

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-2Ry^{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
- 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, Yukiyoshi 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, Yukiyoshi 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

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