

**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）**

総括研究報告書

**成人T細胞白血病の治療を目指した病因ウイルス特異抗原を
標的とする新規複合的ワクチン療法：
抗CCR4抗体を併用した樹状細胞療法 第I/II相試験
(H25-実用化(がん) 一般 003)**

研究代表者：末廣 陽子 国立病院機構九州がんセンター血液内科 医長

研究要旨

既治療 ATL 患者に対して「HTLV-I Tax 標的樹状細胞を用いた新規免疫療法第 I 相臨床研究」を実施し、登録患者 3 症例で安全性を確認した。さらに、3 症例中 2 症例で部分寛解が得られ、全例で PS の改善を認め一年以上無治療で外来経過観察が可能であった。これらの症例では、ワクチン接種数ヶ月経過しても Tax-CTL 活性化が同定できており、長期的な ATL 抑制機構の存在が示唆された。本研究ではこの樹状細胞ワクチンの効果を増強するため、抗 CCR4 抗体を併用する複合的免疫療法の第 Ia/Ib 相医師主導治験を推進する。平成 25 年度は、治験開始に向けて治験薬概要書、治験実施計画書の作成、GMP 関連書類作成とともに GCP 組織整備に着手し PMDA 薬事戦略相談を実施した。

研究分担者

- | | | |
|----------|-------------|-----|
| 1. 神奈木真理 | 東京医科歯科大学 | 教授 |
| 2. 赤司 浩一 | 九州大学大学院 | 教授 |
| 3. 石田 高司 | 名古屋市立大学 | 准教授 |
| 4. 松岡 雅雄 | 京都大学ウイルス研究所 | 教授 |
| 5. 福田 哲也 | 東京医科歯科大学 | 助教 |
| 6. 下川 元継 | 九州がんセンター | 研究員 |

A. 研究目的

本研究では ATL の新規治療法開発を目的に既治療 ATL 患者を対象としてウイルス特異抗原である Tax を標的とした樹状細胞(DC)ワクチン療法の安全性、忍容性の検証を行う。本臨床試験では、制御性免疫の抑制、残存病変の縮小効果による効率的な抗腫瘍免疫の誘導を目的として、抗 CCR4 抗体を併用する複合的免疫療法の第 Ia/Ib 相治験を計画した。本年度は、DC ワクチンの実用化を目指し、PMDA 薬事戦略相談を実施するとともに、既に臨床研究として樹状細胞ワクチン療法を実施した 3 症例の追跡調査を行った。

B. 研究方法

1. ATL に対する Tax 特異的樹状細胞ワクチン療法の第 I 相臨床研究追跡調査

平成 24 年度に実施した Tax 特異的 DC ワク

チン療法の第 I 相臨床研究では、既治療の ATL 患者を対象に DC ワクチン単独投与を実施し安全性の評価を行った。ワクチン製剤は、患者から成分採血で得られた白血球細胞分画を 2 種類の密度勾配遠心法により単球分離し、付着細胞処理後、AZT 存在下で、DC 誘導刺激(GM-CSF, IL-4)、DC 成熟刺激(TNF- α , KLH, OK432)を加え、Tax ペプチドを添加した。DC ワクチンは、2 週毎に計 3 回皮下接種し、ワクチン接種 4 週間後に安全性、抗腫瘍効果を評価した。登録された 3 症例は、九州がんセンターで登録され臨床研究を完遂した。ワクチン製剤の調製は、九州大学の細胞調製施設で実施された。平成 25 年度は、臨床研究完遂例の追跡調査として臨床経過観察、腫瘍マーカー (sIL-2R)、HTLV-1 プロウイルス量、Tax テトラマー解析による CTL 検出、制御性 T 細胞の解析を実施した。

2. 抗 CCR4 抗体を併用した複合的免疫療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

平成 25 年度後期にコアメンバーによるワーキンググループで実施計画書、治験薬概要書を作成、治験薬製造における品質・安全性の PMDA 薬事戦略相談対面助言を実施した。また治験調製事務局を九州がんセンターに設置し組織整備を開始した。

3. HTLV-1 プロウイルス解析

(松岡班員)

Tax を標的とした DC ワクチン適応症例における feasibility を検討するとともに ATL 患者検体における Tax 発現能を解析した(tax 遺伝子変異、5'側 LTR 欠損、5'側 LTR メチル化)。

4. 抗 CCR4 抗体による免疫賦活作用の解析

(石田班員)

ATL 患者で抗 CCR4 抗体 (モガムリズマブ) 治療による制御性 T 細胞および Tax 特異的 T 細胞の動態を解析した。

(倫理面への配慮)

「成人 T 細胞白血病(ATL)に対する HTLV-Tax 特異的 T 細胞応答賦活化ペプチドパルス樹状細胞を用いた新規免疫療法第 I 相臨床試験」は、九州がんセンター、九州大学、東京医科歯科大学の倫理審査委員会により承認済みである。「ATL 症例の HTLV-1 プロウイルス解析」は京都大学の倫理審査委員会の承認を得た。「抗 CCR4 抗体による免疫賦活作用」に関する研究は、名古屋市立大学の倫理審査委員会の承認を得た。

C. 研究結果

1. ATL に対する Tax 特異的樹状細胞ワクチン療法の第 I 相臨床研究追跡調査

1-1. 臨床経過

樹状細胞ワクチンを単独投与した3症例の被験者において grade3 以上の非血液学的毒性を認めず、接種開始後13-18ヶ月の経過で安全性は確認された。3症例中2症例で部分寛解が得られ、1例は不変(SD)であった。全例でPSの改善を認め一年以上無治療で外来経過観察が可能であった。部分寛解が得られた2症例中1例は6ヶ月後の評価で完全寛解の評価が得られ、現在も寛解維持ができています。SDの1例は、6ヶ月後に進行(PD)と判定されたが、病勢進行が緩徐であった。

1-2. Tax テトラマー解析による CTL 検出

(神奈木班員)

症例 1: HLA-A*2402

HLA-A*2402/Tax301-309 ペプチド添加
DC ワクチン

症例 2: HLA-A*2402

HLA-A*2402/Tax301-309 ペプチド添加
DC ワクチン

症例 3: HLA-A*0201,*1101

HLA-A*0201/Tax11-19 ペプチド添加
DC ワクチン

末梢血 CD8+細胞中の Tax 特異的テトラマー陽性 CTL の頻度は、DC 接種以前から検出できていた例では大きな変化はなかった(症例 1, 症例 2)。症例 3 では、Tax 特異的 CTL は DC ワクチン前には検出されなかったが、ワクチン後 2 週目以降に HLA-A*0201/Tax11-19 テトラマー陽性 CTL が検出された。同症例では HLA-A*1101/Tax 88-96 テトラマー陽性 CTL は検出されなかったことから、ワクチンに用いた Tax11-19 ペプチドに対する特異的応答であることが示唆された。3 症例とも DC 接種開始から 16-20 週目の末梢血検体で、培養中に Tax 特異的 CTL の増殖が観察された。

2. 抗 CCR4 抗体を併用した複合的免疫療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

プロトコール部門、治験薬製造部門、GCP 部門の各ワーキンググループを設置し、治験支援業者(CRO)との連携により治験実施計画書、治験薬概要書(案)の作成とPMDA薬事戦略相談を実施した。3回のPMDA事前面談(品質相談、非臨床試験相談)を経て平成26年2月に製剤安全性に係わる対面助言、3月に製剤品質に係わる対面助言を実施した。また2月にはプロトコール骨子に関する事前面談を実施した。

2-1. 治験実施体制

- 治験調整事務局 (患者登録・情報管理)
：九州がんセンター
- 細胞調製実施機関：九州大学
- 基礎解析機関：東京医科歯科大学
京都大学ウイルス研究所
東京大学医科学研究所

2-2. 治験骨子

- ワクチン療法のデザイン：第 Ia/Ib 相
- 登録期間：登録開始から 3 年間
- 対象患者：HLA-A2, A24, A11 を有する既治療の ATL 患者
- 目標登録数：9-15 症例
- 主要評価項目：安全性の確認
- 副次評価項目：奏功率、次治療開始までの期間、制御性 T 細胞の抑制効果、抗ウイルス効果、腫瘍マーカー

2-3. 治験製剤

PMDA薬事戦略相談を通して治験製剤の最終製品規格、出荷試験の見直しを行った。品質・安全性を担保するため、新たに健常人ドナーのアフェレーシス検体を使用した細胞調製工程、規格試験のバリデーション、安定性試験を計画。非臨床試験としてin vitroでの造腫瘍性試験、免疫不全マウスを用いた安全性試験計画 (GLP準拠)を作成。これと並行して治験製剤調製施設におけるGMP施設整備、運用管理・組織整備のためのGMP関連文書作成を作成した。製剤の品質・安全性に係わる対面助言を通して、既に欧米で承認された培地も含めて複数の培地が本邦の薬事法による生物由来原料基準に合致せず、本研究における製剤開発の障壁となっている。また自家細胞加工製剤の収量は限定的であり、薬局方に準じた出荷試験における検体量の規定を満たすための対応策を検討している。

2-4. GCP組織整備

治験調整事務局、データセンター、安全性情報、統計解析の各部門を九州がんセンターに設置し、運用管理に関する書類作成に着手した。また治験情報一元化におけるネットワーク構築を検討した。モニタリング、監査部門はCROに委託しGCP組織整備を推進した。

3. HTLV-1プロウイルス解析

ATL 症例の解析から 1) tax 遺伝子のナンセンス変異(12%)、2) 5'側 LTR の高メチル化(12%)、3) 5'側 LTR の欠失(30%)が認められ、このように 5'側 LTR が欠失・メチル化されている場合、tax に変異・欠失がある症例では Tax は発現できないことが示唆された。一方、tax 遺伝子の転写が検出された症例に加えて、tax 遺伝子配列が保持され、5'側 LTR にメチル化、欠失がない症例は Tax を発現することが可能であり、このような症例は Tax に対する免疫治療の対象となるものと推測された。解析結果から、約半数の ATL 症例は Tax に対する免疫治療の適応になるものと推測された。

4. 抗 CCR4 抗体による免疫賦活作用

ATL患者で抗CCR4抗体(モガムリズマブ)治療による制御性T細胞およびTax特異的T細胞の動態を解析した。抗CCR4抗体の投与により機能的制御性T細胞(effector Treg)の比率が著しく低下しTax特異的CTLの増加を認めた。

D. 考察

ATL に対する Tax 特異的 DC ワクチンの第 I 相臨床研究(プロトタイプ)を完遂した 3 症例の臨床経過は安定しており安全性が確認された。これらの症例では前治療(レナリドマイド、モガムリズマブ等)の免疫修飾効果が影響した可能性もあり興味深い。少数例ではあるが、抗腫瘍効果、Tax 特異的 CTL の活性も確認されたことから、今後、移植非適応の ATL 患者に対して有望な治療法として期待できる可能性がある。本研究では、プロトタイプである臨床研究の成果を元に次世代のワクチン療法として抗 CCR4 抗体を併用した複合的ワクチン療法の実現化を図る。基礎解析の結果より抗 CCR4 抗体による機能的制御性 T 細胞の排除が認められ、DC ワクチンの抗腫瘍免疫を効率よく誘導できることが期待される。一方治験開始に向けての規制当局対応において、培地の生物由来原料基準、最終製品規格及び製剤出荷試験に関して、本研究における細胞加工製剤特有の問題点が抽出され、製剤調製法の見直しと品質検証試験での対応策を迫られている。細胞・組織加工製品における治験は、国内でも例が少なく、本治験が軌道に乗れば、今後細胞加工製品の開発において、実用化研究から製品化までのプロセスのプラットフォームになる可能性がある。

E. 結論

ATL に対する HTLV- Tax 特異的 DC ワクチン療法第 I 相臨床研究(プロトタイプ)の安全性が確認された。本研究課題では Tax 特異的 DC ワクチン療法の安全性、有効性を検証し治療の普遍化を目的として新規の医師主導臨床試験「抗 CCR4 抗体を併用した複合的ワクチン療法」を計画した。PMDA 薬事戦略相談を実施し、本治験製剤開発の克服すべき問題点に関して検討し治験申請準備を推進した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tamai Y, Hasegawa A, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Potential contribution of a novel Tax epitope-specific CD4+ T cells to

graft-versus-Tax effect in adult T cell leukemia patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. J Immunol. Apr 15; 190(8) : 4382-92, 2013

2. Takamatsu A, Abe Y, Suehiro Y, Choi I, Toyoda K, Shiratsuchi M, Uike N. Successful treatment with allogeneic hematopoietic stem cell transplant in a mature B-cell leukemia with MYC and BCL2 translocation. Leuk Lymphoma. Nov 6, 2013 [Epub ahead of print]
3. 末廣陽子 . 血液がんの新規抗腫瘍薬における皮膚障害—ベンダムスチンとモガムリズマブ—, 医学のあゆみ vol 246, No 9; 788-793, 2013, 医歯薬出版株式会社 (東京)
4. 豊田康祐, 安部康信, 津田麻理子, 土師正二郎, 崔 日承, 末廣陽子, 喜安純一, 大島孝一, 鷗池直邦 . リツキシマブを併用した経口ソブゾキサソ、エトポシド少量療法が奏効した高齢者ヒトヘルペスウイルス 8 陰性 Primary effusion lymphoma-like lymphoma. 臨床血液 (in press)

2. 学会発表 〈国際学会〉

1. Hasegawa A, Tamai Y, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh K, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Identificant of a novel HLA-DR1-restricted dominant epitope recognized by HTLV-1 Tax-specific CD4⁺ T-cells augmenting HTLV-1-specific CTL expansion in ATL patients after allogeneic HSCT. 9th Joint Conference of the American Association for Cancer Research (AACR) and the Japanese Cancer Association (JCA), Feb. 21-25, 2013, Maui, HI, USA.
2. Suehiro Y, Hasegawa A, Iino T, Sasada A, Watanabe N, Choi I, Fukuda T, Takaishi S, Tanosaki R, Utsunomiya A, Miura O, Matsuoka M, Teshima T, Akashi K, Okamura J, Kannagi M, Uike N. The phase-I study of a therapeutic vaccine to ATL patients with autologous dendritic cells pulsed with peptides corresponding to Tax-specific CTL epitopes. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, June 26-30, 2013, Montreal, Quebec, Canada.
3. Choi I, Tanosaki R, Utsunomiya A, Suehiro Y,

Okamura J, Uike N. The kinetics of HTLV-1 proviral load after allogeneic hematopoietic cell transplantation with reduced intensity conditioning regimen; a comparison with that from sibling donors and that from unrelated donors. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, June 26-30, 2013, Montreal, Quebec, Canada.

4. Hasegawa A, Tamai Y, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Eto T, Koh KR, Nakamae H, Suehiro Y, Kato K, Takemoto S, Okamura J, Uike N, Kannagi M. Augmentation of donor-derived Tax-specific CTL responses by a novel Tax epitope-specific CD4⁺ helper T-cells in ATL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. 16th International Conference on Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, June 26-30, 2013, Montreal, Quebec, Canada.
5. Kannagi M, Hasegawa A, Suehiro Y, Takamori A, Kinpara S, Ando S, Sasada A, Utsunomiya A, Choi I, Okamura J, Uike N. Immunological control of HTLV-1: Prospective therapy towards prophylaxis of disease, 第 6 回 HTLV-1 研究会 : 第 3 回 HTLV-1 国際シンポジウム, 2013 年 8 月 23-25 日, 東京

〈国内学会〉

1. Suehiro Y, Hasegawa A, Iino T, Sasada A, Watanabe N, Tanosaki R, Utsunomiya A, Matsuoka M, Teshima T, Akashi K, Okamura J, Kannagi M, Uike N. The phase-I study of a therapeutic vaccine to ATL patients with autologous dendritic cells pulsed with Tax peptides. The 72th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. Symposium October 3-5 2013, Yokohama.
2. Hasegawa A, Tamai Y, Takamori A, Sasada A, Tanosaki R, Choi I, Utsunomiya A, Suehiro Y, Maeda Y, Yamano Y, Uike N, Kannagi M. Kinetics of Tax-specific CTL in ATL patients following hematopoietic stem cell transplantation from uninfected donors. The 72th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5 2013, Yokohama.
3. Takamori A, Hasegawa A, Utsunomiya A, Choi I, Tanosaki R, Eto T, Kato K, Tamai Y, Sasada A,

Suehiro Y, Uike N, Kannagi M. Identification of novel HTLV-1-specific CD4 epitopes in ATL patients after hematopoietic stem cell transplantation. The 72th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5 2013, Yokohama.

4. Oda H, Arikawa M, Choi I, Suehiro Y, Abe Y, Ohshima K, Uike N. Identification of EZH2 gene mutation and immunohistochemical analyses among Japanese non-Hodgkin lymphoma patients. The 72th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association. October 3-5 2013, Yokohama.
5. Suehiro Y, Takamatsu A, Toyoda K, Choi I, Watanabe E, Watanabe N, Abe Y, Uike N. Mogamulizumab is effective for HLA class I deficit ATL cells. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 11-13 2013, Sapporo.
6. Sato N, Watanabe E, Ishigaki T, Kobayashi S, Ohno N, Choi I, Suehiro Y, Uike N, Uchimaru K, Watanabe N. フローサイトメトリーによる ATL 細胞の解析法とその臨床検査への応用. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 11-13 2013, Sapporo.
7. Watanabe E, Watanabe N, Kobayashi S, Uchimaru K, Suehiro Y, Choi I, Uike N. Analysis of ATL cells, Treg cells, NK cells and the expression levels of CCR4 using 12-color FACS. The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, October 11-13 2013, Sapporo.
8. 崔 日承, 津田麻理子, 土師正二郎, 豊田康祐, 末廣陽子, 安部康信, 鵜池直邦. 成人 T 細胞白血病リンパ腫に対する非寛解期同種造血細胞移植の検討, 第 36 回日本造血細胞移植学会総会, 2014 年 3 月 7~9 日, 沖縄県宜野湾市.
9. 土師正二郎, 安部康信, 高松明子, 津田麻理子, 豊田康祐, 崔 日承, 末廣陽子, 鵜池直邦. Mogamulizumab 投与後に同種造血幹細胞を行った成人 T 細胞白血病/リンパ腫(ATLL), 第 36 回日本造血細胞移植学会総会, 2014 年 3 月 7~9 日, 沖縄県宜野湾市.

2 . 実用新案登録

なし

3 . その他

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1 . 特許取得

なし