

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）

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

我々は ATL に対する非侵襲的治療の開発を目的とし、病因ウイルス抗原である Tax を標的とした樹状細胞ワクチンの実用化を目指した治験を計画した。平成 24 年にプロトタイプである既治療 ATL 患者に対する HTLV-I Tax 標的樹状細胞ワクチン単独の第 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。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(2 例で 2 年以上経過観察中)。これらの症例では、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増強を目的とし、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 26 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、GCP 組織整備とともに関連 SOP を作成し PMDA 薬事戦略相談、施設 IRB 承認を経て治験を開始した。

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. 松岡 雅雄 | 京都大学ウイルス研究所 | 教授 |
| 4. 石田 高司 | 名古屋市立大学 | 准教授 |
| 5. 渡辺 信和 | 東京大学医科学研究所(～2月) 特任准教授
九州がんセンター (3月～) | 医長 |
| 6. 福田 哲也 | 東京医科歯科大学 | 助教 |
| 7. 白土 基明 | 九州大学大学院 | 助教 |
| 8. 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、施設 IRB 承認を経て治験計画届を提出。医師主導治験を開始した。

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第 I 相臨床研究追跡調査

本研究に先行して平成 24 年度に実施した既治療 ATL 患者を対象とした Tax 特異的 DC ワクチン単独療法の第 I 相臨床研究追跡調査を実施し、長期安全性評価、免疫解析を行い、有効性を検討した。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 26 年度は PMDA 薬事戦略相談対面助言に基づき治験薬製造における生物由来原料を見直し(培地、試薬変更)、製造手順書、指図書・記録書を修正した。健常人 3 例のアフェレーシス検体を用いた治験薬製造工程のバリデーション、および治験薬の品質・安全性・安定性の検証、非臨床試験(マウス毒性試験、造腫瘍性試験)を実施した。また多施設での治療応用に向けた製剤の搬送試験を開始した。ワクチン製剤の調製は、九州大学 CAMI の細胞調製施設で実施された。また治験調整事務局、安全性

部門を九州がんセンターに設置、モニタリング、データマネジメント、監査をCROに委託した。

3. Tax 特異的 CTL の解析 (神奈木班員)

臨床研究完遂例の末梢血単核球を用い、Tax テトラマー解析を実施。Tax テトラマー陽性 CD8+T 細胞の頻度と機能を評価した。

4. HTLV-1 プロウイルス解析(松岡班員)

HTLV-1 bZIP factor (HBZ) は全ての ATL 症例で発現しており、免疫療法の標的となることが期待できる。HBZ を発現するワクチニアウイルスを作製し、マウスに接種後、抗原特異的免疫反応を解析した。

5. 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。

6. マルチカラーFACS 解析システムによる ATL 細胞、制御性 T 細胞および HLA-A 発現の同時解析

ATL 細胞、Treg における表面マーカー、および Foxp3 や CTLA-4 など細胞内機能分子の同時解析を検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は、治験に関する倫理指針を遵守して行う。「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」は、治験実施施設である九州がんセンター、九州大学の IRB 承認が得られ治験計画届が受理された。特殊検査・付随研究においては、「Tax に対する CTL の免疫動態」は東京医科歯科大学の IRB により承認。「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で承認。「抗 CCR4 抗体による免疫賦活作用」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23-30ヶ月の経過で安全性は確認された。部分寛解が得られた2症例は、いずれも2年以上無治療経過観察で生存中であり、内1例は6ヶ月後の評価で完全寛解が得られ、現在維持ができています。

1-2. Tax テトラマー解析による CTL 検出

末梢血 CD8+細胞中の Tax 特異的テトラマー陽性 CTL 解析において、3 症例とも DC ワクチン接種開始から 16-20 週目の末梢血検体で、培養中に Tax 特異的 CTL の増殖応答が観察された。しかし CTL の機能 (増殖能、IFN γ 産生能) は、ワクチン接種 6 ヶ月以降で次第に低下傾向を示した。ATL に対する腫瘍ワクチン療法は安全で有望な治療方法と考えられるが、時間経過とともに CTL 機能の低下が認められ、免疫抑制に抗する工夫が必要と考えられた。

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

PMDA薬事戦略相談 (事前面談8回、対面助言4回)、施設IRB承認を経て平成26年12月17日に治験計画届が承認された。

2-1. 治験実施体制

- ・ 治験実施施設 九州がんセンター、九州大学 (追加予定：東京医科歯科大学、名古屋市立大学)
- ・ 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

2-2. 治験骨子

- ・ ワクチン療法のデザイン：第 I a/I b 相
- ・ 登録期間：登録開始から 2 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：9-18 症例
- ・ 主要評価項目：安全性・忍容性の確認
- ・ 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 (sIL-2R)、血中 Mogamulizumab 濃度、

2-3. 治験製剤

PMDA薬事戦略相談を通して治験製剤の品

質・安全性の観点から生物由来原料、最終製品規格、出荷試験の見直しを行い、培地・試薬の変更、微生物試験の妥当性を検討した。新たに健常人ドナーのアフェレーシス検体で細胞調製工程、規格試験のバリデーション、安定性試験を実施。非臨床試験としてin vitroでの造腫瘍性試験(核型試験、軟寒天コロニー形成試験、延長培養試験)によりサイトカイン非依存性、足場非依存性の増殖能がないことを確認した。また免疫不全マウスを用いた反復投与試験(GLP準拠)では明らかな毒性を認めず安全性を確認した。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。製剤の搬送試験では、製剤品質を解析・評価するための施設間標準化が進行中である。

2-4. GCP組織整備

平成26年度はGCP組織整備を推進し治験調整委員会、効果安全評価委員会、治験調整事務局、安全性情報部門を設置し各担当者を選定した。GCP運用管理に関するSOP書類の作成、データマネジメントの一環としてEDCシステムを導入した。モニタリング、監査部門、統計解析はCROに委託。治験前GCP監査を終了、治験実施体制が整った。

4. HTLV-1プロウイルス解析

HBZ を発現するワクチニアウイルスを作製し、その免疫原性を解析した。免疫により細胞傷害性Tリンパ球の誘導が可能であり、その細胞傷害性Tリンパ球はHBZ発現細胞の抑制、担がんマウスの生存延長をもたらした。Taxに加えてHBZも免疫治療の標的となることが示され、複数の標的分子の併用は、ATLに対する免疫療法の相乗効果が期待できるのみでなく対象拡大につながることを期待できる。

5. 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。

6. マルチカラーFACS解析システムによるATL細胞、制御性T細胞およびHLA-A発現の同時解析

健常人末梢血を用いた予備実験を実施し、Tregにおける表面マーカー、およびFoxp3やCTLA-4など細胞内機能分子の同時解析が可能であることが示された。免疫療法における免疫応答と残存病変のモニタリングの手段として、有用なツールとなることが期待された。

D. 考察

ATLに対するTax特異的DCワクチン単独の第I相臨床研究(プロトタイプ)を完遂した3症例で安全性が確認された。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。本研究では、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。本研究は、国内独自のシーズを臨床展開する独創的なトランスレーショナルリサーチであり、非侵襲的治療の実用化は社会的意義が大きいと考える。

E. 結論

ATLに対するHTLV-1 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「抗CCR4抗体を併用した複合的ワクチン療法：第Ia/Ib相試験」を実施し安全性、有効性を検証する。本年度は、PMDA薬事戦略相談、施設IRB承認を経て治験計画届を提出。医師主導治験を開始した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. [Suehiro Y](#), [Hasegawa A](#), [Iino T](#), [Sasada A](#), [Watanabe N](#), [Matsuoka M](#), [Takamori A](#), [Tanosaki R](#), [Utsunomiya A](#), [Choi I](#), [Fukuda T](#), [Miura O](#), [Takaishi S](#), [Teshima T](#), [Akashi K](#), [Kannagi M](#), [Uike N](#), [Okamura J](#). Clinical outcomes of a novel therapeutic vaccine with Tax peptide-pulsed dendritic cells for adult T-cell leukaemia/lymphoma in a pilot study. *British journal of haematology*, (2015). doi: 10.1111/bjh.13302

2. 末廣陽子. ATL に対する免疫療法の現況 . 細胞 46 (6) : 266-269 , 2014 . (2014 年 6 月 30 日公刊)
3. 神奈木真理、長谷川温彦、金原秀一、末廣陽子. 成人 T 細胞白血病に対する免疫療法(AZT/IFN- α 、骨髄移植、樹状細胞ワクチンなど). 血液フロンティア, 医薬ジャーナル社 24: 1631-8, 2014

2. 学会発表

〈国際学会〉

1. Choi I, Eto T, Tanosaki R, Shimokawa M, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Takemoto S, Taguchi J, Fukushima T, Kato K, Teshima T, Nakamae H, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N. Unrelated Bone Marrow Transplantation with reduced Intensity Conditioning Regimen for elderly patients with adult T-cell leukemia/lymphoma, Feasibility Study with two-year follow up data. The 19th Congress of the European Hematology Association, June 12-15, 2014, Milan, Italy.
2. Suehiro Y, Iino T, Hasegawa A, Watanabe N, Matsuoka M, Tanosaki R, Utsunomiya A, Choi I, Shiratsuchi M, Teshima T, Akashi K, Kannagi M, Uike N, Okamura J. Excellent quality of lives for preciously treated adult T-cell leukemia/lymphoma patients after autologous dendritic cell vaccine therapy targeting HTLV-1 Tax antigens, European Society for Medical Oncology 2014, 26-30 September 2014, Madrid, Spain.
3. Tanosaki R, Choi I, Shimokawa M, Utsunomiya A, Tokunaga M, Nakano N, Fukuda T, Nakamae H, Takemoto S, Kusumoto S, Tomoyose T, Sueoka E, Shiratsuchi M, Suehiro Y, Yamanaka T, Okamura J, Uike N. Allogeneic Peripheral Blood Stem Cell Transplantation Using Reduced Intensity Conditioning Regimen with Fludarabine and Busulfan from HLA Matched Related Donor for Elderly Adult T Cell-Leukemia/Lymphoma Results-of-Multicenter-Phase-II Study (ATL-NST-3). (poster) 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, Dec. 6-9, 2014, San Francisco, CA.

〈国内学会〉

1. 渡辺恵理、佐藤奈津子、末廣陽子、鵜池直邦、渡辺信和. 成人T細胞白血病(ATL)に対する樹状細胞療法後のATL細胞と免疫細胞動態の同時解析. 第24回日本サイトメトリー学会, 2014年6月28日-29日, 関西医科大学(大阪府枚方市)
2. 飯野忠史、末廣陽子、長谷川温彦、渡辺信和、田野崎隆二、宇都宮與、松岡雅雄、豊嶋崇徳、赤司浩一、鵜池直邦、岡村 純、神奈木真理. 成人T細胞性白血病に対する樹状細胞ワクチン療法. 第18回日本がん免疫学会総会, 2014年7月30日-8月1日, 松山市.
3. 渡辺恵理、佐藤奈津子、渡辺信和、末廣陽子、鵜池直邦. ATLに対する樹状細胞療法後のATL細胞と免疫細胞動態のマルチカラーFACS解析. 第1回HTLV-1学会学術集会, 2014年8月23-24日, 東京.
4. 末廣陽子. ATL 発がん機構と治療の新開発成人T細胞白血病/リンパ腫に対する免疫療法:免疫機序を介した多面的治療戦略のアプローチ. シンポジウム, 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月25-27日, 横浜.
5. 渡辺恵理、佐藤奈津子、末廣陽子、崔日承、鵜池直邦、渡辺信和. 12カラー・フローサイトメトリーによるATLに対する樹状細胞療法後のATL細胞と免疫細胞の同時解析、w第76回日本血液内科学会学術集会, 2014年10月31日-11月1日, 大阪.
6. Kannagi M, Hasegawa A, Kinpara S, Suehiro Y. The roles of acquired and innate immunity in HTLV-1 infection: Implication for therapy and pathogenesis. 第62回日本ウイルス学会学術集会、シンポジウム(S06 ウイルス感染に対する免疫応答) 2014年11月10-12日、横浜

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし