

71 歳、男性、右悪性胸膜中皮腫

職歴：20-62 歳頃まで、建築現場の現場監督（アスベスト暴露歴あり）

治療歴：

2010/4 胸腔鏡下胸膜生検で、悪性胸膜中皮腫と診断 胸膜癒着術

2010/5/19 CDDP+PEM①

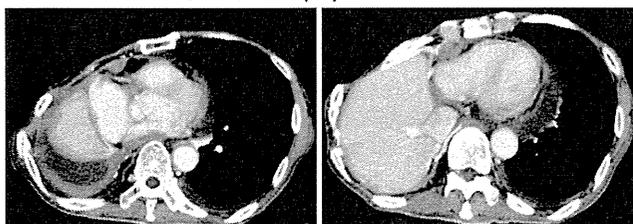
2010/6/15 CDDP+PEM②

2010/7 胸腔鏡下胸膜癒着術

2010/8 右胸膜肺全摘、第 8,9 肋骨胸壁切除、心膜・横隔膜切除

2014/8 レントゲンで心拡大

#### ベースライン(2014/9/12)



CT で心嚢水貯留を認め、心嚢穿刺排液施行し細胞診は Class 5 中皮腫の再発と診断され、治験に参加した。

2014/10/2~10/23 まで、1 週間間隔で 4 回のモガムリズマブの投与を実施した。治験薬に関連する明らかな有害事象は認めなかったが、心嚢水の貯留が継続し次第に全身状態が悪化したため、治験を中止して緩和医療へと移行した。

#### 3) 症例 TK-05

68 歳、男性、右悪性胸膜中皮腫

職歴：62 歳まで鹿島のプラントの運転の業務に 50 年間ついていた。

既往歴：高血圧

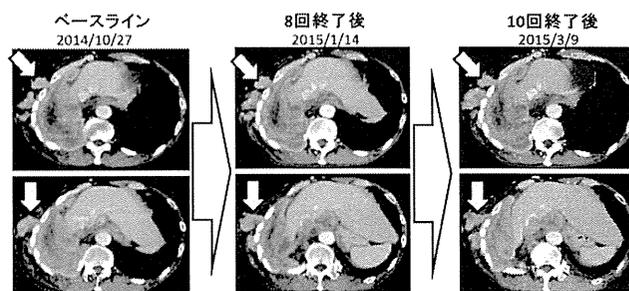
治療歴：

2011/10/7 肺剥皮術、悪性胸膜中皮腫と診断。

2012/1/12 シスプラチン(110mg/body)・ペメトレキセート(750mg/body)

2014/5 左胸水貯留 胸腔ドレナージ・胸膜癒着術

2014/10/30~12/18 まで 8 回のモガムリズマブの投与を完遂した。SD と判定し、2015/1/15、2/12 の 2 回の追加投与を実施した。



治験薬に関連する重篤な有害事象は認めなかった。評価病変の増大は認めず、SD と判定されていたが、以前より認めていた腫瘍の食道圧排による嚥下障害が増強し、腫瘍の増大を認めたため、治験薬の投与を中止し、地元の病院での緩和医療に移行した。

#### 4) 症例 TK-06

65 歳、男性、進行食道癌、根治的放射線化学療法後局所リンパ節遺残、サルベージ手術後再発

治療歴：

2013 年 1 月ごろ 食物のつかえ感が出現し 3 月下旬に Adenocarcinoma と診断された。

2013/5/27 化学放射線治療 (RT 50.4Gy/28Fr)+ NDP/TS-1①

2013/6/23 NDP/TS-1②

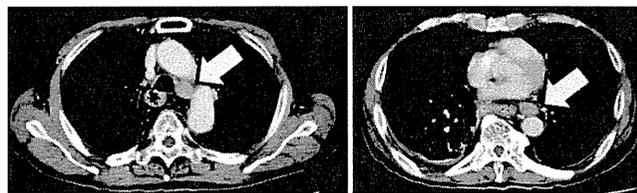
2013/8/22 サルベージ手術施行

2014/7/11 再発

2014/7/18 DCF 計 5 コース

2015/1/19 CT:縦隔再発巣、リンパ節ともに増大 CEA 71.4↑ CA19-9 254↑→PD

#### ベースライン(2015/1/19)



2015/2/9~3/30 まで、8 回のモガムリズマブの投与を完遂した。がん性胸膜炎に伴う胸水の貯留が増悪し、呼吸困難を認めたが、治験薬との因果関係はないと判断した。今後画像診断で評価予定である。

#### 5) 症例 TK-07

47 歳、女性、食道癌(小細胞癌)術後再発、縦隔播種、皮下転移、左肺転移、肝転移

治療歴：2013/12/25 食道癌根治術、胃管挙上再建

2014/6/12 食道癌(小細胞癌)術後再発、縦隔播種、

皮下転移

2014/06/24- 化学放射線治療 (60Gy/30Fr)

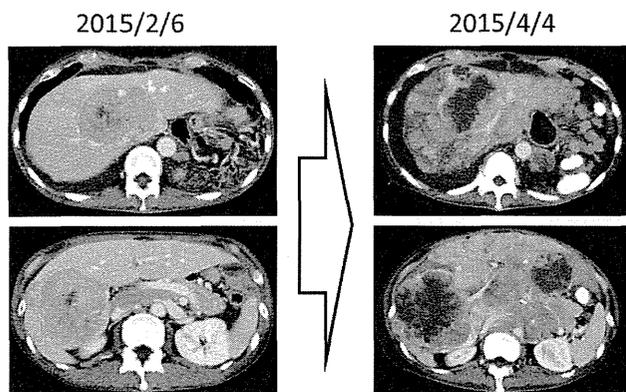
2014/06/24 CDDP+ETP 計3コース

2014/9/17- DCF 計2コース

2014/12/15- CPT-11+CDDP 2コース

2015/2/5 CDDP day8→PD

2015/3/6～3/27 まで1週間間隔で4回のモガムリズマブの投与を実施した。



2015/4/5 AST 4378 U/L と顕著な上昇を認め、CTにて多発肝転移、腹部骨盤リンパ節腫大が増悪、門脈本幹の狭窄、腹膜播種の増大と大量の腹水、両側胸水の増加、脳転移の増悪を認めたため、PDと判定し治験を中止した。

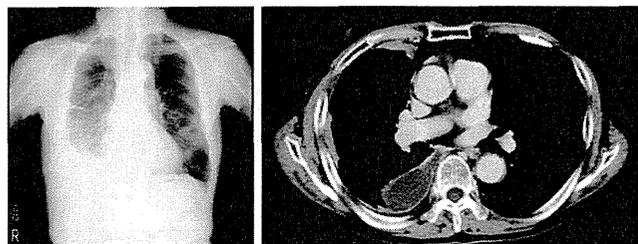
### 6) 症例 TK-08

80歳、男性、右悪性胸膜中皮腫

喫煙：20本/日 50年間、飲酒：なし

粉じん暴露：アスベスト暴露有

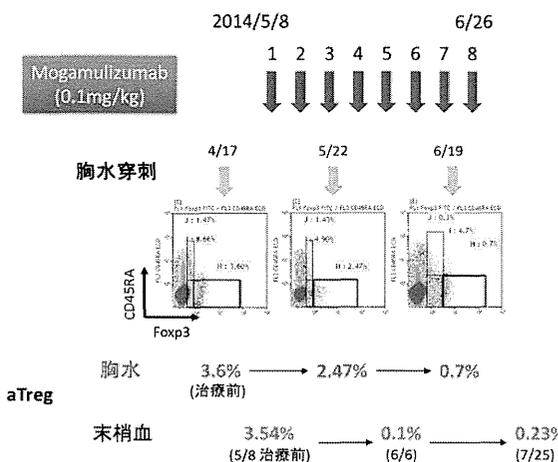
ベースライン (2015/3/9)



2014/11 労作時呼吸苦あり。2015/2/5 右胸膜生検施行し、右悪性胸膜中皮腫(上皮型)と診断。年齢から化学療法は難しいと判断され、また本人も希望せず。CCR4抗体薬の phase Ib 治験に登録となった。2015/3/15 より4回のモガムリズマブの投与を実施した。体幹に漿液性丘疹が出現したが、抗ヒスタミン薬の内服とステロイドの外用でコントロール可能であった。現在も継続治療中である。

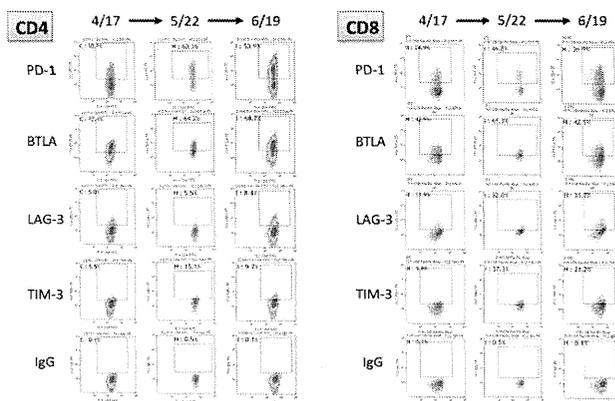
(2) 付随研究：胸水中の免疫応答の解析結果

### 1) モガムリズマブ投与による Treg の制御

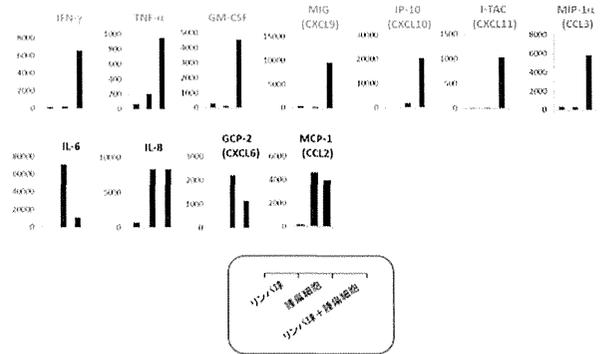
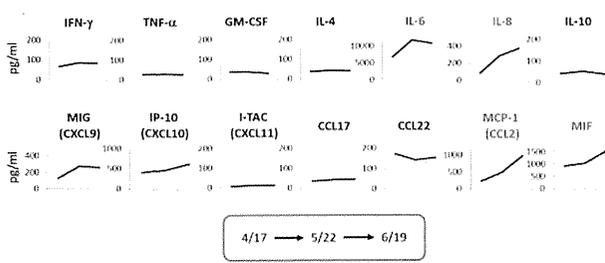


症例 TK-03 において、モガムリズマブ投与前、2回および6回投与後の胸水を採取し、CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>の activated Treg (aTreg) の変化を、末梢血中の変化と比較した。モガムリズマブの投与によって、末梢血中の aTreg は、3.54%から0.1%、0.23%と速やかに減少した。同様に胸水中の aTreg も3.6%、2.47%、から0.7%へと減少した。

胸水中の細胞は、PD-1、BTLA、LAG-3、TIM-3などの免疫制御にかかわる分子を発現していた。



モガムリズマブの投与後、胸水中の CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> T細胞上の PD-1 の発現が増強していた。PD-1 の発現は、T細胞の活性化後に認められることから、モガムリズマブの投与により、胸水中での T細胞の活性化が誘導されたことを間接的に示唆している。



T細胞の活性化に伴い、胸水中の IFN- $\gamma$  とその下流の分子である CXCL9, CXCL10 の増加を認めた。また、マクロファージの活性化にかかわる IL-6、IL-8、CCL2、MIF が胸水中で増加していた。

これらの結果から、モガムリズマブ治療を受けた患者の心嚢水中には、腫瘍反応性 CD4 リンパ球が誘導され活性化されていた。

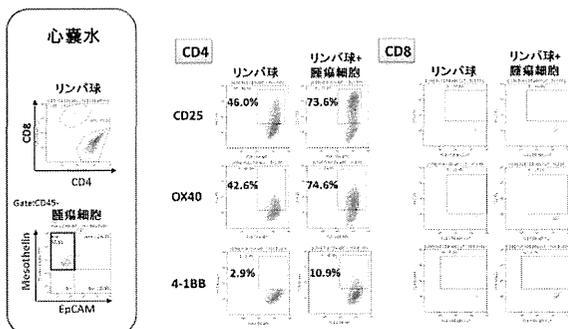
## 2) 腫瘍反応性リンパ球の誘導

悪性胸膜中皮腫細胞は細胞表面にメソテリンを発現している。症例 TK-04 の心嚢水中に存在するメソテリン陽性細胞を抗メソテリン抗体とマグネットビーズを用いて単離し、腫瘍細胞を得た。モガムリズマブを4回投与した後の心嚢水中から分離したリンパ球と共培養したところ、CD4 細胞に CD25、OX40、4-1BB の発現が増強した。

## D. 考察

第 I b 相医師主導治験の主要評価項目は、安全性であり、有害事象の種類・頻度・程度および、制御性 T 細胞除去効果を検討した。副次的評価項目は、有効性の評価として腫瘍縮小効果、無増悪生存期間 (PFS)、全生存期間 (OS) を解析し、第 II 相試験以降の推奨投与量を決定することである。東大病院では、実施計画書に基づき、6 例の患者に対してモガムリズマブの投与を実施した。同時に、腫瘍局所あるいは、腫瘍細胞が存在するコンパートメントとして胸水や心嚢水中の aTreg の制御と、抗腫瘍免疫応答の解析を目的とした付随研究を実施した。癌性胸膜炎による胸水貯留を認めた肺癌患者 1 例と、悪性胸膜中皮腫による心嚢水貯留を認めた患者から、モガムリズマブ投与前と投与後の検体を採取し、免疫モニタリングを実施することができた。末梢血と胸水を採取したタイミングが異なるため、時間的な比較はできなかったが、モガムリズマブの投与により末梢血のみならず、胸水中でも CD4<sup>+</sup>CD45RA<sup>+</sup>Foxp3<sup>hi</sup> aTreg が減少することを確認できたことから、モガムリズマブの投与は、腫瘍局所においても、aTreg

### 心嚢水リンパ球の活性化分子の発現 (in vitroの解析)



また、培養上清中には、腫瘍反応性リンパ球の存在を示唆する IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、CXCL9、CXCL10、CXCL11 の産生を認めた。

表 2. 6症例のまとめ

症例	年齢	性別	癌種	投与量 (mg/kg)	投与回数	Treg除去効果		RECIST 12週	有害事象	治験中止理由
						末梢血	胸水			
TK-03	57	男	肺癌 (胸水貯留)	0.1	8	あり	あり	PD	皮疹	現病悪化
TK-04	71	男	悪性胸膜中皮腫 (心嚢水貯留)	0.1	4	あり	腫瘍反応性リンパ球の存在	PD (4週)	なし	現病悪化
TK-05	68	男	悪性胸膜中皮腫	1	10	あり	-	SD	なし	現病悪化
TK-06	65	男	食道がん	1	8 (継続中)	あり	-	継続中	皮疹	継続中
TK-07	47	女	食道がん	0.1	4	不明	-	PD (4週)	なし	現病悪化
TK-08	80	男	悪性胸膜中皮腫	1	4 (継続中)	継続中	継続中	継続中	皮疹	継続中

を除去する可能性が示唆された。

悪性胸膜中皮腫症例において、すでに診断が確定しており、通常の診療において胸膜生検の実施の必要がなかったため、直接腫瘍を採取する機会は得られなかったが、心嚢水の貯留による心タンポナーデの治療目的に心嚢水穿刺ドレナージが実施されたため、腫瘍細胞を含んだ心嚢水を採取する機会が得られた。原疾患の増悪に伴い全身状態が悪化し、モガムリズマブの投与が4回で中止されたためか、心嚢水中の aTreg は、投与前の 0.9% に対して4回投与後は 1.2% と、明らかな減少は認めなかった。末梢血中の aTreg は 2.15% から 0.22% へと減少していた。腫瘍細胞が共存する環境下ではモガムリズマブによる aTreg の制御は、末梢血中に比較して困難である可能性が示唆された。心嚢水中の aTreg の割合に明らかな変化はなかったが、腫瘍反応性リンパ球の存在が確認され、モガムリズマブによる免疫抑制環境の制御が抗腫瘍免疫応答の誘導に関与していた可能性が認められた。しかしながら、モガムリズマブ投与前後の腫瘍反応性リンパ球の正確な比較が求められるが、投与前の検体量が不十分で、比較が困難である点が問題である。

#### E. 結論

- ・東京大学医学部附属病院において、6例の患者に対して抗CCR4抗体治療の治験を実施した。さらに1例の食道がん患者の治験登録を予定している。
- ・付随研究として、モガムリズマブ投与を受けた患者の胸水/心嚢水中の免疫応答を解析した。
- ・モガムリズマブの投与により、末梢血のみならず胸水中のTregも減少した。
- ・Tregの減少に伴い、胸水・心嚢水中の免疫応答の活性化が認められた。

#### F. 研究発表

##### 論文発表

##### 英文

- 1 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
- 2 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 $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells together with zoledronate for the treatment of malignant ascites due to gastric cancer. *Cancer Med*. 2014 Apr;3(2):362-75.

- 3 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.
- 4 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.
- 5 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- $\gamma$ -dependent cell cycle arrest. *Cancer Immunol Res*. 2015 Jan;3(1):26-36.
- 6 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.
- 7 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.
- 8 Kobayashi T, Kakimi K, Nakayama E, Jimbow K. Antitumor immunity by magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia.

Nanomedicine (Lond). 2014 Aug;9(11):1715-26.

- 9 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, Matsushita 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.

#### 1. 学会発表

##### ■ 国内学会

- 1 2014/7/31 第 18 回日本がん免疫学会総会、愛媛県松山市  
神原佳織、藤枝奈緒、大平公亮、近藤篤、近藤真、泉謙道、高橋卓也、松下博和、和田郁雄、瀬戸泰之、垣見和宏  
 $\gamma$   $\delta$  T 細胞を用いたがん免疫細胞治療における TIM-3 と Galectin-9 の相互作用
- 2 2014/7/31 第 18 回日本がん免疫学会総会、愛媛県松山市  
垣見和宏、榮川伸吾、磯辺みどり、松下博和、宮井まなみ、細井亮宏、藤枝奈緒、鶴殿平一郎、上中明子、中山睿一  
TCR ディープシーケンスによる NY-ESO-1 特異的 T 細胞のモニタリング
- 3 2014/7/31 第 18 回日本がん免疫学会総会、愛媛県松山市  
長瀬博次、和田尚、西川博嘉、鈴木進、平家勇司、小島隆嗣、垣見和宏、船越建、飯田真介、石田高司、佐藤永一、鶴殿平一郎、岡美喜男、中山睿一、土岐一郎、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
- 4 2014/8/1 第 18 回日本がん免疫学会総会、

愛媛県松山市

細井亮宏、平野康介、松下博和、瀬戸泰之、前川隆司、垣見和宏

腫瘍内の免疫抑制性環境の制御による腫瘍特異的 CTL 移入治療の増強

- 5 2014/12/11 第 43 回日本免疫学会学術集会、京都府京都市

Akihiro Hosoi, Satoshi Ueha, Hirokazu Matsushita, Ryuji Maekawa, Kouji Matsushita, Kazuhiro Kakimi. Enhancement of adoptive cell therapy by regulating immunosuppressive environment

##### ■ 国際学会

- 1 2014/7/2-3 MNCB 2014, The 22nd International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages, Kobe, Japan. Akihiro Hosoi, Hirokazu Matsushita, Satoshi Ueha, Kouji Matsushita and Kazuhiro Kakimi. CTL therapy-induced immunosuppressive microenvironment in the tumor is potentiated by the recruitment of MDSCs.
- 2 2014/11/7-9 SITC (Society for immunotherapy of Cancer) 2014, National Harbor, MD, USA. Kazuhiro Kakimi, Hirokazu Matsushita, Yutaka Enomoto, Tohru Nakagawa, Haruki Kume and Yukio Honma. Autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination combined with Sunitinib for metastatic renal cell carcinoma

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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：

日本人の悪性黒色腫患者における NY ESO-1, XAGE1b など腫瘍抗原の発現と免疫に関する解析

研究分担者 船越 建 慶應義塾大学医学部皮膚科学 助教

研究要旨

近年、悪性黒色腫は分子学的にも疫学的にも異なる個性を有した疾患の集合体と考えられるようになってきている。今回我々は、抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子と、それに関連して患者の予後を予測し得るマーカーの探索を行うことを目的として研究を進めている。当院で集積した悪性黒色腫 94 症例 114 検体を用いて候補となるバイオマーカーの免疫染色をし、その発現強度と患者の予後および治療反応性を統計学的解析により比較検討している。

研究協力者

森 真理子 助教  
種瀬 啓士 助教

確認と探索を行うことで、悪性黒色腫患者における治療反応性と予後予測が可能なバイオマーカーの確立を目指している。

A. 研究目的

近年、悪性黒色腫の病態に対する理解は長足の進歩を遂げた。BRAF, NRAS, c-KIT 等の ERK1/2MAPK シグナル伝達経路を構成する因子の遺伝子変異が頻回に認められることが明らかとなり、BRAF の V600E 変異を有する症例に対しては分子標的薬がある一定の成果をあげている。また、抗腫瘍免疫を増強する治療においても進歩が見られている。T 細胞の抗腫瘍活性を負に制御する CTLA-4 や PD-1 に対する抗体製剤が患者の予後を有意に改善することが明らかとなり、これらの製剤も臨床の現場で用いられ始めている。しかし、半数以上の症例がこれらの治療に対しても抵抗性であり、悪性黒色腫の更なる病態の解明が望まれている。そのような中で我々は、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 阻害薬等の抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子(NY ESO-1 をはじめとした癌精巣抗原； cancer-testis antigen、以下 CTA)の

B. 研究方法

本研究を行うにあたり、院内倫理委員会より承認された患者説明文書・同意書を用いて悪性黒色腫患者より研究のための同意を得た。

対象は 2000 年から 2013 年の間に当院皮膚科を受診し悪性黒色腫と診断された 94 症例（男性 30 例、女性 54 例、年齢中央値 61 歳、最高年齢 86 歳、最少年齢 15 歳）の 114 検体（原発巣 75 検体、リンパ節転移巣 27 検体、皮膚転移巣 12 検体）のホルマリン固定パラフィン包埋標本である。これらに対し、CTA である NY ESO-1 と XAGE1b の発現の有無を免疫組織学的染色により確認し、患者の臨床情報との相関性を検討した。

解析の対象となった患者の背景、原発巣の発症部位、病理組織学的 stage 分類等のまとめを以下の表 1 に示す。

表1 本検討で解析の対象となった患者の背景

	N (%)
<b>Sex</b>	
Male	30 (36.7%)
Female	54 (64.3%)
<b>Age (years)</b>	
Mean ± SD (range)	59.54 ± 14.64 (15-86)
Median	61
<b>Survival time (months)</b>	
Mean ± SD (range)	61.87 ± 5.69 (2-225)
Median (mm)	43.5
<b>Primary lesion</b>	
<b>Breslow thickness</b>	
in situ/lentigo maligna	2
≤ 1.00 mm	17
1.01-2.00 mm	15
2.01-4.00 mm	12
> 4.01 mm	22
Unknown	7
Mean ± SD (range)	3.30 ± 0.38(0.2-14)
Median (mm)	2.10
<b>Tumor subtype</b>	
ALM	23 (30.7%)
SSM	20 (26.7%)
NM	22 (29.3%)
LMM	1 (1.3%)
in situ	2 (2.7%)
mucosal	7 (9.3%)
<b>Tumor site</b>	
Extremity	37 (49.3%)
Trunk	16 (21.3%)
Head and neck	10 (13.3%)
Mucosal	7 (9.3%)
Genital	5 (6.7%)
<b>Metastatic lesion</b>	
Lymph node	27
Skin metastasis	12

## 染色方法

染色を行うにあたり、組織内にメラニンの沈着を多く認める検体は脱メラニン処理を要した。また、すべての検体について赤発色を施行した。

### 1. 脱メラニン処理（過マンガン酸カリウム・シュウ酸法）

- ①0.25%過マンガン酸カリウム水溶液に1時間浸す
- ②水洗い
- ③5%シュウ酸水に切片が脱色するまで2~5分間浸す。
- ④静かに水洗い、10分間。
- ⑤蒸留水洗浄

### 2. 染色

- ①脱メラニン後の標本を、5%スキムミルク水（EZprepで溶解）に10分間浸す
- ②EZバッファーにより脱パラフィン，親水化を行う。

③イムノブロックにより撥水防止処理を行う

④CC1 バッファーによる抗原不活化を行う。  
（②~④は自動組織免疫染色装置

（Ventana:Roche）を用いて行う。）

⑤一次抗体（100倍希釈）を100μl添加。2時間反応させる。（抗体は anti NY-ESO-1 clone(Aigma Aldrichi)を使用）

⑥PBSで洗浄。

⑦二次抗体（ヒストファイン AP シンプルステイン AP (M)）を3滴添加し40分反応させる。

⑧PBSで洗浄。

⑨ファーストレッドII 基質キットを添加、12分反応させる。

⑩miliQ 洗浄

⑪HE 染色を行う。

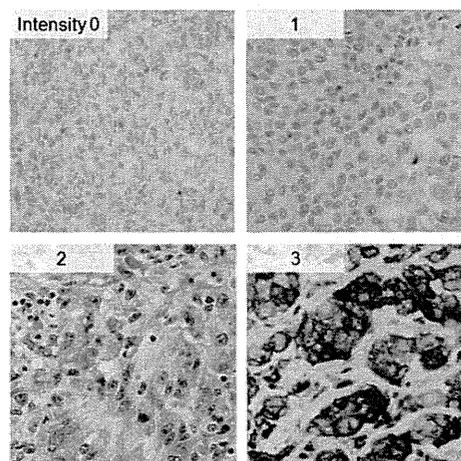
染色態度の評価は陽性細胞のパーセンテージ（Number）と陽性細胞の染色強度（Intensity）の2項目に対して行う。

Numberの評価は以下の通りを行う。

陽性細胞	5%以下	スコア 0
陽性細胞	5-25%	スコア 1
陽性細胞	26-75%	スコア 2
陽性細胞	75%以上	スコア 3

Intensityの評価は以下の図1に例示する染色強度の通りに行った。左上からスコア0、1、2、3の順である。

図1 各染色強度の代表例



スコアリングは皮膚病理と免疫染色の原理に習熟した二人の皮膚病理医により独立に行われ、スコアの結果が異なる場合には二人でスコアリングにつき検討を行い、合意が得られたものを採用する。合意が得られない場合は第三者のスコアリングを参照するという手法をとった。

各染色態度の評価がそろった段階で、腫瘍のステージ、患者の予後等の臨床情報と対比することで、統計解析を行う。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントを取るに当たり、臨床研究指針に準拠した同意書を作成し、これに患者の同意を得た。また、臨床検体を用いるにあたり、情報公開し、オプトアウトの機会提供をしている。本研究は慶應義塾大学・倫理委員会の承認を得たプロトコールにしたがって行われた。

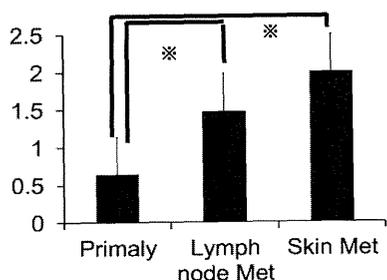
### C. 研究結果

ヒト悪性黒色腫におけるこれらの蛋白質の発現を免疫組織染色において検討した。

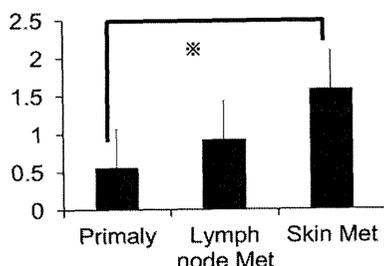
以下の図3の如く、XAGE1bとNY ESO-1のいずれにおいても、原発巣⇒リンパ節転移巣⇒皮膚転移巣と癌が進展に伴って発現する症例/発現の強度が増加するという傾向が認められた。

図 2 悪性黒色腫検体における各 CTA の染色態度と腫瘍進展の関係

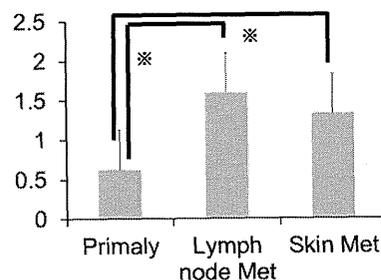
XAGE1b number



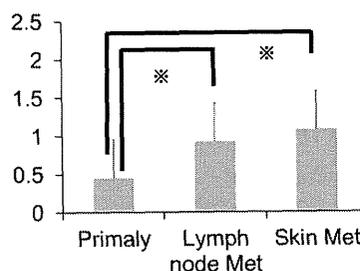
XAGE1b intensity



NY ESO-1 number



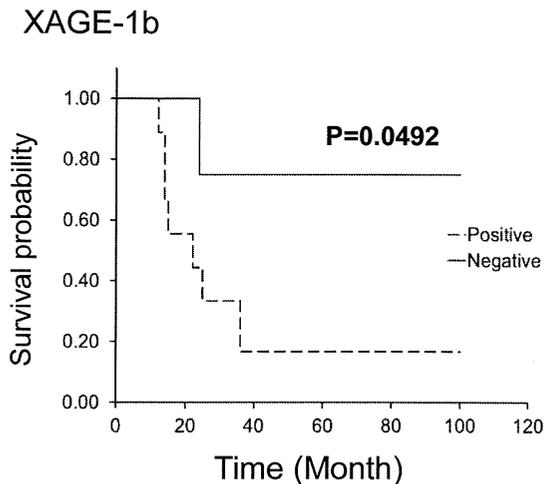
NY ESO-1 intensity



※ p<0.05以下で有意差あり

続いて、解析可能であったリンパ節転移巣22症例22検体におけるXAGE1bとNY ESO-1の発現と予後の相関を検討した。以下図3にKaplan-Meier法により解析した結果を示す。有意差検定は一般化Wilcoxon検定を用いている。XAGE1bを発現している症例において予後が不良な傾向があることが示唆された。

図 3 悪性黒色腫リンパ節転移症例におけるXAGE1bの染色態度と患者予後の関係



#### D. 考察

上述の知見よりXAGE1bとNY ESO-1は悪性黒色腫において腫瘍の進展に伴って発現が増強する傾向があるほか、XAGE1bが転移巣において発現している症例においては、不良な予後を予測するマーカーとなる可能性が示唆された。これらの結果は本来抗腫瘍免疫において標的抗原となり、免疫を活性化させる機能を有している筈のCTAとしては一見逆の結果になっているように見える。しかし、腫瘍が進展してもなお発現している症例は既にこれらのCTAをターゲットとした抗腫瘍免疫を克服してより悪性度の高いphenotypeへと進化を遂げているとも解釈できる。また、

CTA自身に腫瘍の進展を促進する分子生物学的な機能が備わっている可能性も考えられ、今後の解析が必要である。

#### E. 結論

本研究から得られている知見より、XAGE1bおよびNY ESO-1が悪性黒色腫の進展を予測しうるバイオマーカーとなる可能性が示唆される。また、Stage3のリンパ節転移検体においては、XAGE1bの発現が不良な予後予測のバイオマーカーとなる可能性も示唆された。今後より有意な結果が得られることが予想され、更なる症例の蓄積と検討を重ねるべく研究継続を行っていく。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

なし。

##### 2. 学会発表

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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 公立大学法人名古屋市立大学 准教授

研究要旨

進行再発固形がん患者を対象とした、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第 Ia/Ib 相治験の Ib 相では、安全性と Treg 除去効果を主要評価項目として、0.1mg/kg と 1.0mg/kg のランダム化試験が行われた。名古屋市立大学病院では、肺小細胞がん患者 1 名、食道がん患者 2 名、悪性黒色腫患者 2 名、卵巣がん患者 1 名、の計 6 名にプロトコル治療を実施し、effector Treg 除去作用を認めた。この Mogamulizumab の、effector Treg 除去作用は、効果と有害事象の、諸刃の剣である。このことを十分に認識した上で、mogamulizumab の最適な使用方法確立に努める必要がある。

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。そのため、進行再発固形がん患者を対象に、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第 Ia/Ib 相治験を実施する。

併せて、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

進行再発固形がん患者を対象とした、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第 Ia/Ib 相治験の腫瘍評価項目は下記の如くである。

- 1) 第 Ia 相
  - ① 安全性：最大耐用量（MTD）、用量制限毒性（DLT）、有害事象の種類・頻度・程度、
  - ②薬物動態の検討
- 2) 第 Ib 相
  - ①安全性：有害事象の種類・頻度・程度、
  - ②制御性 T 細胞除去効果

治験デザイン：

第 Ia 相部は、各コホート 3～6 名づつ、0.1mg/kg から開始し、忍容性が確認されれば 0.5mg/kg 及び 1.0mg/kg へ増量を行う。第 Ib 相部では、忍容性が確認された投与群のうち高用量群及び 0.1mg/kg の 2 群（第 Ia 相部で 0.5mg/kg が MTD の場合、0.1mg/kg 1 群）で実施。がん種を割り付け因子として各群 20 例となるように登録する。

併せて、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<sup>lo</sup>FOXP3<sup>hi</sup>)、naive Treg (CD45RA<sup>hi</sup>FOXP3<sup>lo</sup>)の存在比率。

- ・ 上記検査データの動きと治療効果、有害事象との関連。

#### (倫理面への配慮)

進行再発固形がん患者を対象とした、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第Ia/Ib相試験は、「ヘルシンキ宣言」ならびに、治験実施計画書、薬事法第14条第3項及び第80条の2に規定する基準及び「医薬品の臨床試験実施の基準に関する省令 (GCP)」(厚生省令 第28号)に則り実施する。本試験の実施に先立ち、名古屋市立大学病院、医薬品臨床試験審査委員会において、審査、承認を得た上で患者登録を開始した。

また、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。本試験の実施に先立ち、名古屋市立大学病院、医薬品臨床試験審査委員会において、審査、承認を得た上で患者登録を開始した。

#### C. 研究結果

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。KW-0761 の投与量は、癌種を割

り付け因子として 0.1mg/kg と 1.0mg/kg のランダム化が開始された。名古屋市立大学病院では、肺小細胞がん患者 1 名、食道がん患者 2 名、悪性黒色腫患者 2 名、卵巣がん患者 1 名、の計 6 名にプロトコール治療を実施した。末梢血中の effector Treg については、投与前後での比較が出来なかった 1 名を除く全例で減少を示した。しかし、6 名全例で臨床効果は認められず、維持投与への移行は行われなかった。皮疹は 3 名に認めたが、最悪グレードは 2 であり保存的治療で対応可能であった。また皮疹以外の自己免疫性有害事象は認められなかった。

“ATL に対するモガムリズマブ治療中の免疫モニタリング”に平成 27 年 3 月までに登録された ATL 49 症例の内訳は急性型 32 例、リンパ腫型 8 例、慢性型 7 例、くすぶり型 2 例であった。

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、naive Treg の存在比率は上昇することが明らかになった。Grade 3 以上の皮膚障害は 6 名(12.2%)に認めたが、その 6 名は有意に無増悪生存期間 (PFS)が延長しており (median PFS, not reached vs 6.0 months, P=0.034)、全生存(OS)期間の延長傾向を認めた (median OS, not reached vs 13.2 months, P=0.090)。

ATL 細胞は CD45RA、FOXP3 の発現レベルから i)effector Treg (CD45RA<sup>lo</sup>FOXP3<sup>hi</sup>) タイプ、ii) non-Treg (CD45RA<sup>lo</sup>FOXP3<sup>lo</sup>) 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あり、i) vs ii) & iii) の全生存期間の比較では median OS, not reached vs 11.1 months (P=0.041) と生存期間の延長を認めた。

また、本試験登録時の 血液中 HTLV-1 特異的 CTL の存在比率は、末梢血単核球中 HTLV-1 感染細胞数比率(HTLV-1 load)と負の相関を示した (rs=-0.440, P=0.002)。HTLV-1 あるいは CMV 特異的細胞性免疫反応の動きと、モガムリズマブへの奏効、生存期間との有意な相関を見出すには至っておらず、更なる症例集積および解析が望まれる。

## D. 考察

Mogamulizumab は日本において ATL、PTCL/CTCL に対し、承認を獲得しているが、我々が実施中の治験より、進行再発固形がん患者に対しても安全に投与可能であることが示された。進行再発固形がん患者に対し、mogamulizumab は血液中 effector Treg を激的に減少せしめるものの、臨床効果については限定的であり、より有効な投与方法、併用薬の確立は今後の課題である。

ATLに対する前向き臨床試験で得られた、Grade 3以上の皮膚障害が生命予後に寄与するdata は、Mogamulizumab の有する、effector Treg 除去作用が、効果と有害事象の、諸刃の剣であることを示す。このことを十分に理解し、mogamulizumab の最適な使用方法確立に努める必要がある。

## E. 結論

Mogamulizumab は進行再発固形がん患者に対して、安全に投与可能である。臨床効果を得るために最適な投与方法確立は今後の重要な課題である。

## G. 研究発表

### 論文発表 英文 (2014 年以降)

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] (*corresponding author*).
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, (*corresponding author*)

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. 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*. in press. (*corresponding author*)
5. 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.
6. 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.
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. **(corresponding author)**
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.

和文

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

該当なし

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：抗 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析

研究分担者 名前 西川 博嘉 所属 大阪大学 職名 特任准教授

研究要旨

ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体（Mogamulizumab/KW-0761）は、脱フコシル化技術によりADCC活性を飛躍的に高めた抗体で、CCR4を発現する成人T細胞白血病・リンパ腫（ATL）に対する治療薬として承認されている。一方、これまで様々ながん抗原分子を標的とした臨床研究が行われ、がんワクチン療法が宿主に抗原特異的免疫を誘導することが明らかになっているが、臨床効果は限定的である。この原因としてがん組織に浸潤しているリンパ球中の制御性T細胞（Tregs）に注目が集まっている。つまり、がんワクチン療法によって誘導されたがん抗原特異的T細胞の抗腫瘍活性が、Tregsによって抑制されるため、十分な臨床効果をあげられないと考えられており、Tregsのコントロールはがん免疫療法が克服すべき大きな課題である。

がん組織に浸潤するTregsにCCR4が強発現していることから、本事業ではヒト化抗CCR4モノクローナル抗体を投与することにより、これらのTregsが減少しエフェクターT細胞の活性化といった抗腫瘍免疫応答の活性化が誘導されるか、またそれらが臨床効果につながるかを検討する。

今年度は本分担研究により、ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与による活性化型 Tregs除去を、標準化されたアッセイ方法により解析した。ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与により末梢血および腫瘍局所から活性化型Tregsの減少が認められた。

A. 研究目的

現在進行中の種々のがん免疫療法は、一部の患者で臨床効果を示すものの、大多数の患者では満足すべき臨床効果をあげていない。その原因としてがん組織中に多数の制御性 T 細胞（Tregs）が浸潤し、抗腫瘍免疫応答を抑制していることがあげられる。

ヒト CD4+Tregs は遺伝子発現およびマーカーの上でも多様であることが明らかとなってきたが、CD4、FOXP3 および CD45RA(もしくは CD45RO)発現を組み合わせることにより、CD4+Tregs を CD4+CD45RA+FOXP3<sup>low</sup>Tregs（ナイーブ型）と CD4+CD45RA-FOXP3<sup>high</sup>Tregs（エフェクター型）に分けられることが明らかになっている(Miyara et al. Immunity 30:899-911 2009)。本分類によりエフ

エクター型 Tregs に分画される部分に CCR4 が高発現していることが明らかになっている。よってヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与によりこれらの Tregs の動態を末梢血およびがん組織で解析することが本治験において抗体の効果判定の一つとして必須である。加えて、この Treg アッセイ方法を標準化することが抗 CCR4 抗体の実用化を進める上では重要である。

一方でヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与により、がん抗原に加えて広範な免疫応答の誘導・活性化が期待される。よって特定のがん抗原への免疫応答を検討することに加えて網羅的な免疫反応への影響を解析する必要がある。

本分担研究では上記のうち制御性 T 細胞の動態の免疫学的検討を行うことを目的とする。

## B. 研究方法

書面にて同意が得られたヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与を受けた患者の末梢血および腫瘍浸潤細胞より単核球を比重遠心法により単離し、解析に用いた。

単核球を CD4、CD25、CD45RA、FOXP3 抗体を用いて Tregs を同定し、さらに抗 CCR4 抗体投与による変動を時系列でフローサイトメトリーにて検討した。

### (倫理面への配慮)

本研究は大阪大学研究倫理審査会にて審査され、承認されたプロトコールに準拠して行った。また、すべての検体は本治験参加施設において書面での同意が得られたのち採取されたものを研究に用いた。

## C. 研究結果

### ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与による活性化型 Tregs 除去

#### a. ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与により末梢血活性化型 Tregs が除去される

ヒト Tregs の分類法を用いて、ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体を投与された患者 (Ia 層 10 名、Ib 層 7 名) の末梢血検体を解析した。全症例において投与 5 週目では活性化型 Tregs の有意な減少が認められた。この活性化型 Tregs の減少は、がん腫に関わらず認められるとともに、いずれの抗体の投与量 (0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg) でも認められた(図 1)。

一方で病態の安定により投与を継続された患者では、再発前に活性化型 Tregs の頻度の上昇が認められた(図 2)。

活性化Tregs除去効果 疾患別経過 活性化Tregs除去効果 投与量別経過

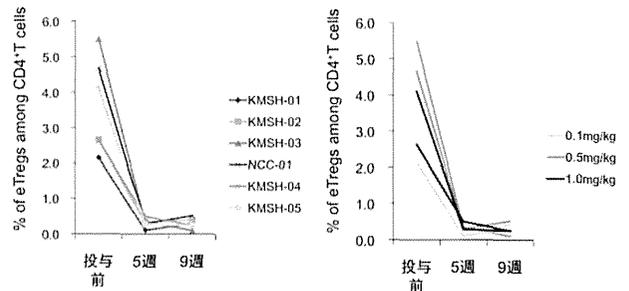


図 1 活性化型 Tregs 除去効果のまとめ

#### KMSH-02 0.1mg/kg投与群 肺癌

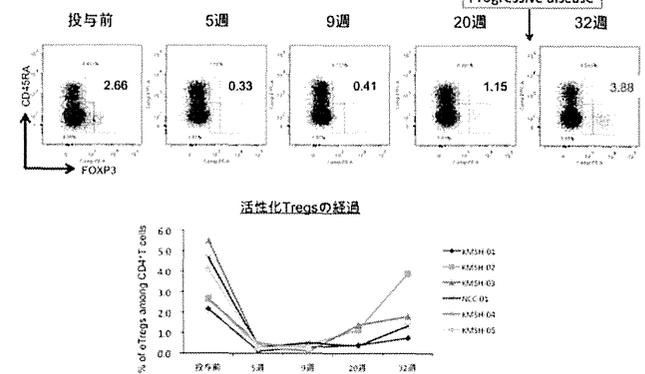


図 2 長期のヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与による活性化型 Tregs の動態

#### b. ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与により腫瘍局所の活性化型 Tregs が減少する

ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体を投与された患者のなかで、Ib 層登録 OUH-10 において、投与前後で腫瘍局所の生検検体が得られた。ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与前では末梢血 (4.27%) および腫瘍局所 (11.3%) と高頻度の活性化型 Tregs が認められた。投与終了後には末梢血では活性化型 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(図 3)。

## OUH-10 Tregs除去効果

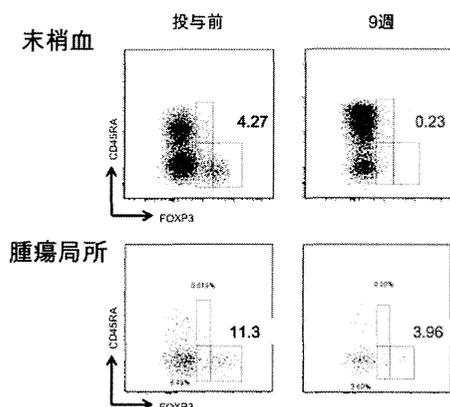


図3 ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与による腫瘍局所活性化型Tregsの減少

### D. 考察

ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体の投与により末梢血の活性化型Tregsが十分に除去されることが明らかになった。また腫瘍局所においても活性化型Tregsの著大な減少が認められた。しかしながら腫瘍局所では末梢血に比較して活性化型Tregsの除去効率は低く、今後CCR4発現レベルの違い、CCR4分子の変異の可能性および腫瘍局所へのADCC活性に関わる細胞(NK細胞や単球など)浸潤なども含めた検討が必要であると考えられた。

また、本試験では病態が安定した患者ではヒト化抗CCR4モノクローナル抗体の継続投与がなされたが、1回/4週の投与になると活性化型Tregsの頻度が上昇し、それに伴い病態の進行が認められた。これはヒト化抗CCR4モノクローナル抗体による活性化型Tregs減少により、がん細胞と免疫系とで保たれていた平衡状態が活性化型Tregsの増加とともに崩れ、がん細胞の免疫系からの逃避、がん細胞増殖に至った可能性が考えられ、今後の検討課題と考えられた。

### E. 結論

ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体(0.1 mg/kg-1.0 mg/kg)投与によりがん腫に関わらず活性化型Tregsが末梢血から除去された。また1例ではあるが、腫瘍局所でも活性化型Tregsが著名に減少することが示された。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

英文

1. 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 (Corresponding Author). doi: 10.1126/science.aaa1292.

2. 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.

3. Nishikawa H, Sakaguchi S; Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. Jan 9:27:1-7 2014.

4. 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.

5. 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):5901-5907 2014

6. 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, Oka M, Doki Y, Nakayama E.; Vaccination With NY-ESO-1 Overlapping Peptides Mixed With Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in Patients With Cancers Expressing the NY-ESO-1 Antigen. *J Immunother.* Feb-Mar;37(2):84-92 2014. doi: 10.1097/CJI.000000000000017.

和文

- (1) 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.
- (2) 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
- (3) 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
- (4) 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
- (5) 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
- (6) 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
- (7) 西川博嘉

2. 学会発表

海外

- (1) Nishikawa H.: Regulatory T cells in anti-tumor immunity: Can they be controlled? 22nd Annual Cancer Immunotherapy Symposium. October 7<sup>th</sup>, 2014, New York (*Symposium*)
- (2) Adegbe D, Sugiyama D, Maeda Y, Ha D, Matsutani T, Nishikawa H and Sakaguchi S: TCR repertoire reshaping emanating from therapeutic modalities involving Treg depletion and/or immune checkpoint blockade. 22nd Annual Cancer Immunotherapy Symposium. October 6<sup>th</sup>, 2014, New York
- (3) Saito T, Nishikawa H., Wada H, Mori M, Doki Y and Sakaguchi S: Association between FoxP3+ T cells and regulatory T cells in colorectal cancer 22nd Annual Cancer Immunotherapy Symposium. October 6<sup>th</sup>, 2014, New York

国内

シンポジウム

- (1) 西川博嘉: 制御性 T 細胞を標的としたがん免疫療法 第 18 回日本がん分子標的治療学会シンポジウム 2014 年 6 月 27 日 宮城県仙台市
- (2) Hiroyoshi Nishikawa: Importance of controlling regulatory T cells for successful cancer immunotherapy 第 18 回日本がん免疫学会シンポジウム 2014 年 7 月 30 日 愛媛県松山市
- (3) 西川博嘉: Regulatory T cell を介したがん免疫応答制御の克服の可能性、第 34 回日本分子腫瘍マーカー研究会 シンポジウム 2014 年 9 月 24 日 神奈川県横浜市
- (4) 西川博嘉: 網羅的抗体反応測定法を用いた抗腫瘍免疫応答のモニタリング、第 42 回日本臨床免疫学会 6 学会合同シンポジウム 2014 年 9 月 25 日 東京都
- (5) Nishikawa H: Tregs in Cancer Immunotherapy、第 73 回日本癌学会 Core Symposium 2014 年 9 月 27 日 神奈川県横浜市

(6) 西川博嘉:制御性 T 細胞とがん免疫療法 第 63 回日本血液学会 教育講演 2014 年 11 月 1 日 大阪市

(7) 西川博嘉: がん免疫療法における制御性 T 細胞 第 27 回日本バイオセラピー学会 シンポジウム 2014 年 12 月 4 日 大阪市

(8) 西川博嘉: がん免疫療法と制御性 T 細胞 第 10 回日本がん分子標的治療学会 トランスレーショナルリサーチワークショップ 2015 年 1 月 20 日 東京都

#### 一般講演

(1) 前田優香、西川博嘉、杉山大介、西塔拓郎、西岡めぐみ、Danbee H、坂口志文: 制御性 T 細胞は腫瘍抗原特異的 CD8+T 細胞に特徴的なアネルギー状態を誘導する 第 18 回日本がん免疫学会 2014 年 8 月 1 日 愛媛県松山市

(2) Adeegbe D, Sugiyama D, Maeda Y, Ha D, Matsutani T, Nishikawa H and Sakaguchi S: Promotion of T cell dysfunction by regulatory T

cells in tumor; mechanisms and insights 第 18 回日本がん免疫学会 2014 年 8 月 1 日 愛媛県松山市

(3) 杉山大介、前田優香、西塔拓郎、西岡めぐみ、Danbee H、西川博嘉、坂口志文: 制御性 T 細胞は腫瘍抗原特異的 CD8+T 細胞に特徴的なアネルギー状態を誘導する 第 73 回日本癌学会 2014 年 9 月 25 日 神奈川県横浜市 (口頭発表)

(4) 岸裕幸、小林英治、杉山大介、西川博嘉、坂口志文、村口篤: メラノーマ患者および健康人 PBMC 中の CD4+T 細胞の単一細胞レベルでのレパートリー解析、第 73 回日本癌学会 2014 年 9 月 25 日 神奈川県横浜市 (口頭発表)

(5) 西塔拓郎、西川博嘉、和田 尚、坂口志文、森正樹、土岐裕一郎: 大腸癌での制御性 T 細胞の予後への影響、第 73 回日本癌学会 2014 年 9 月 27 日 神奈川県横浜市 (ポスター発表)

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 鶴殿 平一郎 所属 岡山大学 職名 教授

研究要旨

固形がん患者を対象に、ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体（mogamulizumab/KW-0761）の医師主導第 I/II 相臨床治験を多施設で実施する。第 I 相では、各症例につき mogamulizumab の安全性を検討し、制御性 T 細胞(Treg)の除去(減少)を確認した後に、岡山大学では細胞性免疫増強効果を検討した。

A. 研究目的

固形がん患者の抗 CCR4 抗体投与前後における CD8、CD4T 細胞機能について解析を行い、mogamulizumab 投与による T 細胞応答の変化を観察する。

B. 研究方法

抗CCR4抗体投与前後の患者（KMSH-01、02、03、04、05）末梢血単核球（PBMC）をPMAおよびionomycinにより刺激し、細胞内染色法によりCD8T細胞における免疫疲弊分子（PD-1、Tim-3）および サイトカイン（IL-2、TNF $\alpha$ 、IFN $\gamma$ ）産生を検出し、多機能性評価を行った。

（倫理面への配慮）

C. 研究結果

PMA/ionomycin刺激後の末梢血単核球中のCD8T細胞（KMSH-01、02、03、04、05）における疲弊分子PD-1、Tim-3の発現は、PD-1+Tim-3<sup>+</sup>細胞については大きな変化は観察されなかった。PD-1<sup>+</sup>Tim-3<sup>+</sup>細胞については5例中3例（KMSH01、02、04）が減少傾向にあった。PD-1+Tim-3<sup>+</sup>細胞は投与経過中、増減はほぼ観察されなかったが、維持投与時には上昇する例

（KMSH-01、KMSH-03）があった。サイトカイン産生の検出では、抗体投与後サイトカインの上

昇が観察された例は5例中4例（KMSH-01、02、03、05）で、そのうち多機能性（サイトカイン同時産生能）上昇例は3例（KMSH-01、03、05）で、IFN $\gamma$ 産生のみ上昇したのは1例（KMSH-02）であった。

D. 考察

抗CCR4抗体投与後の患者CD8 T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、mogamulizumab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る。

E. 結論

Mogamulizumab投与により末梢血CD8T細胞において、Tim-3陽性細胞は減少傾向にあり、サイトカイン産生も上昇している。本項目では、非特異的なCD8T細胞応答についての検討を行ったが、がん抗原特異的なCD8T細胞の応答も同様に活性化しているかどうかを検討する必要がある。また抗体投与により変動したこれらCD8T細胞応答および疲弊マーカーが臨床効果と相関するかを検討する必要がある。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

英文

- (1) Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E and Udono H. Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 10; 112(6):1809-14, 2015.
- (2) 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.
- (3) Ichiyanagi T, Ichiyanagi K, Ogawa A, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chuma S, Sasaki H, Udono H. HSP90 $\alpha$  plays an important role in piRNA biogenesis and retrotransposon repression in mouse. Nucleic Acids Res. 42(19): 11903-11, 2014.
- (4) Eikawa S, Udono H. Monitoring multifunctionality of immune-exhausted CD8 T cells in cancer bearing patients. Methods in Mol Biol., 1142: 11-7, 2014.
- (5) 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.

和文

- (6) 榮川伸吾、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.

### 2. 学会発表

- (7) 鵜殿平一郎: メトホルミンによる腫瘍局所の免疫疲弊解除. 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会 (教育講演)、東京、2015, 2 月.
- (8) Eikawa S, Negawa M, Kunisada Y, Uehara T, Nishida M, Ichiyanagi T, Yamazaki C, Udono H. Metformin induced tumor infiltrating CD8 T effector memory cells with multiple cytokine producing ability. The 43<sup>rd</sup> Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (oral presentation), Kyoto, 2014.
- (9) 鵜殿平一郎、榮川伸吾: メトホルミンによる腫瘍局所の免疫疲弊解除. 第 87 回日本生化学会大会 (シンポジウム)、京都、2014.
- (10) 鵜殿平一郎: エネルギーセンサーを介したストレス応答と腫瘍免疫の関わり. 第 9 回臨床ストレス応答学会 (シンポジウム)、岡山、2014 年.
- (11) 榮川伸吾: 2 型糖尿病薬メトホルミンの腫瘍局所における CD8 T 細胞疲弊解除. 第 9 回臨床ストレス応答学会 (口演)、岡山、2014 年.
- (12) Eikawa S, Negawa M, Kunisada Y, Uehara T, Ichiyanagi T, Yamazaki C, Udono H. Activated AMPK induced tumor infiltrating CD8 T-cells with effector memory phenotype and functional reversion. The 73<sup>rd</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (poster presentation), Yokohama, 2014.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

特願 2014-166593「免疫評価方法とその評価された免疫活性化剤」

出願日: 平成 26 年 8 月 19 日

鵜殿平一郎、榮川伸吾、豊岡伸一

### 2. 実用新案登録

なし

### 3. その他

なし