

**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**

プロトコール作成 ATL に対する樹状細胞ワクチン療法の開発

研究分担者：赤司 浩一 九州大学大学院 医学研究院 教授

研究要旨

我々は、九州大学において、イノベーションセンター、病態修復内科学、病態制御内科学、九州がんセンターなどの医療機関と共同で、成人 T 細胞性白血病に対する樹状細胞療法の医師主導治験を立ち上げつつあり、特にイノベーションセンター細胞調整室(CPC)における GMP グレードの細胞調整の基盤整備に尽力した。現在までに、本治験の CPC 運用上での文書面での整備を行い、それらをもとに、スモールスケールで、健常人由来末梢血を CPC で、GMP に準拠した状況で培養を行うシミュレーションを行った。その結果、工程上の問題点の整理を行うとともに、最終産物である樹状細胞が純度よく、無菌的に回収できることの確認ができた。この結果をもとに、実際の臨床スケールでの健常人ドナーからの末梢血単核球を用いて CPC で GMP に準拠した治験と同一のプロセスで最終製品である樹状細胞を作成し、安全性、品質などを評価することを予定している。

A. 研究目的

これまでの成人 T 細胞白血病 (ATL) に対する樹状細胞療法の臨床試験の経験及び基礎的検討から医師主導治験としての樹状細胞ワクチン療法の開発と細胞療法を行う上での組織、ハード的な基盤を構築することが本研究の目的である。

B. 研究方法

医師主導治験に向けての基盤構築が主な研究内容である。特に、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA) への細胞加工製品としての治験薬である樹状細胞の非臨床安全性評価の相談に関する資料、実験計画を作成すること、そしてワクチン療法の具体的なプロトコール作成を共同研究期間との間の協議、話し合いを行うことで、治験としての樹状細胞療法を徐々に具体化、実現化していく。

また、医師主導治験における無菌細胞培養調整室(CPC)の運用を目的とした、GMP(Good Manufacturing Practice: 薬事法に基づく厚生労働大臣が定めた、医薬品等の品質管理基準)に準拠した細胞培養及び加工に関する運用の整備、その書類作成、実施体制の構築を行う。

さらに、前臨床段階の検証として、健常人ドナーからの末梢血単核球を用いて実際にCPCでGMPに準拠した治験と同一のプロセスで最終製品である樹状細胞を作成することで、安全性、品質などを評価する。

(倫理面への配慮) 健常人ドナーからの末梢血単核球採取及び細胞培養、加工に関しては、すでに倫理委員会の承認を得ている。

C. 研究結果

1) ワクチン療法のプロトコールについて

ATL 患者からアフレーシスを行って得た末梢血単核球を培養しワクチン療法として投与する単球由来の樹状細胞を得るが、ATL の場合、ATL 細胞の混入が問題となる。そこで、樹状細胞ワクチン投与直前に抗 CCR4 抗体を ATL 患者に投与すること、培養中に逆転写酵素阻害剤 (AZT) を加えることで、ATL 細胞の増殖、混入を防ぐ方法を開発し、新規の次世代ワクチン療法プロトコールを作成した。抗 CCR4 抗体の意義は、ATL 細胞に対する直接的な効果のみならず、CCR4 陽性の制御性 T 細胞を抑制することで、抗腫瘍免疫も増強 (樹状細胞療法に対する相乗効果) することも期待している。ATL 患者で、CCR4 抗体投与後に末梢血中から ATL 細胞が数日以内に著減すること、制御性 T 細胞が著減することを自験例、文献で確認した。

2) 無菌細胞培養室(CPC)の運用について

適切な医師主導治験を行うために治験薬 GMP に準拠した文書管理を徹底した。CPC の全体の運用の管理文書はすでに我々は作成していたので、本研究においては、「成人 T 細胞

白血病の治癒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」の医師主導治験に特化した管理文書を作成した。すなわち、樹状細胞の培養工程（製造工程）の手順書、製造指図・記録書、衛生管理、構造設備のバリデーション、出荷基準に関する管理文書を作成した。これら、GMPに基づくCPC運用で、実際の治験を行う予定であるが、これら一連のCPC運用、管理体系について問題がないか健常人の末梢血単核球を用いてバリデーションを行うことにしている。評価項目としては、安全性の確認（無菌検査）、品質の確認（得られた細胞の表面マーカーの解析と機能解析）を行い我々の培養工程、CPCの運用体制の妥当性、安全性を客観的に評価した。スモールスケール（末梢血 100ml）からの出発材料では問題なかったことを確認できた。引き続き、実際の臨床スケール（アフレーシス由来産物）で行う予定にしており、倫理委員会の承認を得た段階である。近日中に行う予定である。

D. 考察

我々が、ATLに対して考案した抗CCR4抗体併用樹状細胞療法の妥当性に関しては、PMDA、厚生労働省で評価の後、さらに各医療機関で倫理委員会にて評価する。その際、臨床治療プロトコルの安全性、治験製剤の安全性が評価されることが予測される。治験製剤の原材料に関して、安全性の確認を文献的、製造業者に対して、書面で確認を行い問題はなかった。特に培地に含まれる生物由来の成分（ヒトアルブミン、トランスフェリン）に関しては、トレーサビリティ（追跡可能性）のあるものを用いることでより安全性を高めることにした。一連の製造工程の安全性の確認のためには、さらに健常人からのアフレーシスによって採取した末梢血単核球を同一の工程で樹状細胞製剤を製造し、免疫不全マウスに投与し、安全性を確認する予定である。その上で、医師主導臨床治験を行い安全性、有効性を確認し、次世代のワクチン療法の確立を目指す。

E. 結論

ATLに対して根治の期待できる治療は現段階では同種末梢血幹細胞移植療法のみであるが、この治療は移植適応のある患者に限定されるという欠点がある。本臨床研究のプロトタイプである厚生労働科学研究費補助金（がん臨床研究事業）（H22-がん臨床-一般-028）「成人T細胞性白血病(ATL)の根治を目指した細胞療法の確

立およびそのHTLV-1抑制メカニズムの解明に関する研究」研究班での「ATLに対するHTLV-1 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免疫療法」は、少数例ながらも造血幹細胞移植不適応症例に対して、安全性と一定の有効性が確認できた。本臨床研究はその成果と経験をもとに、抗CCR4抗体を併用するという、一歩進めた次世代の細胞ワクチン療法であり、治験ということも踏まえると、克服すべき課題も少なくない。しかし、徐々に動物実験を含む基礎的データを蓄積すること、細胞療法や医師主導治験をとりまく環境、基盤を「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」を遵守した上で、整備することで、「成人T細胞白血病の治癒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」に関する研究は、徐々に具体化しつつあると言える。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ito Y, Miyamoto T, Chong Y, Aoki T, Kato K, Akashi K, Kamimura T. Successful treatment with anti-CC chemokine receptor 4 MoAb of relapsed adult T-cell leukemia/lymphoma after umbilical cord blood transplantation. *Bone Marrow Transplant* 48: 998-999, 2013
2. Yamauchi T, Takenaka K, Urata S, Shima T, Kikushige Y, Tokuyama T, Iwamoto C, Ishihara M, Iwasaki H, Miyamoto T, Honma N, Nakao M, Matozaki T, Akashi K. Polymorphic Sirpa is the genetic determinant for NOD-based mouse lines to achieve efficient human cell engraftment. *Blood* 121: 1316-1325, 2013
3. Kato K, Miyamoto T, Numata A, Nakaike T, Oka H, Yurino A, Kuriyama T, Mori Y, Yamasaki S, Muta T, Takenaka K, Iwasaki H, Teshima T, Akashi K. Diffuse panbronchiolitis after humanized anti-CCR4 monoclonal antibody therapy for relapsed adult T-cell leukemia/lymphoma. *Int J Hematol* 97: 430-432, 2013
4. Iwamoto C, Takenaka K, Urata S, Yamauchi T, Shima T, Kuriyama T, Daitoku S, Saito Y, Miyamoto T, Iwasaki H, Kitabayashi I, Itoh K, Kishimoto J, Kohda D, Matozaki T, Akashi K. The BALB/c-specific polymorphic SIRPA enhances its affinity for human CD47, inhibiting phagocytosis against human cells to promote xenogeneic engraftment. *Exp Hematol*

2014 (Received 27 June 2013; revised 5 November 2013; accepted 7 November 2013)

2. 学会発表

1. 『造血幹細胞と造血器癌幹細胞』 赤司 浩一、第 110 回日本内科学会 2013 年 4 月 13 日 東京 (東京国際フォーラム)
2. 『治療標的としてのヒト白血病幹細胞』 赤司 浩一、BIO tech 2013 国際バイオテクノロジー展 2013 年 5 月 8 日 東京 (東京ビックサイト)
3. 『Epigenetic Landscape of Hematopoietic Lineage Commitment Can Be Visualized by Analysis of Incorporated H3.3 Variant』 Akashi K. ISEH 42nd Annual Scientific Meeting 2013 年 5 月 25 日 Vienna, Austria
4. 『Epigenetic landscape of hematopoiesis visualized by histone H3.3 incorporation is deregulated in acute myeloid leukemia』 Akashi K. 第 72 回日本癌学会学術総会 (シンポジウム講演) 2013 年 10 月 4 日 横浜 (パシフィコ横浜)
5. 『Cancer Stem Cells in Human Hematological Malignancies』 Akashi K. 第 72 回日本癌学会学術総会 (モーニングレクチャー) 2013 年 10 月 5 日 横浜 (パシフィコ横浜)
6. 『Visualization of the epigenetic landscape of hematopoietic lineage commitment based on the analysis of histone H3.3 incorporation』 Akashi K. 第 75 回日本血液学会学術集会 (シンポジウム講演) 2013 年 10 月 13 日 札幌 (さっぽろ芸文館)
7. 『造血器癌幹細胞 Malignant hematopoietic stem cell』 赤司 浩一、第 55 回日本小児血液・がん学会学術集会 2013 年 12 月 1 日 福岡 (ヒルトン福岡シーホーク)

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし