

2014/1041A

厚生労働科学研究費補助金

がん対策推進総合研究事業(革新的がん医療実用化研究事業)

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験
(H24-実用化(がん)-一般-006)

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 上田 龍三

平成27(2015)年4月

目 次

I. 総括研究報告

研究代表者、治験調整委員長

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

(治験名; 進行又は再発固形がん患者に対するモガムリズマブの第 Ia/Ib 相多施設共同医師主導治験) 1

上田龍三 (愛知医科大学)

II. 分担研究報告

1. 液性免疫・細胞性免疫モニタリング 13
中山睿一 (川崎医療福祉大学)
2. 臨床治験管理、第 I a/ I b 相治験 19
土井俊彦 (国立がん研究センター東病院)
3. 抗体療法企画・管理 21
飯田真介 (名古屋市立大学)
4. 第 Ia/Ib 相臨床治験の実施及び管理 26
和田 尚 (大阪大学)
5. 第 I a/ I b 相臨床治験 29
岡 三喜男 (川崎医科大学)
6. 第 Ib 相治験の実施 34
垣見和宏 (東京大学)
7. 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 41
船越建 (慶應義塾大学)
8. 臨床治験 抗体療法モニタリング 45
石田高司 (名古屋市立大学)
9. 抗 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析 49
西川博嘉 (大阪大学)
10. 液性免疫・細胞性免疫モニタリング 54
鵜殿平一郎 (岡山大学)
11. 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 56
佐藤永一 (東京医科大学)

Ⅲ. 別添文書	59
1) 治験実施計画書（改訂 6.0 版）	
Ⅳ. 研究成果の刊行に関する一覧表	129
Ⅴ. 研究成果の刊行物・別刷	137

I. 総括研究報告書

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（平成 26 年度）

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

研究代表者 上田 龍三 愛知医科大学 教授

研究要旨

ヒト化抗 CCR4(C-C chemokine receptor type 4) モノクローナル抗体、Mogamulizumab (KW-0761)を用いた固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験は、順調に進み、平成 25 年度 10 月 21 日から Ib 相治験を開始した。26 年度は Ib 相治験を継続し、平成 27 年 4 月までに、39 例を登録、プロトコール治療を実施した。Ib 相治験においても、安全性と、末梢血中 Treg の効率的除去が確認された。治療効果については、PR 1 例、SD 3 例、PD 15 例と限定的であったが、付随研究により、治験薬投与後に腫瘍抗原(NY-ESO-1, XAGE-1b)に特異的な免疫応答の亢進効果がみられ、一定の免疫増強効果が確認された。今後、免疫チェックポイント分子に対する、抗体医薬や、腫瘍抗原ワクチンなどとの併用療法による、治療効果の向上が期待される。尚、平成 25 年度に終了した Ia 相治験症例については、1 年間の経過観察の後、平成 26 年 10 月 31 日にデータを固定して解析を行った。Ib 相のデータ固定は平成 27 年末に行う予定。

研究分担者

中山 睿一 川崎医療福祉大学医療福祉学部
教授

土井 俊彦 国立がん研究センター東病院先端
医療科 科長

飯田 真介 名古屋市立大学大学院医学研究科
血液・腫瘍内科学 教授

和田 尚 大阪大学医学系研究科・臨床腫瘍
免疫学 教授

岡 三喜男 川崎医科大学呼吸器内科学 教授

垣見 和宏 東京大学医学部附属病院免疫細胞
治療学講座 特任教授

船越 建 慶應義塾大学医学部皮膚科学
専任講師

石田 高司 名古屋市立大学大学院医学研究科
血液・腫瘍内科学 准教授

西川 博嘉 大阪大学免疫学フロンティア研究
センター実験免疫学 特任准教授

鶴殿 平一郎 岡山大学大学院医歯薬学総合研
究科免疫学分野 教授

佐藤 永一 東京医科大学医学総合研究所
准教授

A. 研究目的

腫瘍内における免疫抑制環境は、腫瘍の進行、予後と密接な関係にあることが明らかとなっている。著明な制御性 T 細胞(Treg)、M2 マクロファージの浸潤や、免疫チェックポイント分子により発せられる免疫抑制シグナルが免疫抑制環境を醸成する主因と考えられており、これらの免疫抑制に関わる免疫細胞や、分子は、がん免疫療法における標的となっている。近年、免疫チェックポイント抑制分子である、CTLA-4, PD-1, PD-L1 に対する、抗体医薬による治験が実施され、めざましい治療効果を上げていることは周知のとおりであり、癌治療における免疫抑制環境制御の重要性が実証されている。

我々は CCR4 の発現が、エフェクター Treg に対して選択的に認められることを

CD45RA/FoxP3/CCR4 の3重染色によるフローサイトメトリーにより明らかとし、また、抗 CCR4 モノクローナル抗体による Treg 除去が抗腫瘍免疫活性を亢進させることを、in vitro, in vivo で確認している(24年度、25年度実績を含む)。特に、成人 T 細胞白血病に対するポテリジオ投与後において Treg の著明な減少が、すべての患者においてみられたことや、HTLV-1 tax 抗原に対する、細胞傷害性 T 細胞の亢進が一部の患者においてみられたことから、本実用化研究課題である「固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 I a/ I b 相医師主導治験」を計画した。

24年度は、PMDA 事前面談、対面助言を経て確定した治験プロトコルに基づき、各治験参加施設倫理委員会の承認を得た後、Ia 相治験を開始した。25年度10月 Ia 相治験が終了し、重篤な副作用を伴うことなく、0.1 mg/kg - 1 mg/kg での忍容性と、すべての患者において末梢血中エフェクター Treg の除去効果が確認された。Ia 相治験の結果を受け、Ib 相治験では 0.1mg/kg と 1.0mg/kg のランダム化試験を実施し、これまでに(平成 27 年 4 月現在)、39 症例についてプロトコル治療を実施した。また同時に進行させた付随研究から今後のがん免疫治療に資する多くの重要な成果が得られた。

B. 研究方法

1) 第 I b 相治験

「研究体制」

研究代表者の所属する愛知医科大学に多施設臨床治験事務局を設置して本治験を統括し、Ia 相治験参加施設は国立がん研究センター東病院、大阪大学、川崎医科大学、名古屋市立大学 4 施設に加え、第 I b 相治験には東京大学、および慶応大学を加えた 6 施設で実施した(図 1)。これらの施設では、多施設共同研究および医師主導臨床治験においても豊富な経験を持つ。第 I b 相から治験に参加する東京大学、および慶応大学においては、それぞれ、平 25. 9/26、平 25. 11/12 に IRB 承認を得た。Treg および抗原特異的免疫反応の解析は大阪大学、岡山大学、川崎医科大学で行った。また、NY-ESO-1, XAGE1b 及び CCR4 の発現解析は、東京医科大学にて行

なった。尚、本年度より、大阪大学大学院医学系研究科・腫瘍免疫学 和田 尚 特任教授を研究分担者として加え、治療効果の科学的エビデンスの強化を図った。また、これまでどおり愛知医科大学医学部腫瘍免疫寄附講座 准教授 鈴木 進、及び、愛知医科大学医学部高度研究機器部門 教授 吉川和宏が、本研究を支援した。

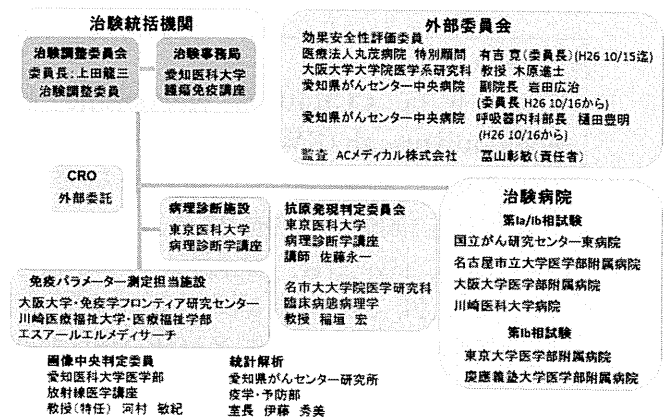


図 1 治験組織図

「治験基本デザイン」

Ia 相治験で 0.1 mg/kg - 1 mg/kg での忍容性が確認されたことを受け、0.1mg/kg(20 症例)と 1.0mg/kg(20 症例)の 2 群でランダム化試験を実施した。Mogamulizumab を毎週 1 回計 8 回投与し、安全性と、末梢血中 Treg 除去効果を主要評価項目とし、副次目的として、有効性を評価した。第 Ia/Ib 相ともに有効性は RECIST 及び RECIST 変法にて評価するとともに、無増悪生存期間 (PFS)、全生存期間 (OS) を観察した。腫瘍抗原特異的液性反応は ELISA 法にて評価した。また付随研究として細胞性免疫反応を ELISPOT 法、サイトカイン捕捉法、細胞内サイ

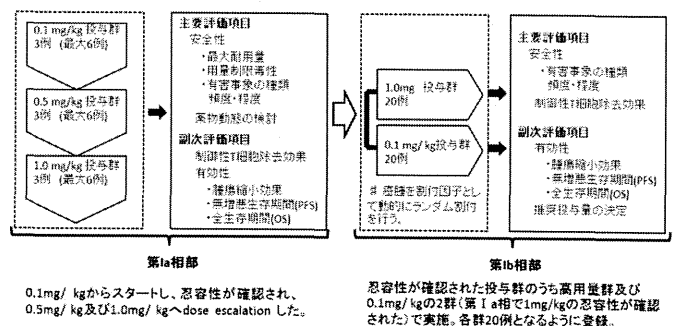


図 2 治験計画の概要

トカイン染色法で解析したほか、Treg の機能活

性についても検討した。さらに、モニタリングマーカーの探索についても実施した（図2）。

2) 附随研究

治療と免疫動態との関連について明らかにするため、付随研究として、分担研究者、研究協力者により、治験と並行して、下記の研究が、実施されている。

- ① 抗CCR4抗体投与と制御性T細胞の関連の解析；大阪大学特任准教授 西川博嘉
- ② Mogamulizumab 投与ATL患者における、Treg及び特異的免疫の動態解析；名市大准教授 石田高司
- ③ XAGE-1b およびNY-ESO-1 抗原特異的抗体反応およびCD4、CD8 T細胞反応の解析、T細胞表面マーカー解析；川崎医療福祉大学教授 中山睿一
- ④ 健常者、がん患者におけるPD-1、Tim-3の発現解析；岡山大学教授 鶴殿平一郎
- ⑤ 癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析；東大附属病院特任教授 垣見和宏
- ⑥ 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；慶応大学助教 船越健
- ⑦ 腫瘍内FoxP3陽性細胞のCCR4発現解析、ADCCエフェクター細胞浸潤状況の検討。並びに市販PD-L1抗体反応性の検討；愛知医科大学 准教授 鈴木 進

(倫理面への配慮)

- 1. 本研究は多施設共同の医師主導治験としてGCPに則り実施している。
- 2. 本臨床研究への参加はヘルシンキ宣言にのっとり、十分な説明のもと本人の書面による同意（インフォームド・コンセント）を得て実施されている。
- 3. 検体の解析は院内IRBの承認後関連する指針を遵守して実施する。本研究は本人の書面による同意を得て実施され、検体は匿名化され、情報は厳重に管理している。

C. 研究結果

1) 第Ib相治験

第Ia相治験の結果を踏まえ、効果安全性評価委員会において、DLT発現が無かったことの確認と、忍容量を1.0mg/kgとすることの承認を得た後、平成25年10月21日から、第Ib相での患者登録が開始された。癌種を割り付け因子として動的にランダム割り付けを行い、平成27年4月現在、合計39名の患者（肺がん12例、食道がん11例、胃がん5例、悪性黒色腫6例、卵巣がん5例）にプロトコール治療が実施された（表1）。

表1 第Ib相治験患者登録状況

登録No.	施設名	登録No.	施設名
肺がん(12例)		食道がん(11例)	
B-03	川崎医大	B-01	国がん東
B-15	東京大	B-08	国がん東
B-16	川崎医大	B-09	大阪大
B-18	川崎医大	B-10	大阪大
B-19	川崎医大	B-11	名市大
B-20	名市大	B-27	国がん東
B-23	川崎医大	B-30	名市大
B-25	川崎医大	B-34	東京大
B-32	川崎医大	B-35	東京大
B-28#	東京大	B-37	国がん東
B-31#	東京大	B-39	東京大
B-36#	東京大	胃がん(5例)	
悪性黒色腫(6例)		B-14	国がん東
B-04	慶応大	B-17	国がん東
B-05	慶応大	B-24	大阪大
B-06	慶応大	B-26	大阪大
B-07	名市大	B-29	国がん東
B-12	慶応大	卵巣がん(5例)	
B-21	名市大	B-02	大阪大
		B-13	大阪大
		B-22	名市大
		B-33	大阪大
		B-38	大阪大

悪性胸膜中皮腫

有害事象は皮疹も含め、重篤な症例はみられなかった。また、0.1 mg/kg 投与群、1.0 mg/kg 投与群の間で有害事象の頻度、症状に有意差はみられなかった。Treg 除去効果は登録症例 39 例のうち、投与後、5 週間目の検査が終了した 38 例全例においてみられた（図3）。

エフェクターTreg(CD4+/CD45RA-/FoxP3++) 分画は、投与5週後には、ベースラインを100%としたとき、概ね20%以下に低下した。そして、投与終了または中止後、次第に回復した。維持投与を実施した症例1例については、20%以下にコントロールされた（図3）。

効率的なエフェクターTreg 除去効果がみられたにもかかわらず、臨床効果は限定的で、PR

1 例、SD 3 例、PD 15 例にとどまった。

尚、平成 25 年度に終了した Ia 相治験症例については、1 年間の経過観察の後、平成 26 年 10 月 31 日にデータを固定した。結果の概要を表 2 に示した。投与量増量試験により 1.0

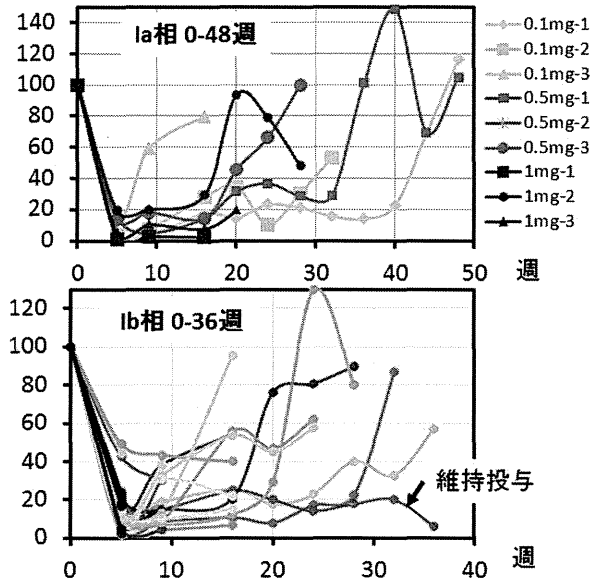


図3 治験薬投与後のエフェクターTregの推移

mg/kg での忍容性及び Treg 除去効果が確認された。いずれの投与群においても Grade2 を越える有害事象はみられなかったが、皮疹の発生が特徴的にみられた。有効性については検討可能であった 8 例について判定したところ、RECIST 法及び RECIST 変法にて共に SD 4 例、PD 4 例となった。

表 2 第 Ia 相治験患者固定データの概要

投与量 mg/kg	登録 No.	がん種	施設名	病期	投与 回数	皮疹グ レード	RECIST	Treg 除去効果	抗体免疫反応 (抗原発現)	
									NY-ESO-1	XAGE-1b
0.1	A1-01	肺	川医	ⅢB	14	2	SD	あり	低下 (陽性)	なし (陰性)
	A1-02	肺	川医	Ⅳ	11	1	SD	あり	なし (陽性)	なし (陰性)
	A1-03	肺	名市	ⅢA	6	2	PD	あり	低下 (陰性)	なし (陰性)
0.5	A2-01	肺	川医	ⅡA	11	2	SD	あり	上昇 (陽性)	上昇 (陽性)
	A2-02	肺	名市	ⅢA	7	-	病状 悪化	あり	なし (陰性)	なし (陰性)
	A2-03	食道	国東	Ⅳ	9	1	SD	あり	なし (陰性)	なし (陰性)
1	A3-01	食道	国東	ⅣA	8	-	PD	あり	なし (陰性)	低下 (陰性)
	A3-02	肺	国東	Ⅳ	7	2	PD	あり	なし (陰性)	低下 (陽性)
	A3-03	食道	阪大	ⅢC	3	-	病状 悪化	(治験薬投与後のデータなし)		
	A3-04	肺	川医	Ⅳ	8	1	PD	あり	なし (陰性)	上昇 (陽性)

3) 附随研究

附随研究成果の概略を以下に示した。詳細は各分担研究報告を参照されたい。

① 抗 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析

a. 治験薬投与患者 (Ia 相 10 名、Ib 相 7 名) の末梢血検体を解析した。全症例において投与 5 週目ではエフェクター Tregs の有意な減少が認められた。一方で、病態の安定により投与を継続された患者で、再発前にエフェクター Tregs の頻度の上昇する例がみられた。

b. 投与前後で腫瘍局所の生検検体が得られた胃癌症例 (OUH-10) において治験薬投与前では末梢血 (4.27%) および腫瘍局所 (11.3%) と高頻度のエフェクター Tregs が認められたが、投与終了後には末梢血ではエフェクター Tregs が 0.23% に除去されるとともに、腫瘍局所においても 3.96% に減少が認められた。

② Mogamulizumab 投与 ATL 患者における、Treg 及び特異的免疫の動態解析

a. 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する一方、naïve Treg の存在比率は上昇することが明らかになった。

b. Grade 3 以上の皮膚障害を示した患者は有意に無増悪生存期間 (PFS) が延長しており、全生存 (OS) 期間の延長傾向を認めた。

c. ATL 細胞は CD45RA、FOXP3 の発現レベルから i) effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi}) タイプ、ii) non-Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{lo}) タイプ、iii) others に分類可能であり、このうち i) はポテリジオ治療への反応性が良好で、生存期間の延長を認めた。

③ XAGE-1b および NY-ESO-1 抗原特異的抗体反応および CD4、CD8 T 細胞反応の解析、T 細胞表面マーカー解析

a. Ib 相部において XAGE-1b 抗原が陽性であった 29 例中 8 例において XAGE-1b 抗体反応は、3 例で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与 9 週時点で 1 例において抗体価の有意な上昇を認め、2 例において有意な低下を認めた。NY-ESO-1 抗原は 29 例中 7 例陽性で、NY-ESO-1 抗体反応は、4 例で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与 9 週時点で 4 例 (内 1 例は投薬前に陰性) において抗体価の有意な上昇を認めた。治験薬投与前に陽性であった 4 例のう

ちの1例で有意な低下を認めた。

b. XAGE-1b 抗原陽性3例のうち、2例でベースライン、7週、12週の抗原特異的T細胞免疫応答を検討した結果、抗原特異的なT細胞免疫応答 (TNF- α) はCD4について2例全例で上昇し、CD8は1症例のみ上昇を認めた。NY-ESO-1抗原陽性3例で同様の検討を行い、抗原特異的なT細胞免疫応答 (IFN γ) はCD4について3例全例で上昇、CD8は1症例のみ上昇を認めた。

c. MDSC 分画の解析をIa相10例のうち、付随研究の検体を採取できた7例において実施した(図1)。MDSC分画は7週において7例中6例で増加し、7週で増加を認めなかった1例についても投与24週で増加を認めた。さらに、MDSC分画が7週時点でベースラインと比較し3倍以上に増加した3例は12週で全例PD、3倍未満であった4例は12週で全例SDであった。

d. Ia相10例のうち、付随研究の検体を採取できた7例において経時的にT細胞表面抑制性および活性化分子 (PD-1, Tim-3, LAG-3, GITR, OX-40, ICOS, 4-1BB, BTLA)の発現を検討したところ、CD4+T細胞、CD8+T細胞双方において、ICOSの顕著な上昇がみられた。

④ 健常者、がん患者におけるPD-1, Tim-3の発現解析

PMA/ionomycin 刺激後の末梢血単核球中のCD8T細胞における疲弊分子PD-1, Tim-3の発現とサイトカインの産生について検討した。治験薬投与後の患者CD8T細胞のTim-3陽性細胞の減少と多機能性(サイトカイン同時産生能)上昇から、治験薬による制御性T細胞の除去により、末梢血CD8T細胞は活性化していると予想された。

⑤ 癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析

投与後、胸水中、心嚢水中、リンパ球のTregの推移について検討。胸水中リンパ球においては、エフェクターTregの低下がみられた。心嚢水中のリンパ球では減少はみられなかった。また、胸水中リンパ球においては投与後、

免疫チェックポイント分子(PD-1, Tim-3, LAG3, BTLA)の発現が上昇した。心嚢水中リンパ球と心嚢水中腫瘍細胞を共培養したところ、リンパ球が強く活性化された。

⑥ 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

悪性黒色腫患者でのNY-ESO-1, XAGE-1b発現は、がんの進展従って、上昇することが示された。また、転移部位のXAGE-1bの発現は、予後が「悪い」ことが示され、予後因子となることが考えられた。

⑦ 腫瘍内FoxP3陽性細胞のCCR4発現解析、ADCCエフェクター細胞浸潤状況の検討。並びに市販PD-L1抗体反応性の検討

a. 市販の肺扁平上皮癌がんパラフィン切片(31症例)を使って、FoxP3陽性細胞におけるCCR4の発現について免疫組織学的に検討した(図4)。FoxP3陽性細胞中のCCR4陽性率は10-70%と症例によってまちまちであった。ま

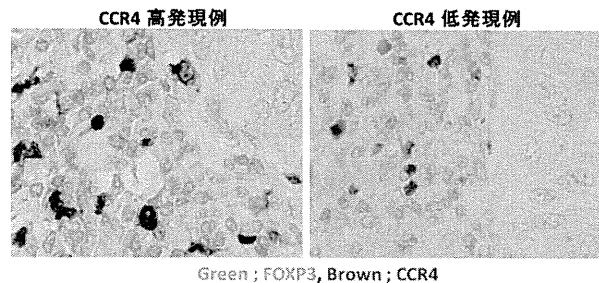


図4 FoxP3陽性細胞上CCR4の発現

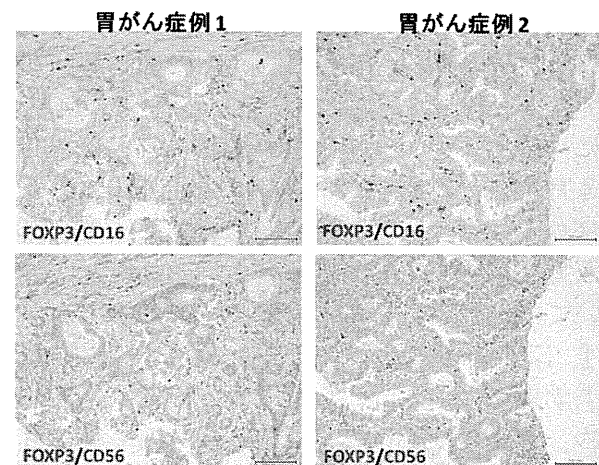


図5 胃がんにおけるNK細胞の浸潤

た、市販の胃がんパラフィン切片(30症例)を使ってNKなど、ADCCエフェクター細胞の浸

潤について、CD56, CD57, CD16, CD15, CD69, を用いた免疫染色で検討した。ADCC 活性において、必須である CD16 陽性細胞はいずれの組織においても、強く浸潤していることが確認されたが、CD16 発現細胞の大半が、単球、マクロファージ、好中球であり、ADCC 効果の高い、NK 細胞の浸潤は極めて低かった (図 5)。

b. Mogamurizumab と、PD-1 抗体医薬の併用療法に向け、市販 PD-L1 抗体 (8 種類) の免疫染色での反応性について検討した。PD-L1 モノクローナル抗体 (clone; 29E. 2A3) を用いたフローサイトメトリーで、PD-L1 の発現について検討した細胞株をパラフィン包埋し、染色性について検討した。メーカー間で染色性はまちまちであり、用いた抗体によって、実験結果が異なる可能性が示唆された。今後、詳細な比較検討を行い、免疫染色に適した抗体の選択を実施したい。

5) プロトコール改訂

26 年度は以下に示したようにプロトコールの改訂を 2 度にわたり実施した。

a. 第 5.0 版 (平 26. 10/16)

効果安全評価委員の変更

b. 第 6.0 版 (平 27. 2/23)

治験期間の延長

D. 考察

医師主導治験として順調に患者登録、プロトコール治療が進み、Ia 相については半年前倒しで完了し、Ib 相についても、25 年度内に 14 症例についてプロコール治療が開始され、平成 27 年 4 月現在、39 症例 (Ib 相目標 40 症例) についてプロトコール治療を実施している。Ia 相、Ib 相双方において主要評価項目である、安全性については、皮疹も含め、重篤な有害事象はみられず、ほぼ満足のいく結果となった。また、Treg 除去効果については、全例において減少効果を認め、治験薬の標的に対する直接的効果が証明された。しかしながら、治療効果については PR 1 例、SD 3 例、PD 15 例と限定的であった。理由として、腫瘍内における Treg 除去が不十分である可能性が考えられる。附随研究において、

大阪大学 西川准教授は、胃癌症例投与前後で末梢血におけるエフェクター Treg の減少に比べ、腫瘍内エフェクター Treg の減少は、効率が劣ることを報告している。愛知医科大学 鈴木准教授から、胃癌における NK 細胞の浸潤が極めて少ないことが示されていることから、腫瘍内で ADCC が生じにくく、Treg 除去が不十分となり、十分な治療効果に繋がらない可能性が考えられる。ただ、マクロファージ、好中球は、強く浸潤しており、これらの細胞は強く CD16 を発現しているため、マクロファージ、好中球が腫瘍内で ADCC 活性を有するのかがどうか明らかにしていく必要がある。また、データはないものの、組織内への抗体の侵入が不十分である可能性もあり得る。Mogamulizumab 特異的な抗体を用いた、免疫染色などによって、腫瘍内へ侵入した Mogamulizumab の定量的解析も重要である。また、腫瘍内 FoxP3 陽性細胞における CCR4 の発現が症例によって様々であることが示された。末梢血においては、CCR4 の発現が、FoxP3 陽性細胞 Treg 機能と相関することが明らかとなっているが、腫瘍内でも同じことがいえるのかがどうか検討する必要性が感じられた。現在、その前検討として、FoxP3/CCR4 の二重染色により、FoxP3+/CCR4+ 浸潤細胞数、FoxP3+/CCR4- 浸潤細胞数で比較したときに、予後など、臨床パラメータとの間に差があるかどうか検討する予定である。もし、FoxP3+/CCR4- 細胞の多くが Treg 活性を有するとすれば、CCR4 単独では Treg の標的分子として不十分である可能性も生じる。

しかしながら、治験薬投与後に、腫瘍内に近い環境下の胸水中 T 細胞、心嚢水中 T 細胞において活性化が見られることが、東京大学垣見教授より報告されている。また、末梢血中では、治験薬投与後に腫瘍抗原に対する特異的免疫の亢進が、川崎医療福祉大学 中山教授より報告されている。これらのデータは、十分な治療効果には至らないまでも、Treg 除去が、免疫の活性亢進を引き起こしているものと考えられる。PD-1 抗体など、免疫チェックポイント分子に対する抗体医薬との併用や、腫瘍免疫ワクチンとの併用などによる、免疫療法への展開が期待される。

免疫チェックポイント分子の発現を中心に治療効果のバイオマーカーについて検討した。中山教授らは、Ia 相治療症例において、免疫チェックポイント分子の推移について検討している。投薬後、発現が低下する分子、上昇する分子が示された。ICOS の動きが最も顕著であり、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞ともに発現の上昇がみられた。また、岡山大学 鶴殿教授らは、投薬後の患者末梢血の Tim-3 発現量と、マルチサイトカイン産生能との間に負の相関を見いだしている。いずれも、今後のさらなる検討により、マーカーとしての位置づけが明確になることが期待される。

尚、名古屋市立大学 飯田教授により計画されている治験治療を受けた患者由来末梢血を用いた GWAS 解析については、現在進行中で、近日中に結果が得られる予定である。有害事象との関連性が明らかになることを期待している。

当初の予定どおり、26 年度中に Ib 相治験の登録がほぼ終了し、データ固定待ちの状況となっている。27 年度中には、終了し、結果が明らかになる予定。結果を踏まえて、PD-1 抗体との併用など、Mogamulizumab の Treg 除去をベースとした免疫治療法の発展を目指す考えである。

E. 結論

1) Ib 相治験登録、プロトコール治療をほぼ完了した。安全性と、Treg 除去効果が確認された。

2) 治療効果は、限定的であったが、腫瘍特異的免疫応答の増強がみられた。PD-1 抗体医薬や、腫瘍抗原ワクチン等との併用療法による、治療効果の向上が期待される。

3) 症例によっては、腫瘍内における、Treg の除去が不十分となる可能性が示唆された。投薬後の腫瘍内の Treg の減少についての検討が重要と考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 関連論文発表

英文

1. Masaki A, **Ishida T**, Maeda Y, Suzuki S, Ito A, Takino H, Ogura H, Totani H, Yoshida T, Kinoshita S, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Inagaki A, Komatsu H, Niimi A, **Ueda R**, Utsunomiya A, Inagaki H, **Iida S**. Prognostic Significance of Tryptophan Catabolism in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. Clin Cancer Res. 2015 Mar 18. [Epub ahead of print].
2. **Ishida T**, Jo 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, Akinaga S, Tomonaga M, **Ueda R**. Dose-intensified chemotherapy alone or in combination with mogamulizumab in newly diagnosed aggressive ATL: a randomized phase II study. Br J Haematol. In press
3. Ifuku H, Kusumoto S, Tanaka Y, Totani H, **Ishida T**, Okada M, Murakami S, Mizokami M, **Ueda R**, **Iida S**. Fatal reactivation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. Hepatol Res. In press.
4. Totani H, Kusumoto S, **Ishida T**, Masuda A, Yoshida T, Ito A, Ri M, Komatsu H, Murakami S, Mizokami M, **Ueda R**, Niimi A, Inagaki H, Tanaka Y, **Iida S**. Reactivation of hepatitis B virus (HBV) infection in adult T-cell leukemia-lymphoma patients with resolved HBV infection following systemic chemotherapy. Int J Hematol. 2015 Apr;101(4):398-404.
5. Suzuki T, Kusumoto S, Masaki A, **Ishida T**, Inagaki H, **Iida S**, Mori F. CD30-positive primary bone marrow lymphoma mimicking Hodgkin lymphoma. Int J Hematol. 2015 Feb;101(2):109-11.
6. Suzuki S, **Ishida T**, Yoshikawa K, **Ueda R**. Progress in clinical use of CCR4 antibody for regulatory T cell suppression. Inflammation and Immunity in Cancer. Springer, 207-227, 2015
7. 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)
8. 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)
 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.
 11. 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*. 2014 Jun;45(6):1192-8.
 12. **Ueda R**, Suzuki S, Yoshikawa K, **Ishida T**; Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody. Recent advances in cancer immunotherapy, Princess Takamatsu Cancer Research Fund, pp82-87,2014
 13. Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, **Nakayama E** and **Udono H**. Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Pros Natl Acad Sci USA*, 112(6): 1809-1814, 2015.
 14. Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, Nishio Y, Uenaka A, **Oka M** and **Nakayama E**. Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an anti-human CCR4 mAb (KM2760). *Journal of Thoracic Oncology*, 10(1): 74-83, 2014.
 15. Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, **Oka M** and **Nakayama E**. Prolongation of overall survival in advanced lung adenocarcinoma patients with the XAGE1 (GAGED2a) antibody. *Clin. Cancer Res.*, Oct 1, 20(19): 5052-63, 2014.
 16. Ohue Y, **Wada H**, **Oka M** and **Nakayama E**. Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in cancer patients. *OncoImmunology*, 3:11, e970032; December 1, 2014.
 17. Pandey, J, Namboodiri, A, Ohue, Y, **Oka, M**, **Nakayama, E**. Genetic variants of immunoglobulin γ and κ chains influence humoral immunity to the cancer-testis antigen XAGE-1b (GAGED2a) in patients with non-small cell lung cancer. *Clin Exp Immunol*, 176(1): 78-83, 2014.
 18. Uehara T, Fujiwara T, Takeda K, Kunisada T, Ozaki T, **Udono H**. Immunotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcomas. *BioMed Research International*, Article ID 820813, 2014.
 19. Ichiyanagi T, Ichiyanagi K, Ogawa A, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chuma S, Sasaki H, **Udono H**. HSP90 α plays an important role in piRNA biogenesis and retrotransposon repression in mouse. *Nucleic Acids Res*. 42(19): 11903-11, 2014.
 20. Eikawa S, **Udono H**. Monitoring multifunctionality of immune-exhausted CD8 T cells in cancer bearing patients. *Methods in Mol Biol.*, 1142: 11-7, 2014.
 21. **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, **Doki Y**, **Oka M**, **Nakayama E**. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in patients with cancers expressing NY-ESO-1 antigen. *Journal of Immunotherapy*, 37(2): 84-92, 2014.
 22. Maeda Y, **Nishikawa H**, Sugiyama D, Ha D, Hamaguchi M, Saito T, Nishioka M, Wing JB, Adeegbe D, Katayama I and Shakaguchi S; Regulatory T cells drive autoimmune T cells into a distinct T-cell subpopulation functionally anergic and expressing CTLA-4. *Science*. 346(6216):1536-1540 2014 doi:

- 10.1126/science.aaa1292.
23. Matsumoto M, Baba A, Yokota T, **Nishikawa H**, Ohkawa Y, Kayama H, Kallies A, Nutt SL, Sakaguchi S, Takeda K, Kurosaki T and Baba Y.; "Interleukin-10-Producing Plasmablasts Exert Regulatory Function in Autoimmune Inflammation. *Immunity*. 41(6):1040-1051 2014 doi: 10.1016/j.immuni.2014.10.016.
 24. **Nishikawa H**, Sakaguchi S; Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. Jan 9;27:1-7 2014.
 25. Ito Y, Hashimoto M, Hirota K, Ohkura N, Morikawa H, **Nishikawa H**, Tanaka A, Furu M, Ito H, Fujii T, Nomura T, Yamazaki S, Morita A, Vignali DAA, Kappler JW, Matsuda S, Mimori T, Sakaguchi N and Sakaguchi S.; Detection of T-cell responses to a ubiquitous cellular protein in autoimmune disease. *Science*. 346(6207):363-368 2014 doi: 10.1126/science.1259077.
 26. Saito T, Wada H, Yamasaki M, Miyata H, **Nishikawa H**, Sato E, Kageyama S, Shiku H, Mori M, **Doki Y**.; High expression of MAGE-A4 and MHC class I antigens in tumor cells and induction of MAGE-A4 immune responses are prognostic markers of CHP-MAGE-A4 cancer vaccine. *Vaccine*. 32(45):5901-7 2014 doi: 10.1016/j.vaccine.2014.09.002.
 27. Mizote Y, Uenaka A, Isobe M, **Wada H**, **Kakimi K**, Saika T, Kita S, Koide Y, **Oka M**, **Nakayama E**. Production of NY-ESO-1 peptide/DRB1*08:03 tetramers and ex vivo detection of CD4 T-cell responses in vaccinated cancer patients. *Vaccine*. 32(8):957-64. 2014
 28. Ichimura T, Morikawa T, Kawai T, Nakagawa T, Matsushita H, **Kakimi K**, Kume H, Ishikawa S, Homma Y, Fukayama M. Prognostic Significance of CD204-Positive Macrophages in Upper Urinary Tract Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2014 Jun;21(6):2105-12
 29. Wada I, Matsushita H, Noji S, Mori K, Yamashita H, Nomura S, Shimizu N, Seto Y, **Kakimi K**. Intraperitoneal injection of in vitro expanded V γ 9V δ 2 T cells together with zoledronate for the treatment of malignant ascites due to gastric cancer. *Cancer Med*. 2014 Apr;3(2):362-75.
 30. Hosoi A, Matsushita H, Shimizu K, Fujii S, Ueha S, Abe J, Kurachi M, Maekawa R, Matsushima K, **Kakimi K**. Adoptive cytotoxic T lymphocyte therapy triggers a counter-regulatory immunosuppressive mechanism via recruitment of myeloid-derived suppressor cells. *Int J Cancer*. 2014 Apr 15;134(8):1810-22.
 31. Yamada D, Matsushita H, Azuma T, Nakagawa T, Nagata M, Yamada Y, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Kume H, Homma Y, **Kakimi K**. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor as a predictor of the response of metastatic renal cell carcinoma to tyrosine kinase inhibitor therapy. *Mol Clin Oncol*. 2014 Nov;2(6):1023-1027.
 32. Matsushita H, Hosoi A, Ueha S, Abe J, Fujieda N, Tomura M, Maekawa R, Matsushima K, Ohara O, **Kakimi K**. Cytotoxic T lymphocytes block tumor growth both by lytic activity and IFN- γ -dependent cell cycle arrest. *Cancer Immunol Res*. 2015 Jan;3(1):26-36.
 33. Matsushita H, Enomoto H, Kume H, Nakagawa T, Fukuhara H, Suzuki M, Fujimura T, Homma Y and **Kakimi K**. A pilot study of autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination combined with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2014 Aug 19;2:30.
 34. Futami J, Fujiyama H, Kinoshita R, Nonomura H, Honjo T, Tada H, Matsushita H, Abe Y, **Kakimi K**. Denatured mammalian protein mixtures exhibit unusually high solubility in nucleic acid-free pure water. *PLoS One*. 2014 Nov 18;9(11):e113295.
 35. Kobayashi T, **Kakimi K**, **Nakayama E**, Jimbow K. Antitumor immunity by magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia. *Nanomedicine (Lond)*. 2014 Aug;9(11):1715-26.
 36. Ueha S, Yokochi S, Ishiwata Y, Ogiwara H, Chand K, Nakajima T, Hachiga K, Shichino S, Terashima Y, Toda E, Shand FH, **Kakimi K**, Ito S, Matsushima K. Robust anti-tumor effects of combined anti-CD4 depleting antibody and anti-PD-1/PD-L1 immune checkpoint antibody treatment in mice. *Cancer Immunol Res*. 2015 Feb 20. pii: canimm.0190.2014.
- 和文
1. 鈴木 進, 石田 高司, 吉川 和宏, 上田 龍三: モガムリズマブ The Frontiers in Life Sciences. 生命科学から創薬へのイノベーション 南山堂 183-95 2014
 2. 河上 裕, 上田龍三: 新たな時代を迎えたがん免疫療法. *Immuno-Oncology*

Frontier, 1(1):2015-1, p5

3. 黒瀬浩史、岡 三喜男、中山睿一：基礎：抗 CCR4 抗体の制御性 T 細胞への影響と臨床応用の可能性、最新医学、70(3): 393-398, 2014.
4. 岡 三喜男、大植祥弘、黒瀬浩史：特集：これから期待される肺癌診断と治療：抗体免疫療法、呼吸器内科、26(6):431-437, 2014
5. 岡 三喜男、大植祥弘、黒瀬浩史、中山睿一：がん精巢抗原に対する免疫応答とその臨床的意義、BIO Clinica 30(3):31-35, 2015
6. 黒瀬浩史、岡 三喜男、中山睿一：抗 CCR4 抗体の制御性 T 細胞への影響と臨床応用の可能性、最新医学、70(3):393-398, 2015
7. 杉山大介、西川博嘉：制御性 T 細胞および免疫チェックポイント分子の解除による抗腫瘍免疫応答増強の可能性 がん分子標的治療 2014;12:84-88.
8. 島津 裕、西川博嘉：制御性 T 細胞によるがん抗原特異的 T 細胞の抑制 癌と化学療法 2014;41:1057-1061
9. 長瀬博次、西塔拓郎、和田 尚、西川博嘉：抑制性 T 細胞の同定と機能評価 Surgery Frontier 2014;21:70-75
10. 杉山大介、西川博嘉：成人 T 細胞白血病に対する免疫療法 血液フロンティア 2014;63-69
11. 西川博嘉：制御性 T 細胞とがん免疫療法 臨床血液 2014;55:475-481
12. 西川博嘉、坂口志文：ヒト制御性 T 細胞の解析 医学のあゆみ 2015.252.69-74
13. 西川博嘉：Visual View がん免疫療法のメカニズム Immuno-Oncology Frontier 2015.1.10-13
14. 和田 尚：抗 PD-1 抗体の泌尿器科疾患、消化器疾患への応用 最新医学 70(3): 421-427 2015
15. 柴川伸吾、鵜殿平一郎：T 細胞の免疫疲弊と免疫チェックポイント分子、最新医学 70 巻 3 号: 62-68, 2014.

学会発表 (総括研究者のみ)

海外

1. Ryuzo Ueda (講演) : CCR4: Novel targets for Adult T-cell leukemia (ATL) and cancer immunotherapy. 平成 26 年 9 月 10 日 Seminar at the Cancer Science Institute, Singapore
 2. Ryuzo Ueda (講演) : CCR4: Novel targets for Adult T-cell leukemia (ATL) and cancer immunotherapy. 平成 26 年 9 月 11 日 Seminar at the National University Cancer Institute, Singapore
 3. Ryuzo Ueda (講演) : Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody、Hematology/Oncology、H26 年 10 月 9 日、マウントサイナイ大学 Tisch 癌研究所(NY).
 4. Nishio-Nagai M, Suzuki S, Hayashi T, Ohmura Y, Yamada Y, Yoshikawa K, Ueda R and Kazaoka Y.: Chemo-immunotherapy with CTL and 5-fluorouracil (5FU) for head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). Poster Abstracts, 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium. NY(The Grand Hyatt New York), October 5-8, 2014.
- 国内
1. Ueda R : Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody. The 30th Nagoya International Cancer Treatment Symposium. Nagoya(Aichi Cancer Center), February 14-15, 2015.
 2. Ryuzo Ueda (Speaker) : Clinical Application of anti-CCR4 Monoclonal antibody-Antibody Therapy (抗 CCR4 抗体薬の臨床応用-抗体療法) . The Forty-fifth International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund、Recent Advances in Cancer Immunotherapy (公益財団法人 高松宮妃癌研究基金第 45 回国際シンポジウム、がん免疫療法の近年の進歩) . H26 年 11 月 19 日、Tokyo(Palace Hotel Tokyo).
 3. 正木彩子、石田高司、前田康博、稲垣淳、鈴木進、伊藤旭、成田朋子、榊原健夫、滝野寿、李政樹、楠本茂、小松弘和、上田龍三、稲垣宏、宇都宮與、飯田真介 : 成人 T 細胞性白血病 / リンパ腫における indoleamine

- 2,3-dioxygenase の臨床的意義. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会 (ポスターセッション)、6 月 21 日、山形、日本リンパ網内系学会誌、54:109, 2014.
4. 正木彩子、滝野寿、青山峰芳、夏洪晶、山田勢至、佐藤文彦、葛岩、李政樹、石田高司、上田龍三、宇都宮與、浅井清文、稲垣宏：miR-145 down-regulation が成人 T 細胞白血病 / リンパ腫の予後に与える影響. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会 (ポスターセッション)、6 月 21 日、山形、日本リンパ網内系学会誌、54:118, 2014.
 5. 丸山大、永井宏和、前田嘉信、塚崎邦弘、上田龍三：再発・難治性の日本人末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL) 患者を対象とした pralatrexate の第 I/II 相臨床試験. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会 (ポスターセッション)、6 月 21 日、山形、日本リンパ網内系学会誌、54:120, 2014.
 6. 上田龍三：がん免疫療法の現状と将来の展望. 第 18 回日本がん分子標的治療学会 (シンポジウム；基調講演)、6 月 27 日、仙台、第 18 回学術集会プログラム・抄録集、18:68, 2014. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会 (ポスターセッション)、6 月 21 日、山形、日本リンパ網内系学会誌、54:118, 2014.
 7. 長瀬博次、和田 尚、西川博嘉、鈴木 進、平家勇司、小嶋隆嗣、垣見和宏、船越 建、飯田真介、石田高司、佐藤永一、鶴殿平一郎、岡三喜男、中山睿一、土岐祐一郎、上田龍三：制御性 T 細胞解析方法の標準化に向けた多施設共同研究. 第 18 回日本がん免疫学会総会、7 月 31 日、松山、日本がん免疫学会総会抄録集、18:97, 2014.
 8. 上田龍三：ATL 治療抗体薬 Mogamulizumab の開発研究. 第 52 回日本癌治療学会学術集会 (シンポジウム；講演)、8 月 29 日、横浜、JSCO 49(3):537, 2014.
 9. 石田高司、上田龍三：Tregs 除去薬モガムリズムマブ. 第 52 回日本癌治療学会学術集会 (シンポジウム)、8 月 29 日、横浜、JSCO 49(3) : 626, 2014
 10. 石田高司、鈴木 進、上田龍三：CCR4 を標的抗原とする、新規がん免疫療法. 第 73 回日本癌学会学術総会、9 月 26 日、横浜、第 73 回日本癌学会学術総会抄録集、73, 2014.
 11. 西尾麻矢子、鈴木 進、大村元伸、山田陽一、上田龍三、吉川和宏、風岡宜暁：口頸部扁平上皮癌 (HNSCC) における 5-フルオロウラシル (5-FU) 併用免疫療法. 第 73 回日本癌学会学術総会、9 月 27 日、横浜、第 73 回日本癌学会学術総会抄録集、73: ,2014.
 12. 上田龍三 (特別講演)：日本初抗がん薬の開発研究の経緯とその展開—アカデミアがリードする創薬と標準治療の確立そして革新—モガムリズムマブを例として—NCCN ガイドライン日本語版 造血器腫瘍領域公開記念シンポジウム (TRI) (第 76 回日本血液学会学術集会)、H26 年 11 月 2 日、大阪(大阪国際会議場).
 13. 上田龍三 (講演)：CCR4:Nover1 target for cancer immunotherapy. Perspectives in anticancer Drug Discovery and Development. DSK Symposium 2014. H26 年 11 月 11 日、京都(京都大学)..
 14. 上田龍三 (シボ講演)：我が国初の抗がん抗体薬の開発経験. 新世代のがん分子標的治療戦略シンポジウム、京都府立シンポジウム、平成 26 年 12 月 6 日、京都 (京都国際会議場)
 15. 上田龍三 (座長)：変貌するがん免疫療法の理解と臨床効果の時代に向けて. 第 10 回トランスレーショナルリサーチワークショップ、日本がん分子標的治療学会、平成 27 年 1 月 20 日、東京 (都市センターホテル)
 16. 上田龍三 (講演)：固形がんの免疫療法における抗 CCR4 抗体の役割. 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会ランチョンセミナー、平成 27 年 2 月 28 日、東京 (東京ガーデンパレス)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 - 1) XAGE-1b 特異的免疫反応を誘導するペプチドおよびその利用 (特許第 5709108 号)

2) 免疫評価方法とその評価された免疫活性化剤(特願 2014-166593)

2. 実用新案登録
なし。

3. その他
なし。

II. 分担研究報告書

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 中山 睿一 川崎医療福祉大学 教授

研究要旨

制御性 T 細胞のうち、特に活性化制御性 T 細胞が膜表面に CCR4 を発現することから、抗 CCR4 抗体投与により活性化制御性 T 細胞分画を除去し臨床効果をもたらすことを期待して「固形がん患者に対する第 Ia/Ib 相医師主導治験」を開始した。本治験では、附随探索研究として、XAGE-1b および NY-ESO-1 抗原特異的抗体反応および CD4、CD8 T 細胞反応の解析を実施する。抗体反応は ELISA 法により、また、CD4、CD8 T 細胞反応は、IFN γ 捕捉法および細胞内染色法によりモニタリング解析した。また、T 細胞表面抑制性および活性化分子について解析した。

A. 研究目的

がん死亡は本邦の死因の第一位となり、新規のがん治療法の開発が急務である。免疫療法は、次世代のがん治療法として注目されている。また、近年、がん患者では、制御性 T 細胞が抗腫瘍免疫反応を抑制していることが明らかになった。制御性 T 細胞のうち、特に活性化制御性 T 細胞は膜表面に CCR4 を発現することから、抗 CCR4 抗体投与により活性化制御性 T 細胞分画を除去して抗腫瘍免疫応答の増強をもたらす、これによる臨床効果を期待して固形がん患者に対する第 Ia/Ib 相医師主導治験を開始した。

本治験では、附随探索研究として、制御性 T 細胞除去効果、XAGE-1b および NY-ESO-1 抗原特異的抗体反応、および抗原特異的 CD4、CD8 T 細胞反応を解析する。また、骨髄由来抑制細胞 (MDSC) 分画の解析および T 細胞表面抑制性および活性化分子の解析を行った。制御性 T 細胞除去効果は SRL 社でフローサイトメトリー法により解析し、抗体反応は ELISA 法、また、CD4、CD8 T 細胞反応は、IFN γ 捕捉法および細胞内染色法を一次モニタリングに用いて解析した。

B. 研究方法

抗 CCR4 抗体投与による有効性の指標として、XAGE-1b および NY-ESO-1 抗原に対する抗体反応を検討した。血液サンプルは、ベースライン、5 週、9 週、12 週以降は可能な限り 4 週毎、維持投与時は 9 回目投与日より 4 週毎に採取した。血清中の抗体価は、ELISA 法により、合成 XAGE-1b タンパク及び組換え NY-ESO-1 タンパクに対する反応を測定した。

今年度は、治験 Ib 相症例 29 例について XAGE-1b および NY-ESO-1 抗体価を測定した。また、Ia 相 10 例のうち、XAGE-1b もしくは NY-ESO-1 抗原陽性であった 5 例について、抗原特異的 CD4 および CD8 T 細胞反応の解析を実施した。

Treg 解析はベースライン、5 週、9 週に、また、MDSC、T 細胞表面活性化および抑制性分子の解析については、ベースライン、7 週、9 週、12 週以降は可能な限り 4 週毎にサンプルを採取し、フローサイトメトリー法を用いて実施した。Treg は抗 CD4、CD8、CD25、CD45RA、Foxp3 抗体で染色し、MDSC は抗 CD3、CD11b、CD14、CD15、CD33、CD45 抗体、HLA-DR

抗体で細胞表面を染色した。T細胞表面抑制性分子はPD-1、BTLA、TIM-3、LAG-3、活性化分子はICOS、OX-40、GITR、4-1BBについて、それらの発現を各々の抗体を用いてフローサイトメトリー法で経時的に解析した。

本医師主導治験は、川崎医大倫理委員会の承認を受け、本研究内容は付随研究として実施している。患者および家族の人権および利益の保護に十分配慮している。がん患者の組織および血液は担当医によるインフォームド・コンセントを得て提供を受け、匿名化して研究室に保存している。

C. 研究結果

1. XAGE-1b および NY-ESO-1 抗体反応解析

第Ib相部症例29例（肺癌10例、食道癌6例、胃癌4例、悪性黒色腫6例、卵巣癌3例）についてXAGE-1bおよびNY-ESO-1抗体反応をELISA法で検討した（表1）。

Ib相部においてXAGE-1b抗原は29例中8例（肺癌5例、食道癌1例、胃癌1例、卵巣癌1例）で陽性、NY-ESO-1抗原は29例中7例（肺癌1例、食道癌2例、胃癌2例、悪性黒色腫1例、卵巣癌1例）で陽性であった。そのうち3例（食道癌1例、胃癌1例、卵巣癌1例）はXAGE-1bおよびNY-ESO-1共に陽性であった。

XAGE-1b抗体反応は、3例（肺癌3例）で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与9週時点で1例（肺癌）において抗体価の有意な上昇を認め、2例（肺癌）において有意な低下を認めた。NY-ESO-1抗体反応は、4例（肺癌1例、胃癌2例、卵巣癌1例）で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与9週時点で4例（肺癌1例、食道癌1例、胃癌2例）において抗体価の有意な上昇を認めた。治験薬投与9週時点で有意な抗体価の上昇を認めた4例のうち1例（食道癌）は、治験薬投与前の抗体価は陰性であった。

表1 Ib相 検査結果まとめ

症例	がん腫	XAGE-1b			NY-ESO-1			
		抗原発現	投与前(抗体価)	増減	抗原発現	投与前(抗体価)	増減	
B-01	NCC-03	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-02	OUIH-04	卵巣癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-03	KMSH-07	肺癌	+	陽性 (x10561)	あり (x ⁹²³¹ ₇₅₀₃)	-	陰性	なし
B-04	KEI-01	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-05	KEI-03	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-06	KEI-02	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-07	NCUH-08	悪性黒色腫	-	陰性	なし	+	陰性	なし
B-08	NCC-04	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-09	OUIH-05	食道癌	+	陰性	なし	+	陰性 (x533)	あり (x ⁶⁴² ₇₄₂)
B-10	OUIH-06	食道癌	-	陰性	なし	+	陰性	なし
B-12	KEI-04	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-13	OUIH-07	卵巣癌	+	陰性	なし	+	陽性 (x3164)	あり (x ²³⁷⁶ ₁₈₇₈)
B-15	TK-03	肺癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-17	NCC-07	胃癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-18	KMSH-08	肺癌	+	陰性	なし	-	陰性	なし
B-19	KMSH-11	肺癌	-	陰性	なし	+	陰性	なし
B-20	NCUH-10	肺癌	-	陰性	なし	-	陽性 (x4120)	あり (x ⁹⁶⁶² ₁₆₃₇₁)
B-21	NCUH-11	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-22	NCUH-12	卵巣癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-23	KMSH-12	肺癌	+	陰性	なし	-	陰性	なし
B-24	OUIH-10	胃癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-25	KMSH-13	肺癌	+	陰性	なし	-	陰性	なし
B-26	OUIH-11	胃癌	-	陰性	なし	+	陽性 (x1970)	あり (x2174)
B-27	NCC-09	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-28	TK-04	肺癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-29	NCC-10	胃癌	+	陰性	なし	+	陽性 (x3855)	あり (x ⁴⁵²⁶ ₄₈₇₃)
B-30	NCUH-13	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-31	TK-05	肺癌	-	陽性 (x568)	あり (x ⁵³² ₄₅₃)	-	陰性	なし
B-32	KMSH-14	肺癌	+	陽性 (x844)	あり (x ¹⁰³⁵ ₁₄₇₁)	-	陰性	なし

治験薬投与前に陽性であった4例のうちの1例(卵巣癌)で有意な低下を認めた。また、治験薬投与前にNY-ESO-1抗体陽性患者の4例(肺癌1例、食道癌1例、胃癌2例)および治験薬投与後に陽性となった1例(食道癌)のうち1例(肺癌)は、NY-ESO-1抗原陰性であった。

2. 抗原特異的 CD4、CD8 T 細胞反応解析

Ia 相部 10 例のうち、XAGE-1b もしくは NY-ESO-1 抗原陽性であった肺癌症例 5 例 (XAGE-1b 抗原のみ陽性 2 例、NY-ESO-1 抗原のみ陽性 2 例、XAGE-1b と NY-ESO-1 陽性 1 例) について、抗原特異的 CD4、CD8 T 細胞反応を経時的に免疫モニタリングによって解析した。

XAGE-1b 抗原陽性 3 例のうち、2 例でベースライン、7 週、12 週の抗原特異的 T 細胞免疫応答を検討した結果、抗原特異的な T 細胞免疫応答 (TNF- α) は CD4 について 2 例全例で上昇し、CD8 は 1 症例のみ上昇を認めた。この 2 症例のうち、XAGE-1b 抗体について、1 例は有意な上昇あり、1 例は高値で横ばいであった。

NY-ESO-1 抗原陽性 3 例で同様の検討を行い、抗原特異的な T 細胞免疫応答 (IFN γ) は CD4 について 3 例全例で上昇、CD8 は 1 症例のみ上昇を認めた。

3. Treg および MDSC 解析

Ia 相部 10 例のうち、早期に治験中止となった 1 例を除く 9 症例について、ベースライン、5 週、9 週、以降 4 週毎における制御性 T 細胞

分画 (CD25⁺Foxp3⁺分画、CD45RA⁺Foxp3^{lo} resting Treg 分画、CD45RA⁺Foxp3^{hi} activated Treg 分画、CD45RA⁺Foxp3^{lo} non Treg 分画) をフローサイトメトリー法で解析した。その結果、9 例すべてにおいて、ベースラインに比較して投与 5 週、9 週において CD25⁺Foxp3⁺、activated Treg、non Treg 分画の減少を認めた (図 1)。

MDSC 分画の解析は Ia 相 10 例のうち、付随研究の検体を採取できた 7 例において実施した (図 1)。MDSC 分画は 7 週において 7 例中 6 例で増加し、7 週で増加を認めなかった 1 例についても投与 24 週で増加を認めた。さらに、MDSC 分画が 7 週時点でベースラインと比較し 3 倍以上に増加した 3 例は 12 週で全例 PD、3 倍未満であった 4 例は 12 週で全例 SD であった。

4. T 細胞表面抑制性および活性化分子解析

Ia 相 10 例のうち、付随研究の検体を採取できた 7 例においてベースライン、7 週、12 週、以降 12 週毎における T 細胞表面抑制性および活性化分子の発現を検討した。CD4 表面の抑制性および活性化分子のうち、PD-1、TIM-3、LAG-3、ICOS、GITR 分子発現は上昇傾向であり、特に ICOS の上昇は顕著であった。BTLA、OX-40、4-1BB 発現は低下傾向であった。CD8 表面の抑制性および活性化分子のうち、PD-1、ICOS 分子発現は上昇傾向であり、特に ICOS の上昇は顕著であった。LAG-3、GITR は横ばいであった。TIM-3、BTLA、OX-40、4-1BB はほとんどの症例において低下傾向であった。

図1 治験Ia相 Treg除去効果

