

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25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」の研究

総括研究課題：「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 准教授

**研究要旨**

ATLに対するがん・精巢抗原を標的とした新規治療法の確立、特にCCR4抗体(モガムリズマブ)治療との併用を見据え、CCR4抗体治療中のATL患者におけるがん・精巢抗原、HTLV-1関連抗原に対する免疫応答を解析した。モガムリズマブの治療を受けたATL患者では、effector Tregの存在比率は著しく低下し、HTLV-1 Taxに対する特異的CTLは増加する傾向を認めた。一方、NY-ESO-1に対する液性、細胞性免疫応答については症例毎の違いが大きく、動態の変化様式を結論するには至っていない。しかしながらCCR4抗体治療によって、細胞性、液性免疫ともに増強し、良好な臨床反応を得ている症例が存在する。このことは、effector Tregが除去されることにより、NY-ESO-1に対する免疫応答が増強される可能性を示している。HTLV-1無症候性キャリアの段階で、HTLV-1感染細胞はがん・精巢抗原の発現を獲得していることも併せ、がん・精巢抗原はATLの治療標的、HTLV-1キャリアのATL発症予防確立の標的分子として有用であることが示唆された。

**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、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。

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 モガムリズマブ)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治療法の確立

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

v). 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

v). HTLV-1無症候性キャリアの段階で、HTLV-1感染細胞はがん・精巢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。

事を明らかにした。

今年度はATLに対するがん・精巢抗原を標的とした新規治療法の確立、特にCCR4抗体治療との併用を見据え、CCR4抗体治療中のATL患者におけるがん・精巢抗原、HTLV-1関連抗原に対する免疫応答を解析した。

## B. 研究方法

モガムリズマブ治療中の ATL 患者において、effector Treg (CD45RA<sup>lo</sup>FOXP3<sup>hi</sup>)の頻度、HTLV-1 Tax、NY-ESO-1 に対する特異的細胞性免疫応答、液性免疫応答を解析した。モガムリズマブ治療中の ATL 患者の免疫応答を解析するにあたり、多施設共同前方視的観察臨床研究“ATL に対するモガムリズマブ治療中の免疫モニタリング”を実施した。本試験は名古屋市立大学病院医薬品等臨床試験審査委員会の承認を得た。精巢抗原、HTLV-1 関連抗原治療標的としての可能性は、ATL 患者由来の腫瘍細胞で ATL マウス (NOG)を作成し、さらに同一の患者から 抗原特異的 CTL を誘導し、治療実験を実施することにより評価した。

### (倫理面への配慮)

患者由来の腫瘍細胞を用いたヒト化リンパ腫マウスを用いた併用実験については、実施するにあたり、それぞれ下記の委員会の承認を得ている。名古屋市立大学大学院医学研究科ヒト遺伝子倫理審査委員会、名古屋市立大学医学部遺伝子組み換え実験安全委員会、名古屋市立大学大学院医学研究科動物実験委員会。

## C. 研究結果

ヒトでは FOXP3 分子発現の Treg 特異性が低い、FOXP3 の発現レベルと CD45RA により FOXP3+CD4+細胞を 3 つに分類することで、より厳密に Treg を定義することが可能である。すなわち、naive Treg (CD45RA<sup>hi</sup>FOXP3<sup>lo</sup>)、effector Treg (CD45RA<sup>lo</sup>FOXP3<sup>hi</sup>)、non-Treg (CD45RA<sup>lo</sup>FOXP3<sup>lo</sup>)に分類され、naive Treg および effector Treg は免疫抑制活性を有するが、non-Treg は抑制活性を有しない。また、naive Treg より effector Treg の方が強い抑制活性を有する。CCR4 の発現は naive Treg では認めず、effector Treg が強い。よって、CCR4 抗体で標的となる Treg は、理論上 effector Treg であるが、実際にモガムリズマブの治療を受けた ATL 患者では、effector Treg の存在比率は著しく低下し、HTLV-1 Tax に対する特異的 CTL は増加する傾向を認めた。また、effector Treg が低下した状態において HTLV-1 Tax 特異的 CTL の誘導効率は著しく向上した。このことは、モガムリズマブ治療によって effector Treg が除去されるこ

とにより、HTLV-1 Tax に対する免疫応答が増強することを意味している。

NY-ESO-1 に対する免疫応答は、ウイルス抗原である HTLV-1 Tax に対する免疫応答に比較し、その程度が軽度であり、さらに症例間の変化が大きく、CCR4 抗体治療による、その動態の変化様式を結論するには至っていない。さらに、HTLV-1 Tax に対する液性、細胞性免疫反応の動態との相関を解析したが、統計学的に有意な相関を見出すに至っていない。しかしながら CCR4 抗体治療によって、細胞性、液性免疫ともに増強し、良好な臨床反応を得ている症例が存在している。このことは、effector Treg が除去されることにより、NY-ESO-1 に対する免疫応答も、HTLV-1 Tax に対する免疫応答と同様、増強される可能性を示している。

また、ATL 患者より得た ATL 細胞を用いて ATL モデルマウスを樹立、同一患者から HTLV-1 Tax 特異的 CD8 陽性 T 細胞を増幅し、養子免疫治療実験を行った。結果、治療群では各臓器への ATL 細胞の浸潤が抑制され、生存期間は有意に延長した。これらの結果は、ATL 治療の標的分子としての、HTLV-1 Tax の妥当性を示すものである。NY-ESO-1 についても同様の実験を試みたが、NY-ESO-1 特異的 CD8 陽性 T 細胞を養子免疫治療実験が可能なまでに増幅することが不可能であった。これは内因性抗原である NY-ESO-1 と外来ウイルス由来抗原である HTLV-1 Tax の抗原性の違いに起因するものと考えられた。

昨年度に引き続き、HTLV-1 無症候性キャリアにおける、NY-ESO-1 の発現および、免疫応答の有無、強弱の解析を、症例数を増やして実施した。結果 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データが得られたが、統計学的有意差を示すものではなかった。NY-ESO-1 で得られた結果は HTLV-1 Tax においても同様であった。これらのことは HTLV-1 無症候性キャリアのウイルス量は、HTLV-1 Tax をはじめとするウイルス関連抗原に加え NY-ESO-1 などのがん精巢抗原、等複数の抗原に対する免疫応答の総和によって規定され、特定の抗原 1 つないしは 2 つで説明可能なものではない、故と考えられた。

一般的に、NY-ESO-1 をはじめとする、がん・精巢抗原の、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 ATL に

おいては、NY-ESO-1 の発現は生存に有意な影響を及ぼさなかった。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。

## D. 健康危険情報

該当なし

## E. 研究発表

### 1. 論文発表 (2013 以降) 英文

1. 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; 104:647-50. (corresponding author)
2. Ogura M\*, Ishida T\*, Hatake K, Taniwaki M, Ando K, Tobinai K, Fujimoto K, Yamamoto K, Miyamoto T, Uike N, Tanimoto M, Tsukasaki K, Ishizawa K, Suzumiya J, Inagaki H, Tamura K, Akinaga S, Tomonaga M, Ueda R. Multicenter phase II study of mogamulizumab (KW-0761), a defucosylated anti-CCR4 antibody, in patients with relapsed peripheral T-cell lymphoma and cutaneous T-cell lymphoma. *J Clin Oncol.* 2014 Apr 10;32(11):1157-63. (\*equally contributed)
3. Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Masaki Ri, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. HTLV-1 bZIP factor specific CD4 T cell responses in ATL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol.* 2014 Feb 1;192:940-7. (corresponding author)
4. Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Miyazaki Y, Hidaka M, Uike N, Miyamoto T, Tsudo M, Sakamaki H, Morishima Y, Suzuki R, Utsunomiya A. Impact of GVHD on allogeneic hematopoietic cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma focusing on preconditioning regimens: nationwide retrospective study *Biology of Blood and Marrow Transplantation.* *Biol Blood Marrow Transplant.* . 2013;19:1731-9. (corresponding author)
5. 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;97:540-3.
6. Masaki A, Ishida T, Suzuki S, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Autologous Tax-specific CTL therapy in a primary ATL cell-bearing NOD/Shi-scid, IL-2Ry<sup>null</sup> mouse model. *J Immunol.* 2013;191(1):135-44.. (corresponding author)
7. 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)
8. Inagaki A, Tajima E, Uranishi M, Totani H, Asao Y, Ogura H, Masaki A, Yoshida T, Mori F, Ito A, Yano H, Ri M, Kayukawa S, Kataoka T, Kusumoto S, Ishida T, Hayami Y, Hanamura I, Komatsu H, Inagaki H, Matsuda Y, Ueda R, Iida S. Global real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction detecting proto-oncogenes associated with 14q32 chromosomal translocation as a valuable marker for predicting survival in multiple myeloma. *Leuk Res.* 2013;37:1648-55.
9. 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.* 2014 Mar;44(3):354-7.
10. Mori F, Ishida T, Ito A, Sato F, Masaki A, Narita T, Suzuki S, Yamada T, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Hishizawa M,

- Imada K, Takaori-Kondo A, Niimi A, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Antitumor effects of bevacizumab in a microenvironment-dependent human adult T-cell leukemia/lymphoma mouse model. *Eur J Haematol*. 2014 Mar;92(3):219-28. (corresponding author)
11. Miyazaki Y, Fujiwara H, Asai H, Ochi F, Ochi T, Azuma T, Ishida T, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Shiku H, Yasukawa M. Development of a novel redirected T cell-based adoptive immunotherapy targeting human telomerase reverse transcriptase for adult T-cell leukemia. *Blood*. 2013 Jun 13;121(24):4894-901.
  12. 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 Jun;13(3):273-80.
  13. Xia H, Yamada S, Aoyama M, Sato F, Masaki A, Ge Y, Ri M, Ishida T, Ueda R, Utsunomiya A, Asai K, Inagaki H. Prognostic impact of miR-145 down-regulation in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Human Pathol*, in press
- Hiroshi Inagaki, Kazuo Tamura, Shiro Akinaga, Masao Tomonaga. The Efficacy and Safety of Mogamulizumab (KW-0761) in Multicenter Phase II Study for Patients with Relapsed Peripheral or Cutaneous T-Cell Lymphoma (oral) (abs 041) 12th International Conference on Malignant Lymphoma. 19-22 June 2013. Lugano, Switzerland.
3. Shigeki Takemoto, Takashi Ishida, Tatsuro Jo, Kimiharu Uozumi, Hitoshi Suzushima, Kazuhito Yamamoto, Naokuni Uike, Yoshio Saburi, Kisato Nosaka, Atae Utsunomiya, Kensei Tobinai, Hiroshi Fujiwara, Kenji Ishitsuka, Shinichiro Yoshida, Naoya Taira, Yukiyo Moriuchi, Kazunori Imada, Toshihiro Miyamoto, Kunihiro Tsukasaki, Masao Tomonaga, Ryuzo Ueda. Combination of Mogamulizumab (KW-0761) with VCAP-AMP-VECP (mLSG15) is Well Tolerated and Effective as an Initial Therapy for Aggressive Adult T-Cell Leukaemia-Lymphoma (ATL) (oral) (abs 154) 12th International Conference on Malignant Lymphoma. 19-22 June 2013. Lugano, Switzerland.

## 2 . 学会発表

### 海外 (2013 以降)

1. Tatsuro Jo, Takashi Ishida, Shigeki Takemoto, Hitoshi Suzushima, Kimiharu Uozumi, Kazuhito Yamamoto, Naokuni Uike, Yoshio Saburi, Kisato Nosaka, Atae Utsunomiya, Kensei Tobinai, Hiroshi Fujiwara, Kenji Ishitsuka, Shinichiro Yoshida, Naoya Taira, Yukiyo Moriuchi, Kazunori Imada, Toshihiro Miyamoto, Masao Tomonaga, Ryuzo Ueda. Randomized phase II study of mogamulizumab (KW-0761) plus VCAP-AMP-VECP (mLSG15) versus mLSG15 alone for newly diagnosed aggressive adult T-cell leukemia-lymphoma (ATL). 2013 ASCO Annual Meeting , Oral Abstract Session, *J Clin Oncol* 31, 2013 (suppl; abstr 8506)
2. Ryuzo Ueda, Michinori Ogura, Takashi Ishida, Kiyohiko Hatake, Masafumi Taniwaki, Kiyohiko Ando, Kensei Tobinai, Katsuya Fujimoto, Kazuhito Yamamoto, Toshihiro Miyamoto, Naokuni Uike, Mitsune Tanimoto, Kunihiro Tsukasaki, Kenichi Ishizawa, Junji Suzumiya,

## H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

### 1 . 特許取得

該当なし

### 2 . 実用新案登録

該当なし

### 3 . その他

該当なし