXCL10が iNOS陰性群において有意に高発現していることを発見し、免疫染色によって CXCL10を発現している腫瘍は良好な経過をたどることを報告した (発表論文および、学会発表1、2を参照)。



#### D. 考察

上述の研究においては、腫瘍細胞由来のNOがCXCL10の発現を抑制していることも確認された。CXCL10はCD8陽性T細胞、NK細胞や形質細胞様樹状細胞等の抗腫瘍免疫を担う免疫細胞のchemo attractantであるが、今回の検討は腫瘍細胞由来のNOが腫瘍細胞からCXCL10の分泌を抑制することで腫瘍微小周囲環境内の抗腫瘍免疫を抑制していることを示唆する知見と考えられる。

#### E. 結論

我々が得ている知見からは、悪性黒色腫患者の予後を予測するバイオマーカーが存在することが示唆される。更なる有効なバイオマーカーの確立および体系化が望まれ、更なる検討を重ねるべく研究継続を行っていく。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

Tanese K, Grimm EA, Ekmekcioglu S. The role of melanoma tumor-derived nitric oxide in the tumor inflammatory microenvironment: Its impact on the chemokine expression profile, including suppression of CXCL10. *Int J Cancer*, 131(4):891-901, 2012.08.

##### 2. 学会発表

1. Tanese K, Grimm EA, Ekmekcioglu S  
Inducible nitric oxide synthase suppresses the expression of CXCL10 and hence leads to the poor outcome of Stage III malignant melanoma  
The 102nd Annual Meeting of American Association for Cancer Research, Orlando, USA, 2011.4.2-6.
2. Tanese K, Grimm EA, Ekmekcioglu S  
Tumor derived nitric oxide suppresses the expression of CXCL10 and leads to the poor outcome of Stage III malignant melanoma  
The 74th Annual Meeting of Society for investigative dermatology, Phoenix, USA, 2011.5.4-7.

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

分担研究課題： 臨床治験 抗体療法モニタリング

研究分担者 石田高司 名古屋市立大学 准教授

研究要旨

- ・ ATL患者の解析で、Mogamulizumabが強力なactivate Treg (CD4+CD45RA-FOXP3++細胞)除去作用を有することを明らかにした。
- ・ Mogamulizumab投与によって、HTLV-1 Tax に対する免疫応答が増強することを明らかにした。
- ・ Activate Tregの減少は重症の皮疹など免疫関連有害事象の発症を規定する機序の一つであることを明らかにした。免疫関連有害事象の発症を規定する宿主の遺伝学的因子について現在解析中である。

A. 研究目的

本研究全体の目的は、日本発の抗体薬 Mogamulizumab を用いて、Treg 除去による抗腫瘍免疫応答の増強、という新たな概念の治療法を創出し、標準治療抵抗性の進行・再発固形がん患者に有効な治療法を提供することである。

Mogamulizumab は 2012 年 5 月末から再発難治性の成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATL)を適応症として発売開始された。研究分担者は ATL での mogamulizumab 投与例における免疫応答の変化を詳細に検討し、固形がんに対する最適な使用方法確立に寄与するデータ取得を目指した。

B. 研究方法

ATL 患者 15 名で、Mogamulizumab 投与前後で下記の項目を解析した。

- ・ HTLV-1 特異的液性免疫反応 (抗 HTLV-1 特異抗体を測定)
- ・ HTLV-1 Tax 特異的細胞性免疫 (Tax 特異的 tetramer で解析)

- ・ 血液中の B、T、NK 細胞の比率
- ・ がん・精巢抗原(NY-ESO-1, XAGE-1b)に対する細胞性免疫
- ・ がん・精巢抗原(NY-ESO-1, XAGE-1b)に対する液性免疫(NY-ESO-1, XAGE-1b に対する特異抗体を検出する特異度、感度ともに高い ELISA system を新たに構築)
- ・ サイトメガロウイルスに対する免疫 (血漿中のサイトメガロウイルス量、サイトメガロウイルス特異的 CTL 反応、サイトメガロウイルスに対する抗体反応)
- ・ 血液中の active Treg (CD4+CD45RA-FOXP3++細胞)naïve Treg (CD4+CD45RA+FOXP3+細胞)の存在比率。

C. 研究結果/ D. 考察

Mogamulizumab 投与によって、Active Treg (CD4+CD45RA-FOXP3++細胞)は例外なく、著しく減少した。このことは Active Treg 細胞に CCR4 が強発現している事実と合致する。