

**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**

CCR4 抗体による免疫賦活作用の解析

研究分担者：石田 高司 名古屋市立大学 腫瘍・免疫内科学 准教授

研究要旨

免疫を負に制御する各種制御性 T 細胞(Treg)のうち、最も強い Treg 活性を有する、CD45RA^{lo}FOXP3^{hi} の effector Treg は CCR4 を強発現している。すなわち、CCR4 抗体(モガムリズマブ)は CCR4 発現 ATL 細胞を直接傷害することに加えて、effector Treg を減少させ、抗腫瘍免疫応答を増強する可能性がある。このことを検証するために、モガムリズマブ治療を受けた ATL 患者において、各種 Treg の動態に加え、HTLV-1 Tax に対する特異的 T 細胞の動態および機能解析を行った。結果、モガムリズマブ治療は effector Treg を除去することにより、Tax 特異的な免疫応答を増強させることが明らかになった。さらには、患者由来 ATL マウスモデルに対する Tax 特異的 CD8 陽性 T 細胞の養子免疫治療実験で、治療群の生存期間は有意に延長した。この結果は、ATL 治療の標的分子としての、Tax の妥当性を示すものである。

以上より、CCR4 抗体(ATL 細胞および effector Treg の除去) と HTLV-1 Tax に対する樹状細胞療法との併用は ATL に対し、有望な治療法と考えられる。

A. 研究目的

2012 年、ATL に対する治療薬として CCR4 抗体(モガムリズマブ)が日本で承認された。一方、免疫を負に制御する制御性 T 細胞(Treg)の一部も CCR4 を発現していることから、本抗体の標的となる可能性が示唆されている。すなわち、CCR4 抗体は CCR4 発現 ATL 細胞を直接傷害することに加えて、Treg 細胞を減少せしめ、抗腫瘍免疫応答を増強している可能性が考えられる。このことから、CCR4 抗体による Treg 除去の可能性およびそれに伴う HTLV-1 Tax に対する免疫応答の動態解析を行った。これにより、CCR4 抗体(ATL 細胞および Treg の除去) + HTLV-1 Tax に対する樹状細胞療法という ATL に対する新規免疫療法開発の可能性を検討した。

B. 研究方法

モガムリズマブ治療中の ATL 患者において、effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi}) の頻度、HTLV-1 Tax、に対する特異的細胞性免疫応答、液性免疫応答を解析した。モガムリズマブ治療中の 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。

Tax に対する特異免疫応答は、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 Tax 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)

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、それぞれ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 の発現レベルと CD45RA 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 より effector Treg の方が強い抑制活性を持っている。CCR4 の発現は naive Treg では認めず、effector Treg が強い。よって、CCR4 抗体で標的となる Treg は、理論上 effector Treg であるが、実際にモガムリズマブの治療を受けた ATL 患者では、effector Treg の存在比率は著しく低下し、Tax に対する特異的 CTL は増加して

いた。また、effector Treg が低下した状態において Tax 特異的 CTL の誘導効率は著しく向上した。このことは、モガムリズマブ治療によって effector Treg が除去されることにより、Tax に対する免疫応答が増強することを意味している。

さらに HTLV-1 Tax は G0 期にある末梢血中の ATL 細胞でその発現を認めないケースでも、リンパ節など、ATL 細胞増殖の場と考えられるリンパ節など ATL 細胞にとっての微小環境を有する場においては発現を認めることを研究分担者は見出し、報告している(Cancer Sci. 2012 ;103:1764-73.)。また、ATL 患者より得た ATL 細胞を用いて ATL モデルマウスを樹立、同一患者から 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、Tax の妥当性を示すものである。

D. 考察

モガムリズマブ治療は effector Treg を除去することにより、Tax 特異的な免疫応答を増強させる。また、モガムリズマブ治療は、分担者研究者らがその存在を証明した一部の ATL 患者における HTLV-1 HBZ に対する免疫応答をも増強せしめ、抗 ATL 作用を示す可能性を有する。

E. 結論

CCR4 抗体(ATL 細胞および effector Treg の除去)と HTLV-1 Tax に対する樹状細胞療法の併用は ATL に対し、有望な治療法と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

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, in press. (*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-2Rγ^{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*. 2013 Mar 26. doi: 10.1111/hepr.12117. [Epub ahead of print]
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*. 2013 Nov 5. doi: 10.1111/ejh.12231. [Epub ahead of print] (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. *Hum Pathol*. In press
14. 石田 高司. 成人 T 細胞性白血病に対する新規治療法, 日本内科学会雑誌, 102(7):1744-50, 2013
15. 宇都宮 與, 石田 高司. 成人 T 細胞白血病・リンパ腫に対する同種移植の成績, 血液内科, 66(6), 781-88, 2013
16. 森 芙美子, 石田 高司. 末梢性 $\gamma\delta$ T 細胞リンパ腫, 日本臨床別冊血液症候群, 第 2 版 409-13, 2013
17. 小畑長英, 秋永士朗, 石田高司, 上田龍三. ヒト化抗 CCR4 抗体モガムリズマブの T 細胞リンパ腫への臨床応用, 腫瘍内科, 11(3), 325-31, 2013
18. 稲垣淳, 石田高司. 抗 CCR4 抗体医薬によ

る T 細胞性腫瘍の治療, (編者: 高久史磨), *Annual Review 血液* 2013, 158-164, 2013, 中外医学社(東京),

2. 学会発表

1. Jo T, Ishida T, Takemoto S, Suzushima H, Uozumi K, Yamamoto K, Uike N, Saburi Y, Nosaka K, Utsunomiya A, Tobinai K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Yoshida S, Taira N, Moriuchi Y, Imada K, Miyamoto T, Tomonaga M, Ueda R. 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. Ueda R, 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. 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. Takemoto S, Ishida T, Jo T, Uozumi K, Suzushima H, Yamamoto K, Uike N, Saburi Y, Nosaka K, Utsunomiya A, Tobinai K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Yoshida S, Taira N, Moriuchi Y, Imada K, Miyamoto T, Tsukasaki K, Tomonaga M, Ueda R. 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

特になし