

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 慶應義塾大学医学部皮膚科学 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、抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子と、それに関連して患者の予後を予測し得るマーカーの探索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 94 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

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。

A. 研究目的

近年、悪性黒色腫の病態に対する理解は長足の進歩を遂げた。BRAF, NRAS, c-KIT 等の ERK1/2MAPK シグナル伝達経路を構成する因子の遺伝子変異が頻回に認められることが明らかとなり、BRAF の V600E 変異を有する症例に対しては分子標的薬がある一定の成果をあげている。また、抗腫瘍免疫を増強する治療においても進歩が見られている。T 細胞の抗腫瘍活性を負に制御する CTLA-4 や PD-1 に対する抗体製剤が患者の予後を有意に改善することが明らかとなり、これらの製剤は近く本邦においても臨床の現場に用いられる見通しとなっている。しかし、半数以上の症例がこれらの治療に対しても抵抗性であり、悪性黒色腫の更なる病態の解明が望まれている。そのような中で我々は、抗 PD-1 および抗 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 をはじめとした癌精巢抗原 ; cancer-testis antigen)の確認と探索を行うことで、悪性黒色腫患者における治療反応性

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腫患者より研究のための同意を得た。対象は 2000 年から 2013 年の間に当院皮膚科を受診し悪性黒色腫と診断された 107 症例で、これまでに 72 症例（男性 25 例、女性 47 例、年齢中央値 60 歳、最高年齢 86 歳、最少年齢 13 歳）、94 検体（原発巣 61 例、リンパ節転移巣 22 例、その他の転移巣 11 例）に対し NY-ESO-1 の発現の有無を確認した。

原発巣の発症部位、病理組織学的 stage は以下の表のとおりである。

臨床病型		病理組織学的病期	
Nodular	28	pT1a	16
Superficial spreading	22	pT2a	8
Acral	20	pT2b	5
Lentigo maligna	2	pT3a	6
		pT3b	2
		pT4a	7
		pT4b	13

染色方法

染色を行うにあたり、組織内にメラニンの沈着を多く認める検体は脱メラニン処理を要した。また、すべての検体について赤発色を施行した。

1. 脱メラニン処理（過マンガン酸カリウム・シュウ酸法）

- ①0.25%過マンガン酸カリウム水溶液に1時間浸す
- ②水洗い
- ③5%シュウ酸水に切片が脱色するまで2~5分間浸す。
- ④静かに水洗い、10分間。
- ⑤蒸留水洗浄

2. 染色

- ①脱メラニン後の標本を、5%スキムミルク水（EZprepで溶解）に10分間浸す
- ②EZバッファーにより脱パラフィン、親水化を行う。
- ③イムノブロックにより撥水防止処理を行う
- ④CC1バッファーによる抗原不活化を行う。
（②~④は自動組織免疫染色装置（Ventana:Roche）を用いて行う。）
- ⑤一次抗体（100倍希釈）を100 μ l添加。2時間反応させる。（抗体はanti NY-ESO-1 clone (Aigma Aldrichi)を使用）
- ⑥PBSで洗浄。
- ⑦二次抗体（ヒストファインAP シンプルステイン AP (M)）を3滴添加し40分反応させる。
- ⑧PBSで洗浄。
- ⑨ファーストレッドII基質キットを添加、12分反応させる。
- ⑩miliQ洗浄
- ⑪HE染色を行う。

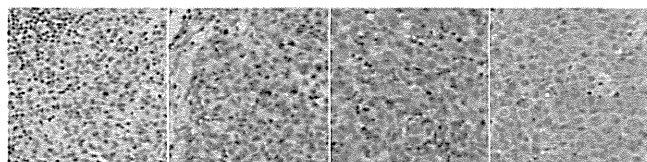
染色態度の評価は陽性細胞のパーセンテージ（Number）と陽性細胞の染色強度（Intensity）の2項目に対して行う。

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。

（倫理面への配慮）

インフォームドコンセントを取るに当たり、臨床研究指針に準拠した同意書を作成し、これに患者の同意を得た。また、臨床検体を用いるにあたり、情報公開し、オプトアウトの機会提供をしている。本研究は慶應義塾大学・倫理委員会の承認を得たプロトコールにしたがって行われた。

C. 研究結果

これまでに72症例94検体につき、NY ESO-1の発現を検討している。その結果を以下の表に示す。

Intensity

	0	1	2	3	
Primary	40	14	3	4	61
Lymph node	7	11	3	1	22
Metastatic lesion	3	2	2	4	11
	50	27	8	9	94

72症例 94検体中

Number

	0	1	2	3	
Primary	40	4	7	10	61
Lymph node	7	3	2	10	22
Metastatic lesion	3	0	3	5	11
	50	7	12	25	94

72症例 94検体中

以上より、原発巣においては61例中21例(34.4%)、リンパ節転移巣では22例中15例(68.2%)、他臓器転移巣では11例中8例(72.7%)で発現が認められ、癌の進展に伴って発現する症例が増加するという傾向が認められている。

続いて、原発巣および節転移巣の両方の検体が解析可能であった18症例22検体を検討した。以下に結果を示す。

Intensity

	Metastatic lesion					
	0	1	2	3		
Primary lesion	0	4	6	0	1	11
	1	2	2	3	0	7
	2	0	1	0	1	2
	3	1	1	0	0	2
		7	10	3	2	22

18症例 22検体中

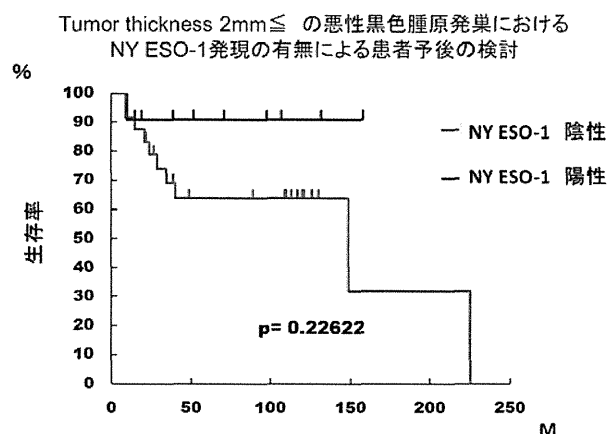
Number

	Metastatic lesion					
	0	1	2	3		
Primary lesion	0	4	1	0	6	11
	1	1	0	2	2	5
	2	2	0	0	0	2
	3	0	0	1	3	4
		7	1	3	11	22

18症例 22検体中

原発巣においてNY ESO-1の発現が陰性であった11症例中、7例(63.6%)において転移巣に発現が認められることが明らかとなり、個別の症例においても、本因子が腫瘍進展のマーカーとなりうることを示唆された。

最後に原発巣における本因子の発現と予後の相関を検討した。原発巣において腫瘍深達度が2mm以上(TNM分類でpT2a以上)の症例27例のNY ESO-1の発現と予後の相関を検討した。発現は27例中16例が陰性、11例が陽性であった。以下にKaplan-Meier法により解析した結果を示す。



有意差検定は一般化Wilcoxon検定を用いている。現時点では症例数が少ないためか有意差は認められていないものの、NY ESO-1を発現している症例において予後が良い傾向があることが示唆されている。

D. 考察

上述の知見よりNY ESO-1は悪性黒色腫において腫瘍の進展に伴って発現が増強する傾向がある一方で、発生初期の原発巣の段階から発現して

いる症例においては、良好な予後を予測するマーカーとなる可能性が示唆された。

E. 結論

本研究から得られている知見より、NY ESO-1 が悪性黒色腫の進展や予後を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆される。今後より有意な結果が得られることが予想され、更なる症例の蓄積と検討を重ねるべく研究継続を行っていく。

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：臨床治験 抗体療法モニタリング

研究分担者 石田高司 名古屋市立大学大学院医学研究科 准教授

研究要旨

- ・ ATL患者の解析で、Mogamulizumabが強力な effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi}) 除去作用を有することを明らかにした。
- ・ effector Treg 減少は皮疹など免疫関連有害事象の発症を規定する因子の一つである。免疫関連有害事象の発症を規定する宿主遺伝学的因子については、現在解析中である。
- ・ 患者由来 ATL 細胞を用いて ATL モデルを樹立、同一患者から増幅した HTLV-1 Tax 特異的細胞傷害性 T 細胞による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。本結果は、ATL 治療の標的分子として、HTLV-1 Tax が有望であることを示す。

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

約 30 名の ATL 患者で、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
- i) HTLV-1 感染細胞株培養上清から精製された、不活化 HTLV-1 抗原に対する抗体反応 (ルミパルスプレスト®HTLV-1 で解析)

ii) Recombinant-HTLV-1Tax に対する抗体反応

- ・ 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
- ・ 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アンチゲネミア法、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 effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi})、naïve Treg (CD45RA^{hi}FOXP3^{lo})の存在比率。
- ・ 上記検査データの動きと有害事象の関連。

HTLV-1 関連抗原の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)

Mogamulizumab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。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、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 特異性が低いが、FOXP3 と CD45RA の発現レベルにより 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^{hi}FOXP3^{lo})、effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi})、non-Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{lo})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 に比較し、effector Treg は強い抑制活性を有する。CCR4 の発現は naive Treg では認めず、effector Treg で強い。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 Mogamulizumab 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、Mogamulizumab 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。

HTLV-1 特異的液性免疫反応については、HTLV-1 抗原、Tax 抗原ともに症例間の変化が大きく、Mogamulizumab 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。ステロイド薬を含む、併用薬、また follicular helper T 細胞 (Tfh) 上の CCR4 の発現等が関与していると考えられ、症例数を増やし、更なる検討を必要とする。また、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。

Mogamulizumab 治療中の ATL 患者では比較的高頻度にサイトメガロウイルスの陽転化(サイトメガロウイルスアンチゲネミア法)を認めた。しかしながら Mogamulizumab を使用せず、化学療法のみで治療を受けた ATL 患者での陽転化との統計学的な差異を検出するには至っていない。

CMV 特異的 CTL の動態については、症例間の変化が大きく、Mogamulizumab 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。理論上 effector Treg の低下は CMV-CTL の活性化につながるため、症例数を増やし、更なる解析を要する。

皮膚障害をはじめとする有害事象は、Mogamulizumab の投与回数が多いほど増加する傾向を認めた。Mogamulizumab の投与回数は血液中の effector Treg の存在比率と有意な相関を認め、投与回数が多いほどその低下の程度が強かった。これらの所見は、研究分担者らがこれまでに見出してきた、“Mogamulizumab の有害事象は effector Treg の低下による異常免疫の活性化が関与”とする所見に一致した。免疫関連有害事象の重症度は effector Treg 低下に加え、宿主遺伝学的因子の関与が強く示唆される。故に 昨年度から引き続き、名古屋市立大学ヒト遺伝子倫理委員会の承認を受けた研究計画に基づき、GWAS 解析を実施している。

ATL 患者より得た ATL 細胞を用いて NOG マウスを用いて、ATL モデルを樹立、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。

D. 考察

Mogamulizumabによるeffector Treg 除去は、抗HTLV-1あるいは抗ATL免疫を活性化する可能性がある一方、免疫関連の重篤な有害事象を引き起こし得る。このことは固形がんにも当てはまると考えられる。一方 effector Treg にCCR4が強発現することは、末梢血および皮膚への浸潤細胞では確認できている。しかしながら、各種固形がんのTumor Infiltrating Lymphocytes (TIL) 中の、effector TregにおけるCCR4発現については十分なデータの蓄積がない。Mogamulizumabが各種固形がんに必要な抗腫瘍効果を発揮するには、TIL 中の

effector Treg 除去が必要不可欠である。
今後は、各種固形がんTILにおける Treg 表面形質 (CCR4発現) 様式を明らかにし、Mogamulizumabによる抗腫瘍効果が期待できる、がん種を同定する必要がある。

E. 結論

ATLでの経験から、Mogamulizumabは強力なCCR4陽性 effector Treg 除去作用を有する。重症の皮疹など免疫関連有害事象に十分な注意を払いつつ、本治験を遂行する必要がある。

また、研究分担者の施設ではIa相で、2例(肺がん2例)、Ib相で2例(悪性黒色腫 1例、食道がん 1例)の患者を登録、治験治療している。引き続き適格症例の適切なリクルートに努める。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文 (2013 以降)

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-2R γ^{null} 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*

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, Yuki Yoshi 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, 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, Yuki Yoshi 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.

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

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 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析

研究分担者 西川 博嘉 大阪大学 特任准教授

研究要旨

ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体（Mogamulizumab/KW-0761）は、脱フコシル化技術によりADCC活性を飛躍的に高めた抗体で、CCR4を発現する成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）に対する治療薬として承認されている。一方、これまで様々ながん抗原分子を標的とした臨床研究が行われ、がんワクチン療法が宿主に抗原特異的免疫を誘導することが明らかになっているが、臨床効果は限定的である。この原因としてがん組織に浸潤しているリンパ球中の制御性T細胞（Tregs）に注目が集まっている。つまり、がんワクチン療法によって誘導されたがん抗原特異的T細胞の抗腫瘍活性が、Tregsによって抑制されるため、十分な臨床効果をあげられないと考えられており、Tregsのコントロールはがん免疫療法が克服すべき大きな課題である。

がん組織に浸潤するTregsにCCR4が強発現していることから、本事業ではヒト化抗CCR4モノクローナル抗体を投与することにより、これらのTregsが減少しエフェクターT細胞の活性化といった抗腫瘍免疫応答の活性化が誘導されるか、またそれらが臨床効果につながるかを検討する。

今年度は本分担研究により、1)がん組織に浸潤しているCCR4+Tregsを詳細に解析すると共に、それらのTregsを除去することにより、がん抗原特異的エフェクターT細胞の活性化が可能かを検討した。（POCの確立）また、2）ヒトTregアッセイ方法を標準化すると共に、ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与によりCCR4+Tregsが除去されるかを、標準化されたアッセイ方法により解析した。

A. 研究目的

現在進行中の種々のがん免疫療法は、一部の患者で臨床効果を示すものの、大多数の患者では満足すべき臨床効果をあげていない。その原因としてがん組織中に多数の制御性 T 細胞（Tregs）が浸潤し、抗腫瘍免疫応答を抑制していることがあげられる。

ヒト CD4+Tregs は遺伝子発現およびマーカーの上でも多様であることが明らかとなってきたが、CD4、FOXP3 および CD45RA(もしくは CD45RO)発現を組み合わせることにより、CD4+Tregs を CD4+CD45RA+FOXP3lowTregs（ナイーブ型）と CD4+CD45RA-FOXP3highTregs（エフェクター型）に分けられることが明らかになっている(Miyara et

al. Immunity 30:899-911 2009)。本分類によりエフェクター型 Tregs に分画される部分に CCR4 が高発現していることが明らかになっている。よってヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与によりこれらの Tregs の動態を末梢血およびがん組織で解析することが本治験において抗体の効果判定の一つとして必須である。加えて、この Treg アッセイ方法を標準化することが抗 CCR4 抗体の実用化を進める上では重要である。

一方でヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与により、がん抗原に加えて広範な免疫応答の誘導・活性化が期待される。よって特定のがん抗原への免疫応答を検討することに加えて網羅的な免疫反応への影響を解析する必要がある。

B. 研究方法

書面にて同意が得られた健康人、がん患者およびヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与を受けた患者の末梢血より単核球を比重遠心法により単離し、解析に用いた。

単核球より CD4+ および CD8+T 細胞を分離し、がん・精巢抗原特異的 T 細胞誘導を検討した。一部の培養では、CCR4+ 細胞を除去した後にがん・精巢抗原特異的 T 細胞応答を検討した。また誘導された NY-ESO-1 特異的 T 細胞のエフェクター機能も検討した。

ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与を受けた患者の末梢血単核球を CD4、CD25、CD45RA、FOXP3 を用いて Tregs を同定し、さらに CCR4 発現をフローサイトメトリーにて検討した。

(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、すべての検体は書面での同意が得られたのち採取されたものを研究に用いた。

C. 研究結果

①抗 CCR4 抗体による活性型 Tregs 除去によるがん免疫療法の POC の確立

a. 腫瘍局所には CCR4+ 活性型 Tregs が浸潤している

ヒト Tregs の分類法を用いて、悪性黒色腫患者検体を解析した。腫瘍局所に浸潤している Tregs は活性型 (Fr2:CD4+CD45RA-FOXP3^{high}) であり、末梢血に存在する Tregs と異なっていた。つまり、末梢血には活性型 Tregs とナイーブ Tregs (Fr1:CD4+CD45RA+FOXP3^{low}) の両者が存在していたが、腫瘍局所に浸潤する Tregs の大部分は活性型 Tregs であった。腫瘍局所に存在する活性型 Tregs を除去するため、特異的に発現している分子の検索を行ったところ、悪性黒色腫局所に浸潤している活性化型 Tregs は、ケモカインレセプター 4 (CCR4) を強発現していた。腫瘍局所の活性型 Tregs は、マウスで CCR4 の発現が報告されている Th2 および Th17 サブセットなどのヘルパー T 細胞よりも CCR4 を強発現していた。

b. CCR4+ 活性型 Tregs 除去により NY-ESO-1 特異的 T 細胞誘導が認められる

抗 CCR4 抗体を用いた活性型 Tregs の選択的除去 (全ての Tregs を除去するわけではない) が、NY-ESO-1 特異的免疫応答に与える影響を検討した。健康人では、CD4+T 細胞からがん・精巢抗原 NY-ESO-1 特異的 T 細胞を誘導することが出来ないことが明らかになっている (Gnjatic S, Nishikawa H et al. *Adv Cancer Res.* 95: 1-30 2006)。そこで、健康人由来 PBMCs から CCR4+ 活性型 Tregs を除去し、NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞誘導を検討した。NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞誘導が 43.8% で認められた。

また、免疫応答が抑制されているがん患者での検討を行うため、NY-ESO-1 を発現しているが NY-ESO-1 に対する免疫応答を惹起できない悪性黒色腫患者由来の PBMCs で同様のアッセイを行った。未処理の CD4+T 細胞からは NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞が誘導できなかったが、活性型 Tregs を除去された CD4+CCR4-T 細胞からは NY-ESO-1 特異的 CD4+T 細胞が 37.5% の患者で誘導された。

さらに、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞に対する影響を検討した。悪性黒色腫患者由来の CCR4+ 活性型 Tregs を除去した末梢血単核球と除去しない末梢血単核球を用いて NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞誘導を検討した。活性型 Tregs を除去された末梢血単核球からは、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞誘導が増強した。

②Treg の機能評価技術の確立と解析

前述したように、抗体投与後に活性型 Tregs の体内での動態を正確に解析することが、抗 CCR4 抗体を実用化する上で極めて重要である。CD4、CD25、FOXP3 および CD45RA を組み合わせ、より厳密に Tregs を定義できる。この Treg アッセイ方法を標準化するため、本事業に参画する 10 施設の研究室間でプロトコールを共有し、アッセイおよび解析の安定化、標準化の可能性を検討した。

まず当施設 (大阪大学免疫学フロンティア研究センター) でアッセイしたデータを 10 施設に送付し、解析方法の標準化を行った。当初、解析にばらつきが認められたが、プロトコールの共有により改

善された。次にアッセイ方法の標準化を行った。プロトコルの共有化によりばらつきなくアッセイ及び解析が可能で、本 Treg アッセイ方法の標準化が本研究班内で達成されたと考えられた。

次に本方法を用いて、ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与を受けた患者の末梢血を解析した。全ての患者で活性型 Tregs の減少が認められた。

D. 考察

抗 CCR4 抗体ががん局所に浸潤する Tregs を選択的に除去し、効果的に抗腫瘍免疫応答を増強可能な特異的抗体であると考えられた。これまで抗 CCR4 抗体を投与された患者末梢血で CCR4+ 活性型 Tregs の減少が認められている。欧米各国で先行する抗 CTLA-4 抗体療法のデータから、がん局所での Tregs の減少と臨床効果との相関が明らかになっており、今後はさらにがん局所での活性型 Tregs の動態を明らかにすることが重要であると考えられた。

また、本事業では Treg アッセイ方法を標準化することが極めて重要な要素である。今年度、本事業に参画する10施設で Treg アッセイ方法の標準化が達成されたことは極めて重要であり、今後は本手法の検査機関等への導出もしくはキット化を検討していく必要があると考えられた。

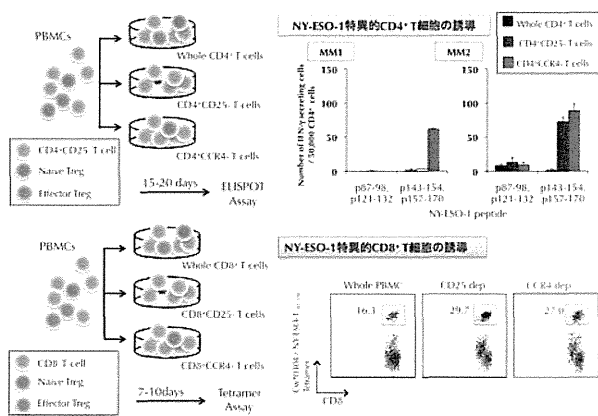


図2 活性型 Treg 除去はがん抗原特異的 CD4+/CD8+ T 細胞誘導を増強する

E. 結論

これまで、Tregs は抗腫瘍免疫応答を抑制しているため、全ての Tregs を除去する必要があると考えられてきたが、活性型 Tregs という一部を標的とすることで十分にがん抗原特異的免疫応答

の増強がみられ、抗腫瘍活性増強につながることが明らかになった。一方で、一部の Tregs(主に naive Tregs)は残存するため、Tregs 本来の機能である自己に対する免疫応答をコントロールすることができ、副作用を軽減することが出来る可能性も示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

1. Nishikawa H, Sakaguchi S; Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol.* Jan 9;27:1-7 2014. doi: 10.1016/j.coi.2013.12.005.
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.* 2014Feb-Mar;37(2):84-92. doi: 10.1097/CJI.000000000000017.
3. Sugiyama D, Nishikawa H, Maeda Y, Nishioka M, Tanemura A, Katayama I, Ezoe S, Kanakura Y, Sato E, Fukumori Y, Karbach J, Jager E and Shakaguchi S; Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking anti-tumor immune responses in humans. *Proc. Natl. Acad Sci USA.* 110(44):17945-17950 2013. (Corresponding Author). doi: 10.1073/pnas.1316796110.
4. Atarashi K, Tanoue T, Suda W, Oshima K, Nagano Y, Nishikawa H, Fukuda S, Saito T, Narushima S, Hase K, Kim S, Fritz JV, Wilmes P, Ueha S, Matsushima K, Ohno H, Oille B, Sakaguchi S, Taniguchi T, Morita H, Hattori M and Honda K; Treg induction by a rationally selected Clostridia cocktail from the human microbiota. *Nature.* 500 (7461):232-236 2013. doi: 10.1038/nature12331.
5. Hirayama M*, Nishikawa H*, Nagata Y, Tsuji T, Kato T, Kageyama S, Ueda S, Sugiyama D, Hori S, Sakaguchi S, Ritter G, Old LJ, Gnjatich S, and Shiku H.; Overcoming regulatory T-cell suppression by a lyophilized preparation of Streptococcus pyogenes. *Eur J Immunol.* 43 (4):989-1000 2013 *Equal contribution,

(Corresponding Author). doi:
10.1002/eji.201242800.

6. Adeegbe DO, Nishikawa H.; Natural and induced T regulatory cells in cancer. *Frontiers in Immunology*. 4:190 2013 (Corresponding Author). doi: 10.3389/fimmu.2013.00190.
7. Noguchi T, Ritter G, Nishikawa H.; Antibody-based therapy in colorectal cancer. *Immunotherapy*. 5 (5):533-545 2013 (Corresponding Author). doi: 10.2217/imt.13.35.
8. Muraoka D, Nishikawa H., Noguchi T, Wang L, Harada N, Sato E, Luescher I, Nakayama E, Kato T, Shiku H.; Establishment of animal models to analyze the kinetics and distribution of human tumor antigen-specific CD8+ T cells. *Vaccine*. 31(17):2110-2118 2013 (Corresponding Author). doi: 10.1016/j.vaccine.2013.02.056.
9. Fujiwara S, Wada H, Kawada J, Kawabata R, Takahashi T, Fujita J, Hirao T, Shibata K, Makari Y, Iijima S, Nishikawa H., Jungbluth A, Nakamura Y, Kurokawa Y, Yamasaki M, Miyata H, Nakajima K, Takiguchi S, Nakayama E, Mori M, and Doki Y.; NY-ESO-1 antibody as a novel tumor marker of gastric cancer. *Br J Cancer* 108 (5):1119-1125 2013. doi: 10.1038/bjc.2013.51.
10. Liu B, Ohishi K, Orito Y, Nakamori Y, Nishikawa H., Ino K, Suzuki K, Matsumoto T, Masuya M, Hamada H, Mineno J, Ono R, Nosaka T, Shiku H, Katayama N.; Manipulation of human early T lymphopoiesis by coculture on human bone marrow stromal cells: Potential utility for adoptive immunotherapy. *Exp Hematol*. 41(4):367-376 2013. doi: 10.1016/j.exphem.2012.12.001.

和文

1. 前田優香、西川博嘉: 成人T細胞白血病・リンパ腫における免疫応答 臨床免疫・アレルギー科, 59:367-376 2013
2. 杉山大介、西川博嘉: 免疫抑制の克服による抗腫瘍免疫応答増強の可能性 医学のあゆみ, 244:800-807 2013
3. 西塔拓郎、西川博嘉: Tregs 制御による抗腫瘍免疫応答増強の可能性 医学のあゆみ, 246:913-920 2013

4. 西岡めぐみ、西川博嘉: 制御性T細胞による抗腫瘍免疫抑制 —そのコントロールによる効果的ながん免疫療法の可能性 実験医学 31, 1864-1872 2013

2. 学会発表

海外

- (1)Nishikawa H.: Potential of combination immunotherapy targeting regulatory T cells, Cancer Immunotherapy Consortium, April 25th, 2013, Washington DC
- (2) Sugiyama D, Nishikawa H., Maeda Y, Nishioka M, Tanemura A, Katayama I, Ezoe S, Kanakura Y, Sato E, Fukumori Y, Karbach J, Jager E and Shakaguchi S.: Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+regulatory T cells and augments anti-tumor immune responses in humans. 21st Annual CRI International Cancer Immunotherapy Symposium, Sep30 - Oct 2, 2013, New York, NY

国内

シンポジウム

- (1) 西川博嘉: 制御性 T 細胞を標的としたがん免疫療法 第 29 回日本皮膚悪性腫瘍学会 シンポジウム 2013 年 8 月 9 日 山梨県甲府市
- (2) 西川博嘉: Treg による免疫抑制の基礎 第 22 回日本組織適合性学会 シンポジウム 2013 年 9 月 15 日 福島県福島市
- (3) Nishikawa H.: Regulatory T cells: Friends or foes for cancer. 18th Japanese Foundation for Cancer Research International Symposium on Cancer Chemotherapy シンポジウム 2013 年 12 月 4 日 東京都
- (4) 西川博嘉: がん免疫における制御性 T 細胞の役割 第 26 回日本バイオセラピー学会 シンポジウム 2013 年 12 月 6 日 岩手県盛岡市
- (5) Nishikawa H.: Control of Regulatory T cells in anti-tumor immunity. The 29th Nagoya International Cancer Treatment Symposium シンポジウム 2014 年 2 月 9 日 愛知県名古屋市

一般講演

(1) 杉山大介、西川博嘉、前田優香、西岡めぐみ、種村 篤、片山一朗、江副幸子、金倉 譲、坂口志文: エフェクター型制御性 T 細胞の選択的除去による抗原特異的免疫応答の増強、第 17 回日本がん免疫学会 2013 年 7 月 3 日～5 日 山口県宇部市

(2) 杉山大介、西川博嘉、前田優香、西岡めぐみ、種村 篤、片山一朗、江副幸子、金倉 譲、坂口志文: Selective depletion of effector-type CD4+regulatory T cells efficiently induces anti-tumor immune responses. 第 72 回日本癌学会 2013 年 10 月 4 日 神奈川県横浜市

(3) 西塔卓郎、和田 尚、磯部みどり、垣見和宏、榮川伸吾、大植祥弘、西川博嘉、森 正樹、土岐裕一郎、岡三喜男、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 1 相臨床試験. 第 72 回日本癌学会 2013 年 10 月 4 日 神奈川県横浜市

(4) 榮川伸吾、垣見和宏、磯部みどり、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-1f ペプチドワクチンによる抗体・CD4・CD8T 細胞免疫応答の誘導. 第 72 回日本癌学会 2013 年 10 月 4 日 神奈川県横浜市

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： 液性免疫・細胞性免疫モニタリング

研究分担者 鵜殿平一郎 所属 岡山大学 職名 教授

研究要旨

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 相臨床治験を多施設で実施する。第 I 相では、各症例につき mogamulizumab の安全性を検討し、制御性 T 細胞(Treg)の除去(減少)を確認した後に、岡山大学では CD8, CD4T 細胞における免疫応答（細胞性免疫）増強効果を検討する。

A. 研究目的

固形がん患者の抗 CCR4 抗体投与前後に於ける細胞性免疫機能について解析を行う。

B. 研究方法

既存のがんワクチン投与患者の治療前の末梢血単核球(PBMC)をPMAおよびionomycinにより刺激し、細胞内染色法によりCD8 T細胞におけるサイトカイン(IL-2, TNF α , IFN γ)および免疫疲弊分子(PD-1, Tim-3)を検出し、CD8 T細胞の多機能性評価を行い、免疫治療効果に反映するかどうかを検討した。また、CD4T細胞の機能検出のためのアッセイ条件を検討し、同患者においてサイトカイン産生を検出し、CD8T細胞の多機能性に関与するかどうかを解析した。

（倫理面への配慮）岡山大学倫理委員会（審査 No. 1709）に本研究について提出している。

C. 研究結果

患者CD8 T細胞のPD-1発現とサイトカイン産生は正の相関関係があり、Tim-3発現とサイトカイン産生の低下には中程度の負の相関関係($R^2 > 0.4$, $p < 0.01$)があり、免疫治療効果とも相関する。CD4T細胞のサイトカイン産生は健常者より明らかに高く、CD8T細胞の多機能性と逆相関($p = 0.38$,

$p = 0.05$)する傾向にある。

D. 考察

CD8T細胞のサイトカイン産生とCD4T細胞のサイトカイン産生とは負の相関関係があるため、がん患者ではサイトカイン過剰産生CD4T細胞がCD8T細胞の多機能性低下、免疫疲弊に関与している可能性がある。

E. 結論

本研究における多機能性解析は患者CD8およびCD4T細胞の免疫状態を検出できる手段であると考えられる。この手法により、抗CCR4抗体治療経過の免疫モニタリングを行い、治療効果を評価する。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

(1) Methods in Mol Biol. 2014

(2) Journal of Immunotherapy, 2014, 37(2): 84-92

和文

該当なし

2. 学会発表

- (3) Metformin-induced reversion of immune-exhausted tumor infiltrating CD8+T lymphocytes leads to sustained anti-tumor immunity(

岡山（高度医療都市を創出する未来技術国際シンポジウム）2014年2月

- (4) Reversion of immune-exhausted tumor infiltrating CD8+T lymphocytes by metformin causes effective anti-tumor immunity

千葉（日本免疫学会）2013年12月

- (5) Reversion of immune-exhausted tumor infiltrating CD8+T lymphocytes by metformin causes effective anti-tumor immunity

横浜（日本癌学会）2013年10月

- (6) 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
横浜（日本癌学会）2013年10月

- (7) 腫瘍局所における免疫疲弊 CD8T細胞の機能回復を介したメトホルミンの抗腫瘍効果
山口（日本がん免疫学会）2013年7月

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

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：治験症例がん組織での、CCR4および腫瘍精巢抗原（NY-ESO-1, XAGE-1b）の発現検査

研究分担者 佐藤 永一 東京医科大学 医学総合研究所 准教授

研究要旨

「固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験」で、候補患者のがん組織での CCR4, 腫瘍精巢抗原（NY-ESO-1 および XAGE-1b）の発現を標準化手順に従い、免疫組織化学を用いてスクリーニングした。同時に新規の抗原発現スクリーニング法として、RNA in situ hybridization 法を導入して予備検討を行った。

A. 研究目的

本治験では、被験者の腫瘍細胞が CCR4 陰性であること求められる。また腫瘍細胞の免疫原性を反映する因子として、腫瘍精巢抗原（NY-ESO-1 および XAGE-1b）の発現を観察項目としている。本分担課題の第一の目的は、標準操作手順に従って、候補患者サンプルで上記の発現のスクリーニングを完遂することにある。

一方で、多施設共同研究である本治験では施設毎に検体の処理条件やホルマリン固定標本の作製条件、切片の製法に相違があり、標準手順に従った免疫組織化学に不安定性が生じることが想定される。そこで免疫組織化学に代わりうる手法として、近年開発された自動化 RNA in situ hybridization system を用いて、ホルマリン固定標本で RNA レベルでの抗原発現を解析することも試みた。

B. 研究方法

候補患者のスクリーニングに際しては、各参加施設で手順書にしたがって作成された検体を用いて、免疫組織化学を行った。

RNA in situ hybridization には Advanced Cell Diagnostics 社により開発された RNA scope system をもちいた。NY-ESO-1 および XAGE-1b を標的とした RNA プローブを作成し、Roche Diagnostics 社の Ventana Discovery system を用いた自動検出を行った。

（倫理面への配慮）

本研究に用いた検体は全て連結不可能に匿名化されており、個人情報とは同定不能である。

C. 研究結果

38 例の候補患者について、組織標本でのスクリーニングを行った。標準操作手順書に従った染色で判定に支障を来した例はなかった。

RNA in situ hybridization については、腫瘍精巢抗原の生理的な発現組織である精巢を用いてプロトコルを検討した。Ventana 社の標準プロトコルで、NY-ESO-1 と XAGE-1b のいずれも陽性シグナルが検出可能であった。ただしシグナル強度がやや不安定であった。

D. 考察

さらに慎重な検証も必要であるが、現時点では免疫組織化学は支障なく遂行されている。

ホルマリン固定標本で、RNA レベルでの腫瘍抗原発現の検出が可能であった。ただし自動検出装置での検出に不安定性がある。癌組織も加えてプロトコルの検討を行うが、非自動化システムでの運用も試みる必要がある。

E. 結論

被験者選択の抗原発現検査を適切に施行した。次世代の抗原発現検出システムとして RNA in situ hybridization は有望と考えられた。

G. 研究発表

本計画については該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

本計画については該当なし

Ⅲ. 別添文書

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

治験実施計画書

治験実施計画書番号：KW0761-IIT-01
版 数：第 5.0 版
作 成 年 月 日：2014 年 4 月 15 日作成

秘密の保全に関する記述

本治験実施計画書は、治験実施医療機関の長、治験分担医師、治験協力者、治験薬管理者及び治験審査委員会等の本治験の関係者にのみ提供されるものです。本治験実施計画書の記載内容については、第三者に漏洩することなく秘密情報としてお取り扱い頂きますようお願い致します。

治験実施計画書の要約

1. 治験の目的

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。

2. 評価項目

2-1. 主要評価項目

2-1-1. 第 I a 相部

- 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

2-1-2. 第 I b 相部

- 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

2-2. 副次的評価項目

2-2-1. 第 I a 相部

- 1) 制御性 T 細胞除去効果
- 2) 有効性：腫瘍縮小効果、無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）

2-2-2. 第 I b 相部

- 1) 有効性：腫瘍縮小効果、無増悪生存期間(PFS)、全生存期間(OS)
- 2) 第 II 相試験以降の推奨投与量の決定

3. 対象

進行又は再発固形がん患者

3-1. 被験者の選択基準

進行又は再発固形がん患者で、登録時に以下の基準を全て満たす患者を適格とする。

- 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、卵巣がん等の悪性腫瘍の診断が確定している患者
- 2) 標準治療法に不応・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 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）