

- (104th Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR))、2013年4月6日
- (14) Ohue Y, Kurose K, Eikawa S, Mizote Y, Matsumoto H, Isobe M, Uenaka A, Fukuda M, Nakayama E, Oka M、Immune response to XAGE-1b (GAGED2a) in NSCLC patients and its clinical relevance. (ポスター)、Washington, DC, USA (104th Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR))、2013年4月6日
- (15) 黒瀬浩史, 松本博文, 大植祥弘, 阿部公亮, 榮川伸吾, 溝手 雄, 磯辺みどり, 上中明子, 永安 武, 中山睿一, 岡 三喜男、非小細胞肺癌患者における癌精巢抗原 XAGE-1d に対する免疫応答 (口頭)、東京 (第 53 回日本呼吸器学会学術講演会)、2013年4月19日
- (16) 大植祥弘, 橘高 誠, 黒瀬浩史, 池田征樹, 阿部公亮, 清水大樹, 毛利圭二, 加藤茂樹, 尾長谷 靖, 小橋吉博, 福田 実, 中山睿一, 岡 三喜男、がん精巢抗原 XAGE-1b を標的にしたがん免疫療法の開発 (ポスター)、東京 (第 53 回日本呼吸器学会学術講演会)、2013年4月19日
- (17) Isobe M, Eikawa S, Kakimi K, Wada H, Mizote Y, Ohue Y, Kurose K, Uenaka A, Oka M, Nakayama E、phase I study of vaccination with 20-mer NY-ESO-1f (NY-ESO-1 91-110) peptide. (口頭)、山口 (第 17 回日本がん免疫学会総会)、2013年7月3日
- (18) Kurose K, Eikawa S, Mizote Y, Ohue Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. (口頭)、山口 (第 17 回日本がん免疫学会総会)、2013年7月3日
- (19) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto Y, Isobe M, Uenaka A, Fukuda M, Oka M, Nakayama E、Immune response to XAGE-1b (GAGED2a) in NSCLC patients and its clinical relevance. (口頭)、山口 (第 17 回日本がん免疫学会総会)、2013年7月3日
- (20) 溝手 雄, 若松一雅, 伊藤祥輔, 上中明子, 黒瀬浩史, 大植祥弘, 西尾祐美, 岡 三喜男, 神保孝一, 中山睿一、新規製剤 N-propionyl cysteaminyphenol-maleimid-dextran (NP-CMD) による免疫応答賦活効果 (口頭)、山口 (第 17 回日本がん免疫学会総会)、2013年7月3日
- (21) Kurose K, Ohue Y, Mizote Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. (ポスター)、仙台 (第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会)、2013年8月29日
- (22) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Nakayama E, Oka M、Immune response to XAGE-1b (GAGED2a) in NSCLC patients and its clinical relevance. (口頭)、仙台 (第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会)、2013年8月29日
- (23) Kurose K, Ohue Y, Mizote Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. (ポスター)、New York, USA (21st Annual Cancer Research Institute International Cancer Immunotherapy Symposium)、2013年9月30日
- (24) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Isobe M, Uenaka A, Fukuda M, Oka M, Nakayama E、Prolonged overall survival in XAGE-1b(GAGED2a) antibody positive NSCLC patients. (ポスター)、New York, USA (21st Annual Cancer Research Institute International Cancer Immunotherapy Symposium)、2013年9月30日
- (25) 西塔拓郎, 和田 尚, 磯辺みどり, 垣見和宏, 榮川伸吾, 大植祥弘, 西川博嘉, 岡 三喜男, 森 正樹, 土岐祐一郎, 中山睿一、

NY-ESO-1 重複長ペプチドを用いたがんワクチン第 I 相臨床試験 (口頭)、横浜 (第 72 回日本癌学会学術総会)、2013 年 10 月 4 日

(26) 柴川伸吾、垣見和宏、磯辺みどり、和田 尚、上中明子、葛島清隆、西川博嘉、鵜殿平一郎、岡 三喜男、中山睿一、

NY-ESO-1(NY-ESO-1 91-110)ペプチドワクチンによる抗体 CD4・CD8 T 細胞免疫応答の誘導 (口頭)、横浜 (第 72 回日本癌学会学術総会)、2013 年 10 月 4 日

(27) 溝手 雄、若松一雅、伊藤祥輔、上中明子、黒瀬浩史、大植祥弘、西尾祐美、岡 三喜男、神保孝一、中山睿一、新規製剤 NPCMD による TLR4、NLRP3 の活性化と T 細胞免疫応答の賦活化 (ポスター)、横浜 (第 72 回日本癌学会学術総会)、2013 年 10 月 4 日

(28) 鈴木 進、石田高司、森 芙美子、伊藤 旭、楠本 茂、小松弘和、吉川和宏、中山睿一、飯田真介、新実彰男、上田龍三、ホジキンリンパ腫における NY-ESO-1 に対する液性および細胞性免疫応答 (ポスター)、横浜 (第 72 回日本癌学会学術総会)、2013 年 10 月 5 日

(29) 黒瀬浩史、大植祥弘、堅田洋佑、阿部公亮、磯辺みどり、松本博文、上中明子、中山睿一、

岡 三喜男、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. (ポスター)、東京 (第 54 回日本肺癌学会総会)、2013 年 11 月 21 日

(30) 大植祥弘、黒瀬浩史、松本博文、阿部公亮、堅田洋佑、磯辺みどり、上中明子、福田実、中山睿一、岡 三喜男、Immune response to XAGE-1b (GAGED2a) in NSCLC patients and its clinical relevance. (口頭)、東京 (第 54 回日本肺癌学会総会)、2013 年 11 月 21 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

XAGE-1b 特異的免疫反応を誘導するペプチドおよびその利用 (国際特許出願中: OP00570/PCT/US)

2. 実用新案登録

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（がん関係研究分野））
分担研究報告書（平成 25 年度）

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： 臨床治験管理、第 I a/ I b相治験

研究分担者 土井俊彦 国立がん研究センター 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 26 年 3 月 31 日現在、全施設で第 Ia 相部 9 例、第 Ib 相部 12 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26年3月31日現在、全施設で第Ia相部9例、第Ib相部12例の新規症例登録が登録された。

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 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 I a 相部 9 例(最大 18 例)、第 I b 相部 40 例である。平成 26 年 3 月 31 日現在、全施設で第 I a 相部 9 例、第 I b 相部 12 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。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 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: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、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相医師主導治験を実施した。第Ia相においては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った。当院では5名の患者から同意を取得し、肺癌患者2名に対して0.1mg/kgおよび0.5mg/kg群に登録して治験治療を実施した。いずれの患者においても用量制限毒性(DLT)は認められず、治療開始後にTreg減少効果を認めた。第Ia相には、全施設で計10名が登録されたが、DLTは認められなかった。第Ia相の結果を受けて、平成25年10月21日から開始された第Ib相では、安全性とTreg除去効果を主要評価項目として、0.1mg/kgと1.0mg/kgのランダム化試験が行われることとなった。当院では平成25年度に、悪性黒色腫および食道がん患者各1名に対して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

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

3) 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 $1,500/\mu\text{L}$ 以上、ヘモグロビン値 8.0g/dL 以上、血小板数 $75,000/\mu\text{L}$ 以上、血清総ビリルビン値 2.0mg/dL 以下、AST/ALT値施設上限値 $\times 2.5$ 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相当と考えられる。

治験デザイン：

第 I a 相部は、各コホート 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 I b 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 I a 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 I a 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 I b 相部】第 I a 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 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 I a 相部・第 I b 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ルチゾン 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 I a 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 I a 相部は各群 3 例（最大 6 例）で計 3～18 例、第 I b 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

倫理面への配慮：

本治験は、「ヘルシンキ宣言」ならびに、且つ治験実施計画書、薬事法第14条第3項及び第80条の2に規定する基準及び「医薬品の臨床試験実施の基準に関する省令(GCP)」(厚生省令第28号)に則り実施する。本治験の実施に先立ち、各実施医療機関の治験審査委員会において、治験実施計画書、被験者の同意を得

るのに使用される方法、治験薬概要書及びその他の必要な文書を審議し、本治験が倫理的及び科学的に妥当であるかどうか、その他、本治験が実施医療機関において行うのに適当であるかどうかを審査し承認を得た上で患者登録を開始する。治験責任医師等は、被験者に治験について十分に説明し、文書による同意を得る。被験者が熟読し保管できるように、治験の詳細を示した説明文書を被験者に渡し、被験者に情報を十分に考慮する時間を与え、疑問点を確認した後で、同意文書に署名及び日付を記入していただく。

C. 研究結果

1) 第 Ia 相への患者登録とプロトコール治療の実施

名古屋市立大学病院においては、KW-0761 の臨床第 Ia 相への参加同意を 5 名の患者から得た。病理検体の免疫染色で CCR4 抗原陰性を確認した肺がん患者 2 名、卵巣がん患者 2 名、悪性黒色腫患者 1 名であり、肺がん患者 2 名はそれぞれ KW-0761 0.1mg/kg 群と 0.5mg/kg へ登録され、プロトコール治療を実施した。卵巣がん患者 2 名は、第 Ia 相において登録待機中に原疾患の増悪のため不適格となった。悪性黒色腫患者 1 名は、患者希望で登録を延期したが、その後の増悪のため不適格となった。

プロトコール治療を受けた肺がん患者 2 名は、扁平上皮癌の病期 IIIB および腺がんの病期 IIIA であり、それぞれ 0.1mg/kg の KW-0761 を週 1 回で 5 回投与、0.5mg/kg の KW-0761 を週 1 回で計 7 回投与した。0.1mg/kg 群に登録された患者では、4 回目の投与後から皮疹が出現、5 回目の投与後にグレード 2 の疼痛を伴い拡大傾向のある多型滲出性紅斑を認めたため抗ヒスタミン剤内服とステロイド軟膏を使用し改善傾向にあったが、休薬中に原疾患の増悪を認めたため患者希望で治験治療は中止となった。0.5mg/kg に登録された患者は、2 回目の投与後に原疾患増悪による喘鳴とグレード 2 の呼吸難が出現するも対症療法によって継続投与が可能であったが、原疾患増悪により治験治療は中止に至った。何れの患者においても前投薬により輸注反応は認めず、投与開始後 28 日以内での

用量制限毒性は認めなかった。またベースライン採血に比して、KW-0761 投与後 29 日目の CD4 陽性 T リンパ球分画中の制御性 T 細胞分画は減少していた。ともに NY-ESO-1 および XAGE-1b 抗原は陰性であり、それらの癌精巢抗原に対する免疫反応増強効果も認めなかった。

全施設においては、0.1mg/kg に 3 名、0.5mg/kg に 3 名、1.0mg/kg に 4 名が登録され何れの投与量においても用量制限毒性は観察されなかった。投与開始後 12 週での効果判定が可能であった 6 名においては 4 名で RECIST による安定 (SD) の最良効果が得られ、少なくとも 2 名において NY-ESO-1 または XAGE-1b 抗原に対する抗原特異的抗体免疫反応の上昇を確認した。皮疹はグレード 2 を 5 名 (50%) で認め、ステロイド剤の全身投与が 4 名で実施された。

2) 第 Ib 相への患者登録とプロトコール治療の実施

第 Ia 相における用量制限毒性の発現がなかったことを含む安全性についての効果・安全性評価委員会での承認を経て、平成 25 年 10 月 21 日から第 Ib 相での患者登録が開始された。KW-0761 の投与量は、癌種を割り付け因子として 0.1mg/kg と 1.0mg/kg のランダム化が開始された。名古屋市立大学病院では平成 25 年度に悪性黒色腫患者 3 名と食道がん患者 1 名から参加同意を得て、各々の患者各 1 名にプロトコール治療が実施された。悪性黒色腫患者は、グレード 2 の皮疹が出現するも対症療法でコントロール可能で計 8 回の投与を実施して治療効果判定を待っているところである。食道がん患者は、計 3 回の投与後に原疾患増悪による食思不振を発症し、その後担当医判断によりプロトコール治療中止に至った。平成 25 年度内に第 Ib 相では計 14 名の患者にプロトコール治療が開始されている。

3) プロトコール改訂

平成 25 年度には 3 回のプロトコール改定を実施した。第 1 版から 2 版への改訂は同年 5 月に実施し、HBs 抗原陰性であっても HBc 抗体または HBs 抗体陽性の被験者の場合は HBV-DNA が検出されない場合に登録が可能であること等の追記を行った。第 3 版への改定は同年 8 月に実施し、主な変更点として被験者の除外基準に、

「腫瘍に対する免疫療法（腫瘍ワクチン、サイトカイン等）が治療開始前 12 週間以内に行われていたこと」を追記した。第 3 回改定は平成 26 年 1 月に実施し、第 4 版への主な変更点として被験者の除外基準として「サイトカイン療法については治療開始前 4 週間以内に前治療として施行されていたこと」に変更したことである。これは、悪性黒色腫に対するインターフェロンβ製剤投与患者が、本治験に参加希望されても 12 週間待たなければならない不都合が生じたためである。

4) その他

治験患者登録と同時に開始した附随研究「抗 CCR4 抗体 (Mogamulizumab) 療法を受けた進行・再発がん患者における臨床効果と免疫関連有害事象を予測するゲノムバイオマーカーの探索的検討」には、第 Ia 相において遺伝子倫理審査委員会承認が間に合わなかった 1 名を除いた 9 名から参加同意をいただき検体提出をいただいた。第 Ib 相においても既に 14 名から同意をいただき末梢血単核球 (PBMC) と血清の保存を行っている。第 Ia 相で検体提出をいただいた 9 名の PBMC からは既に DNA を抽出し Genome-wide association study (GWAS) 実施の準備を進めている。

D. 考察

がんの発生や制御には、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 の働きを負に制御する CTLA4 分子や PD-1/PD-L1 分子を標的とした抗体療法が腫瘍の縮小効果を有することが示され、既に臨床応用が始まっている。一方、CTL を含む免疫系を負に制御している制御性 T 細胞 (regulatory T-cell: Treg) が、もう一つの治療標的として注目されている。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。がん免疫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。

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 抗体である。Mogamulizumab 療法を受けた成人 T 細胞性白血病・リンパ腫 (ATLL) 患者の中で、顕著な抗腫瘍効果が認められた患者では、Treg の長期間の枯渇とともに、時に抗 Tax あるいは抗 NY-ESO-1 特異的な CD8 陽性 CTL が増加を示すことが観察されている。同様の Treg 減少効果と抗腫瘍免疫活性の増強は、CTLA4 分子の中和抗体である Ipilimumab を投与された悪性黒色腫患者においても観察されている。このように、Treg の減少により、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。Mogamulizumab による有害事象で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するように設定した。

第 Ia 相の患者登録は 2013 年 2 月に開始され、順調に進捗した。0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kg にそれぞれ 3 名、3 名、4 名が登録され DLT は観察されなかった。また本治験治療における輸注反応は、ATLL 患者への Mogamulizumab 投与時の輸注反応に比較して概して軽度であった。しかし、皮疹は 11 名中 7 名に出現し、グレード 2 の患者が 5 名であった。グレード 3 以上の自己免疫性有害事象は認められず、いずれも対症療法で対応可能であったが、第 Ia 相での登録例数が少ないため引き続き十分な注意を行うことが班会議でも確認された。

第 Ib 相の患者登録は、2013 年 10 月に開始となった。予定通り、0.1mg/kg と 1.0mg/kg の 2 群にラン

ダム化を行い、安全性とTreg減少効果をエンドポイントとして第II相試験における推奨用量と対象がん種を決定することとした。2014年3月末までに全施設で既に14名がランダム化され治験治療を開始している。当院においても既に2名の登録が行われ、治験治療を開始した。第Ib相における予定患者登録数は40名であり、残る26名の登録を2015年6月までに完遂できるように各施設および施設内の連携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相臨床治験を順調に実施することが出来た。予定患者登録期間内に患者登録を完遂し、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目的である。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、特にTreg減少に伴う重篤な自己免疫性有害事象の発生に十分に注意しながら進めることが重要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

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**: 647-650.
- (2) 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-2 γ ^{null} mouse model. *J Immunol* 2013; **191**:

135-144.

- (3) Suzuki T, Kusumoto S, Iida S, Tada T, Mori F. Amelanotic malignant melanoma of unknown primary origin metastasizing to the bone marrow: case report and review of the literature. *Int Med*. 2013; **53**: 325-328.
- (4) 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. Anti-tumor effect of bevacizumab in a microenvironment-dependent human adult T-cell leukemia/lymphoma mouse model. *Eur J Hematol* 2014; **92**: 219-228.
- (5) Narita T, Ishida T, Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, Iida S, Ueda R. HTLV-1 bZIP factor specific T cell response in ATL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *J Immunol* 2014; **192**: 940-947.
- (6) Zwick C, Held G, Auth M, Bernal-Mizrachi L, Roback JD, Sunay S, Iida S, Kuroda Y, Sakai A, Ziepert M, Ueda R, Pfreundschuh M, Preuss K-D. Over one third of African-American MGUS and multiple myeloma patients are carriers of hyperphosphorylated paratarg-7, an autosomal-dominantly inherited risk factor for MGUS/MM. *Int J Cancer* 2014; Jan 20 Epub ahead of print.

和文

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

該当なし

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Ia/Ib相臨床治験の実施及び管理

研究分担者 土岐祐一郎・大阪大学消化器外科・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、制御性 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 相臨床治験を食道・胃・婦人科・皮膚科癌を対象に実施している。また、抗原特異的免疫療法を並行して行うことにより、Mogamulizumab との将来的な併用への準備をしている。

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、制御性 T 細胞除去効果及び臨床効果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 にて各群約 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。

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ている。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、アジュバントの開発と抗原蛋白の投与形態の工夫をしている。

（倫理面への配慮）大学病院の臨床試験部、臨床治験部とともに、適応症例に対する説明や登録手法を慎重に検討し、同意取得・記録保存・データ管理などに際しては対象患者への倫理

的配慮を十分に行っている。また参加症例の安全性確保のため、外来化学療法部と連携し、十分な観察を行っている。

C. 研究結果

①症例登録；3例の食道癌症例（OUH-03；平成25年7月に1例、OUH-05、-06；平成26年3月に2例それぞれ投与開始）、1例の卵巣癌症例（OUH-04；平成26年1月投与開始）が参加した。OUH-03は3回投与にて原疾患の増悪により離脱した。OUH-04は8回の投与を完遂し、評価を行う予定である。OUH-05、-06は現在投与を行っている。試験薬に関連した重篤な副作用は、観察していない。

②NY-ESO-1がんワクチン臨床試験；NY-ESO-1抗原を用いたがんワクチン臨床試験を2004年より行っている。総蛋白を用いたワクチンでは2009年よりコレステリルプルラン（CHP）をドラッグデリバリーシステムとして用いた第一相臨床試験を行った。蛋白量として100 μ g群13例、200 μ g群12例が参加した。重篤な副作用は見られず安全な試験であった。両群を比較すると、200 μ g群においてNY-ESO-1特異的免疫反応が有意に良好に誘導され、また生存率においても有意に良好な成績が認められた。これによりNY-ESO-1蛋白ワクチンにおいて容量依存的に臨床効果が得られることを示した。一方、NY-ESO-1分子の高免疫原性部位を含む重複する長鎖ペプチドを用いたがんワクチン臨床試験を2009年より開始した。総蛋白は作製に混在物の存在と高額のコストが掛かる事に比して、長鎖ペプチドは安価で混在物も少なく作製でき、抗原提示細胞に効果的に取り込まれることなどから有効な抗原の形態としてワクチンに用いられている。この臨床試験では、重篤な有害事象は観察されず、2人のSD症例を見た。また、NY-ESO-1特異的免疫反応は効果的にほぼ全例において観察することができ、この長鎖ペプチドは有効なワクチン抗原の形態であることが証明された。

D. 考察

①症例選択・受け入れ・実施・他科協力などの方法・組織が確立・構築され、症例登録や試験薬の投与、症例の安全性の確保、記録などが十分に可能である。

②進行癌症例に対するNY-ESO-1がんワクチンにおいて、NY-ESO-1蛋白ワクチンがCHPとの併用で、臨床的にかつ免疫誘導に関して有効かつ効果的であることが分かった。また、蛋白に代わり重複

する長鎖ペプチド群を用いた場合においても、有効ながんワクチンとなりうる可能性を示した。

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を実施中である。NY-ESO-1抗原を用いたがんワクチン臨床試験を種々遂行した。

G. 研究発表

1. 論文発表 英文

- (1) Kageyama S, Wada H, Muro K, Niwa Y, Ueda S, Miyata H, Takiguchi S, Sugino SH, Miyahara Y, Ikeda H, Imai N, Sato E, Yamada T, Osako M, Ohnishi M, Harada N, Hishida T, Doki Y, Shiku H. J Transl Med. 2013 11:246
Dose-dependent effects of NY-ESO-1 protein vaccine complexed with cholesteryl pullulan (CHP-NY-ESO-1) on immune responses and survival benefits of esophageal cancer patients.
- (2) Wada H, Isobe M, Kakimi K, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Udono H, Seto Y, Yamada K, Nishikawa H, Pan L, Venhaus R, Oka M, Doki Y, Nakayama E. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and montanide ISA-51 in patients with cancers expressing the NY-ESO-1 antigen. J Immunother. 2014;37(2):84-92.
- (3) Nishikawa S., Konno M., Hamabe A., Hasegawa S., Ogawa H., Kano Y., Fukusumi T., Ohta K., Noguchi Y, Ozaki M., Kudo T., Sakai D., Haraguchi N., Satoh T., Doki Y, Mori M. and Ishii. Aldehyde dehydrogenase high gastric cancer stem cells are resistant to chemotherapy. Int J Oncol 2014; 42: 1437-1442
- (4) Ogino T., Nishimura J., Barman S., Kayama H., Uematsu S., Okuzaki D.,

- Osawa H., Haraguchi N., Uemura M., Hata T., Takemasa I., Mizushima T., Yamamoto H., Takeda K., Doki Y., Mori M. Increased Th17-inducing activity of CD14+ CD163 low myeloid cells in intestinal lamina propria of patients with Crohn's disease. *Gastroenterol* 2014;145(6):1380-1391
- (5) Takahashi T. Serada S., Ako M., Fujimoto M., Miyazaki Y., Nakatsuka R., Ikezoe T., Yokoyama A., Taguchi T., Shimada K., Kurokawa Y., Yamasaki M., Miyata H., Nakajima K., Takiguchi S., Mori M., Doki Y., Naka T., Nishida T. New findings of kinase switching in gastrointestinal stromal tumor under imatinib using phosphoproteomic analysis. *Int J Cancer* 2013;133(11):2737-2743
- (6) Suzuki R., Yamamoto H., Ngan CY., Ohtsuka M., Kitani K., Uemura M., Nishimura J., Takemasa I., Mizushima T., Sekimoto M., Minamoto T., Doki Y., Mori M. Inhibition of angiotensin II attenuates lumen formation of tumour-associated vessels in vivo. *Int J Oncol* 2013;43(5):1447-1455
- (7) Nagano H., Tomimaru Y., Eguchi H., Hama N., Wada H., Kawamoto K., Kobayashi S., Mori M., Doki Y. MicroRNA-29a induces resistance to gemcitabine through the Wnt/ β -catenin signaling pathway in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol* 2013;43(4):1066-1072
- (8) Tsujinaka T. Yamamoto K., Fujita J., Endo S., Kawada J., Nakahira S., Shimokawa T., Kobayashi S., Yamasaki M., Akamaru Y., Miyamoto A., Mizushima T., Shimizu J., Umeshita K., Ito T., Doki Y., Mori M.; Clinical Study Group of Osaka University on Section of Risk Management. Subcuticular sutures versus staples for skin closure after open gastrointestinal surgery: a phase 3, multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2013;382(9898):1105-1112
- (9) Iwagami Y., Eguchi H., Nagano H., Akita H., Hama N., Wada H., Kawamoto K., Kobayashi S., Tomokuni A., Tomimaru Y., Mori M., Doki Y. miR-320c regulates gemcitabine-resistance in pancreatic cancer via SMARCC1. *Br J Cancer* 2013;109(2):502-511
- 和文
- (10) RECIST と irResponse Criteria 4) Mogamulizumab の効果判定 和田 尚、西塔拓郎、長瀬博次、土岐祐一郎 腫瘍内科 vol.12 No.4, 394-400 2013
- (11) XIV 特論 胃癌に対する免疫療法 和田 尚、土岐祐一郎 最新胃癌学 —基礎と臨床の最新研究動向— 日本臨床 72 巻増刊号1 p735-739
2. 学会発表
なし。
- H. 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Ia/Ib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Ia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、肺がん症例を中心に症例を登録している。平成26年5月14日の現在、第Ia相部で5例の患者に、第Ib相部で1例に治験薬の投与を完了して、その安全性を確認した。現在も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Ia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)を目的とする。

B. 研究方法

治験実施予定期間は平成25年2月～平成27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(診断は本邦で標準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、⑧Mogamulizumab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))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Ia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0.5 mg/kg 群を3例(最大6例)、0.5 mg/kg 群の忍容性が確認された場合は1.0 mg/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Ib相部】第Ia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1.0 mg/kg) のなかで高用量の1用量及び0.1 mg/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0.1 mg/kgのみであった場合は、第I b相部では、0.1 mg/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・程度と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。

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。

以上の治験および付随研究は、全て倫理面に配慮して、大学の倫理審査委員会で承認されている。

C. 研究結果

医師主導治験実施の院内体制整備の為、平成24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。さらに平成25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、平成25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。平成25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。平成25年2月26日、全国初の第一例目に治験薬の投与を行った。

その後、平成26年5月14日の現在、第I a相部の2例で0.1 mg/kg、1例で0.5 mg/kg、1例で1.0 mg/kgの用量で計5例の患者に治験薬を投与した。

第I a相部において、1例目は0.1 mg/kg の用量で治験薬の投与を行い、週に1回8週連続毎週投与で8回の治験薬を投与終了した後、6回の維持投与を行い中止となった。

2例目は0.1 mg/kg の用量で治験薬の投与を行い、週に1回8週連続毎週投与で8回の治験薬を投与終了した後、3回の維持投与を行い中止となった。

3例目は0.5 mg/kg の用量で治験薬の投与を行い、週に1回8週連続毎週投与で8回の治験薬を投与終了した後、3回の維持投与を行い中止となった。

4例目は1.0 mg/kg の用量で治験薬の投与を行い、週に1回8週連続毎週投与で7回の治験薬を投与終了し中止となった。

5例目は1.0 mg/kg の用量で治験薬の投与を行い、週に1回8週連続毎週投与で8回の治験薬を投与終了し中止となった。

全例で、DLTの発生はなく忍容性が確認された。現在は第I b相部に移行し、1例で治験薬の投与を終了している。

現在まで、当科の全患者において投与を完遂し、問題となる重篤な有害事象は認められなかった。今後、更なる症例登録を予定している。また、安全性、忍容性の確認を行うとともに、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。

D. 考察

平成24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、さらに治験が順調に進行中である。現在まで投与した肺がん患者においてMogamulizumab (抗CCR4抗体) の安全性を確認した。

今後、Ib相で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

平成26年5月14日の現在、第 I a相部で5例の患者に、第 I b相部で1例に対して治験薬の投与を完了し、現在まで投与した肺がん患者において Mogamulizumab (抗CCR4抗体) の安全性を確認した。今後も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。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- (1) Eikawa S, Kakimi K, Isobe M, Kazushima K, Luescher I, Ohue Y, Ikeuchi K, Uenaka A, Nishikawa H, Udono 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):345-54, 2013
 - (2) Pandey JP, Namboodiri AM, Ohue Y, Oka M, Nakayama E. Genetic variants of immunoglobulin κ and λ chains influence humoral immunity to the cancer-testis antigen XAGE-1b (GAGED2a) in patients with non-small cell lung cancer. *Clin Exp Immunol* 176(1):78-83, 2014
 - (3) Mizote Y, Wakamatsu K, Ito S, Uenaka A, Ohue Y, Kurose K, Isobe M, Ito A, Tamura Y, Honda H, Yamashita T, Nohara S, Oka M, Jimbow K, Nakayama E. TLR4 and NLRP3 inflammasome activation in monocytes by N-propionyl cysteaminyphenol-maleimid-dextran (NPCMD). *J Dermatol Sci* 73(3): 209-15, 2014
 - (4) Mizote, Y, Uenaka A, Isobe M, Wada H, Kakimi K, Saika T, Kita S, Koide Y, Oka M, Nakayama E. Production of NY-ESO-1 peptide /DRB1*08:03 tetramers and their use for ex vivo detection of CD4 T-cell responses in the vaccinated cancer patients. *Vaccine* 32(8): 957-64, 2014
- ### 2. 学会発表
- (5) 黒瀬浩史、大植祥弘、岡 三喜男 : 抗 CCR4 抗体と制御性 T 細胞、癌と化学療法 第 8 巻第 10 号 : 1150-1155、2013
 - (6) Kurose K, Eikawa S, Mizote Y, Ohue Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. 104th Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR), April 6-10, 2013, Washington DC, USA.
 - (7) Ohue Y, Kurose K, Eikawa S, Mizote Y, Matsumoto H, Isobe M, Uenaka A, Fukuda M, Nakayama E, Oka M. Immune response to XAGE-1b (GAGED2a) in NSCLC patients and its clinical relevance. 104th Annual Meeting of American Association of Cancer Research (AACR), April 6-10, 2013, Washington DC, USA.
 - (8) Kurose K, Ohue Y, Mizote Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. 21st Annual Cancer Research Institute International Cancer Immunotherapy Symposium, Sep 30-Oct 2, 2013, New York, USA.
 - (9) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Isobe M, Uenaka A, Fukuda M, Oka M, Nakayama E. Prolonged overall survival in XAGE-1b (GAGED2a) antibody positive NSCLC patients. 21st Annual Cancer Research Institute International Cancer Immunotherapy Symposium, Sep 30-Oct 2, 2013, New York, USA.
 - (10) 黒瀬浩史、大植祥弘、堅田洋佑、阿部公亮、磯辺みどり、松本博文、上中明子、中山睿一、岡 三喜男、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb、第 54 回日

本肺癌学会総会、平成 25 年 11 月 21-22
日、東京

- (11) 大植祥弘、黒瀬浩史、松本博文、阿部公
亮、堅田洋佑、磯辺みどり、上中明子、
中山睿一、岡 三喜男、Immune response
to XAGE-1b (GAGED2a) in NSCLC
patients and its clinical relevance、第 54 回
日本肺癌学会総会、平成 25 年 11 月 21-22
日、東京

H. 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とがん患者における抑制性細胞の解析

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

東京大学医学部附属病院呼吸器外科、胃食道外科、皮膚科の協力を得て、抗 CCR4 抗体療法第 Ib 相医師主導治験実施の体制を構築した。可能な限り腫瘍局所の免疫環境を解析できる症例を対象とすることを目的として、悪性胸膜中皮腫、胸水貯留肺癌、腹水貯留胃癌/食道癌、悪性黒色腫患者を対象とした。被治験者に限らずがん患者から末梢血及び胸水/腹水中の免疫抑制性の細胞を解析したところ、肺癌患者や食道癌患者の末梢血中で effector Treg が増加していた。卵巣癌患者の腹水中には Treg に加えて、PD-1/PD-L1 系を介した免疫抑制性の環境が確認された。抗 CCR4 抗体に加えて抗 PD-1/PD-L1 抗体の併用治療が効果的ではないかと期待される。

A. 研究目的

東京大学医学部附属病院において、固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ib 相医師主導治験を実施する。また、被治験者に限らずがん患者から末梢血及び胸水/腹水の提供を受けて、免疫抑制性の細胞を解析し、治験の対象疾患（癌種）選定の根拠と、効果判定につながる基礎的なデータを得る。

B. 研究方法

(1) 治験審査委員会：東大病院治験審査委員会において、平成 25 年 9 月 26 日に医師主導治験実施に関する承認を得て、平成 25 年 10 月 11 日に治験届を提出した。平成 25 年 11 月 13 日には、臨床試験支援センター、呼吸器外科、薬剤部などの関連部署と共に院内スタートアップミーティングを開催した。平成 26 年 1 月 23 日に、治験審査委員会において、治験に参加する診療科として、呼吸器外科に加えて胃食道外科と皮膚科を追加承認された。

(2) フローサイトメーターを用いた免疫抑制性細胞の解析：東大病院で免疫治療を受けた肺癌 11 例、胆管癌 14 例、膵臓癌 14 例、胃癌 24 例、食道癌 19 例、大腸癌 12 例、および健常者 8 例（合計 102 例）の末梢血から、比重遠心法（リンフォプレップ）で末梢血単核細胞 (PBMC) を分離し、フローサイトメーターを用いて抑制性 T 細胞 (Treg) の頻度を検討した。CD45RA と Foxp3 染色を併用して、naive Treg と effector Treg の頻度を比較した。

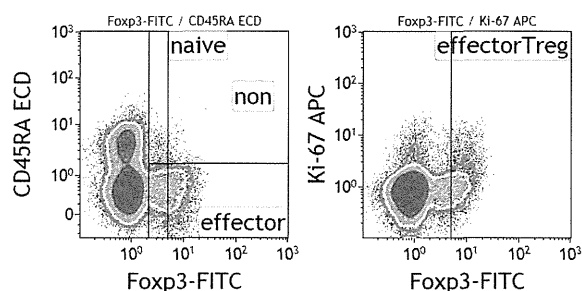


図 1. effector Treg の解析

CD45RA に加えて Ki-67 染色を加える事で、effector Treg を正確に評価可能である(図 1)。また、卵巣癌による癌性腹膜炎患者 51 例の

腹水から細胞成分を分離して、免疫抑制性細胞と免疫抑制性分子の発現を検討した。腹水細胞中 CD45⁻EpCAM⁺細胞を腫瘍細胞とし、CD45⁺細胞中の免疫抑制性細胞をフローサイトメーターで解析した。

(倫理面への配慮)

本研究は、下記のように、倫理委員会承認の下実施している。

「がんバイオマーカーの探索と新規がん診断法・治療法の開発に関する研究」東京大学医学部・医学系研究科倫理委員会承認番号(10044-(1))

「婦人科がんによる免疫環境の解析」東京大学医学部・医学系研究科倫理委員会承認番号(10248)

C. 研究結果

(1) 第Ib相治験実施体制の構築

呼吸器外科中島淳教授を試験責任医師として、医師主導治験実施の体制を構築した。可能な限り腫瘍局所の免疫環境を解析できる症例を対象とすることを目的として、悪性胸膜中皮腫、胸水貯留肺癌、腹水貯留胃癌/食道癌、悪性黒色腫患者を治験の対象とした。治験への参加に関して同意が得られた5例の患者の内、3例は登録条件を満たさず除外された。2例は登録条件を満たしたが、登録待機中に原疾患が進行し、全身状態が急激に悪化したため、登録に至らなかった。

表1. 東大病院での候補患者

TK-01	70 歳、 男性	21632567	悪性胸膜 中皮腫	胸水貯留症例、 登録条件を満た すも、登録前に 急激に原疾患が 悪化し登録に至 らず。
TK-02	69 歳、 男性	21251582	胃癌、癌 性腹膜炎	腹水貯留症例、 登録条件を満た すも、登録前に 急激に原疾患が 悪化し登録に至 らず。
	69 歳、 男性	21349410	食道癌、 術後再発	リンパ節転移の 短径 10mm、標的

				病変とならず、 適格性条件を満 たさず。
	73 歳、 男性	21314596	胃癌、直 腸癌	重複癌、除外基 準に抵触。
	49 歳、 男性	20591806	胃癌	標的病変 (-) 適 格性条件を満た さず。

(2) 末梢血中の抑制性細胞の解析

東大病院で免疫治療を受けた肺癌 11 例、胆管癌 14 例、膵臓癌 14 例、胃癌 24 例、食道癌 19 例、大腸癌 12 例、および健常者 8 例の末梢血 CD4⁺細胞中の Foxp3⁺細胞の割合は、それぞれ 12.1±3.25%、8.31±3.18%、7.51±2.22%、7.23±1.86%、10.6±3.29%、8.99±2.07%、6.51±2.55%であった(図2)。

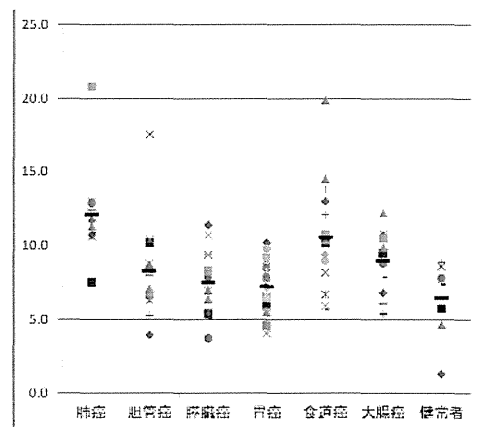


図2. CD4⁺細胞中の Foxp3⁺細胞

Treg の中でも、CD45RA⁻Foxp3⁺⁺の effector タイプと呼ばれる細胞が、抑制性の活性を持ち、CCR4 を発現していることが知られている。担がん患者および健常者の末梢血中の effector Treg は、それぞれ 6.33±1.97%、3.44±1.75%、3.03±1.20%、3.05±1.0%、5.73±2.85%、3.72±1.24%、1.45±0.70%であり、いずれの癌種においても Treg および effector Treg は、担がん患者のほうが健常者の末梢血中よりも高値であった(図3)。

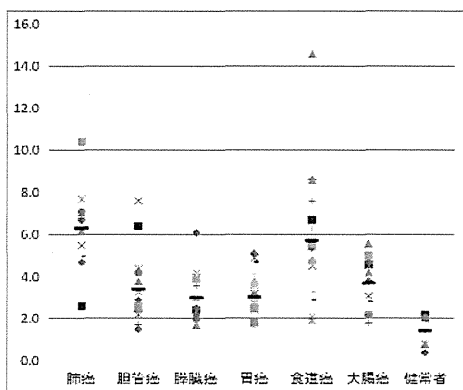


図 3. CD4⁺細胞中の effector Treg

担がん患者の中では、肺癌患者と食道癌患者の末梢血中でTregおよびeffectorタイプのTregが高値であった。

(3) 卵巣癌による癌性腹膜炎患者の腹水細胞の解析

卵巣癌患者の腹水中では、CD4⁺T細胞中の7.80±3.56%がTregであり、4.01±3.08%がCCR4⁺ effector Tregであることから、Tregによる免疫抑制の関与が確認された(図4)。明細胞腺癌より、漿液性腺癌においてeffector Tregが高値であった。

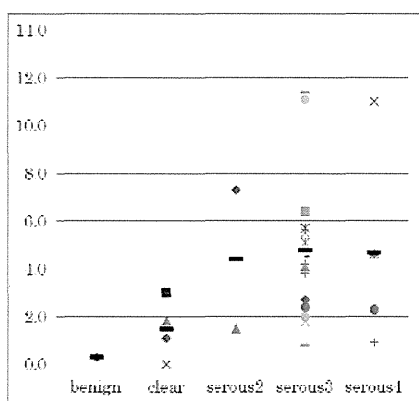


図 4. 腹水細胞中の effector Treg

腹水細胞中 CD45⁺EpCAM⁺細胞を腫瘍細胞とし、腫瘍細胞のPD-L1の発現を確認したところ、30.5±23.0%にPD-L1の発現を認めた(図5)。

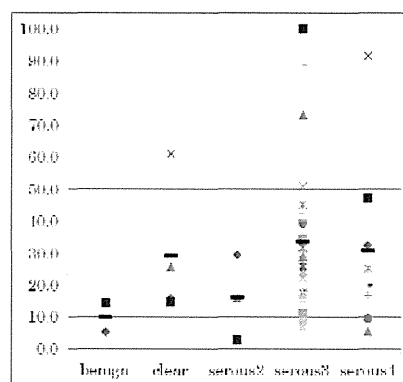


図 5. がん細胞 (EpCAM⁺) の PD-L1 発現

腹水細胞中の CD45⁺CD4⁺細胞上では、その63.1±13.7%の細胞がPD-1分子を発現しており、CD45⁺CD8⁺細胞では、59.5±16.5%の細胞がPD-1を発現していた。卵巣癌患者の腹水中では、CD4⁺およびCD8⁺T細胞がともにPD-1を強く発現しており、さらに腫瘍細胞がPD-L1分子を発現していることから、PD-1/PD-L1経路による免疫抑制機構が予測された。

D. 考察

治験参加への同意が得られた5例の候補患者中、胸水貯留を認めた悪性中皮腫患者と腹水貯留を認めた胃がん患者からは、抗CCR4抗体の投与前後に胸水/腹水を採取し治験薬が、末梢血中のTregに加えて、胸水/腹水中のTregにどのような作用を及ぼすかを解析することを試みたが、進行がん患者の状態は非常に不安定で、このような治験対象は極めて厳しいことを痛感させられた。

末梢血中のTreg解析において、肺癌と食道癌患者では他の癌種よりもCCR4⁺のeffector Tregが増加しており、今回の治験の対象疾患としてこれらのがん患者を対象としたことは、適切な癌種を選択することができたと考えられた。

卵巣癌患者の腹水中のFACS解析によって、Treg/CCR4⁺CD45RA⁺Foxp3⁺effector Tregの存在に加えて、腫瘍細胞上のPD-L1の発現とCD4⁺/CD8⁺細胞上のPD-1分子の高発現が認められた。PD-1/PD-L1系を介した免疫抑制環境を認めたことから、抗CCR4抗体に加えて抗PD-1/PD-L1抗体の併用治療が効果的ではないかと期待される。

E. 結論

東京大学医学部附属病院において、悪性胸膜中皮腫、胸水貯留肺癌、腹水貯留胃癌/食道癌、悪性黒色腫患者を治験の対象として、第1b相医師主導治験実施の体制を構築した。肺癌患者や食道癌患者の末梢血中で effector Treg が増加していた。卵巣癌患者の腹水中には Treg に加えて、PD-1/PD-L1 系を介した免疫抑制性の環境が確認された。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Wada H, Isobe M, Kakimi K, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Udono H, Seto Y, Yamada K, Nishikawa H, Pan L, Venhaus R, Oka M, Doki Y, Nakayama E. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and montanide ISA-51 in patients with cancers expressing the NY-ESO-1 antigen. *J Immunother.* 2014 Feb-Mar;37(2):84-92.
2. Mizote Y, Uenaka A, Isobe M, Wada H, Kakimi K, Saika T, Kita S, Koide Y, Oka M, Nakayama E. Production of NY-ESO-1 peptide/DRB1*08:03 tetramers and ex vivo detection of CD4 T-cell responses in vaccinated cancer patients. *Vaccine.* 2014 Feb 12;32(8):957-64.
3. Ichimura T, Morikawa T, Kawai T, Nakagawa T, Matsushita H, Kakimi K, Kume H, Ishikawa S, Homma Y, Fukayama M. Prognostic Significance of CD204-Positive Macrophages in Upper Urinary Tract Cancer. *Ann Surg Oncol.* 2014 Feb 4. [Epub ahead of print]
4. Wada I, Matsushita H, Noji S, Mori K, Yamashita H, Nomura S, Shimizu N, Seto Y, Kakimi K. Intraperitoneal injection of in vitro expanded $V\gamma 9V\delta 2$ T cells together with zoledronate for the treatment of malignant ascites due to gastric cancer. *Cancer Med.* 2014 Apr;3(2):362-75.

2. 学会発表

1. 第17回日本がん免疫学会総会、2013/7/4、山口県宇部市
Midori Isobe, Shingo Eikawa, Kazuhiro Kakimi, Hisashi Wada, Yu Mizote, Yoshihiro Ohue, Koji Kurose, Akiko Uenaka, Mikio Oka, Eiichi Nakayama, A Phase I study of vaccination with 20-mer NY-ESO-1f (NY-ESO-1 91-110) peptide
2. 第17回日本がん免疫学会総会、2013/7/4、山口県宇部市
長瀬博次、和田尚、磯辺みどり、垣見和宏、溝手雄、柴川伸吾、黒瀬浩史、大植祥弘、西塔拓郎、西川博嘉、森正樹、土岐祐一郎、岡三喜男、中山睿一、TLR4 アゴニストとしての OK-432 を併用した NY-ESO-1 長鎖重複ペプチドがんワクチン臨床試験
3. 第17回日本がん免疫学会総会、2013/7/4、山口県宇部市
近藤篤、和田郁雄、藤枝奈緒、神原佳織、泉謙道、高橋卓也、前川隆司、松下博和、瀬戸泰之、垣見和宏、治療抵抗性胃癌患者の腹膜播種に対する $\gamma\delta$ T 細胞治療
4. 第72回日本癌学会学術総会、2013/10/4、神奈川県横浜市
西塔拓郎、和田尚、磯辺みどり、垣見和宏、柴川伸吾、大植祥弘、西川博嘉、岡三喜男、森正樹、土岐祐一郎、中山睿一、NY-ESO-1 重複長鎖ペプチドを用いたがんワクチン第I相臨床試験
5. 第72回日本癌学会学術総会、2013/10/4、神奈川県横浜市
柴川伸吾、垣見和宏、磯辺みどり、和田尚、上中明子、葛島清隆、西川博嘉、鶴殿平一郎、岡三喜男、中山睿一、NY-ESO-1f (NY-ESO-1 91-110) ペプチドワクチンによる抗体・CD4・CD8T 細胞免疫応答の誘導

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし