

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）

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

ATL 患者において、血液中 HTLV-1 Tax 特異的 CTL の存在比率は血清 sIL2R 値、HTLV-1 load と有意な負の相関を示した。このことは、HTLV-1 Tax 特異的 CTL の存在が ATL の腫瘍量を規定する因子の一つであることを示唆し、ATL 治療の標的分子としての、Tax の妥当性を示す。免疫を負に制御する制御性 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

CCR4 抗体治療中の 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。CCR4 抗体治療中の 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。

(倫理面への配慮)

患者由来の腫瘍細胞を用いた研究については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の承認を得た上で実施している。

C. 研究結果

CCR4 抗体投与前の ATL 患者において、血液中 HTLV-1 Tax 特異的 CTL の存在比率 (%/全リンパ球)は血清 sIL2R と有意な負の相関を示した[相関係数 -0.360, P= 0.015 (n=51)]。また、HTLV-1 Tax 特異的 CTL の存在比率は、血液中 HTLV-1 load (copies/1000PBMC) と有意な負の相関を示した [相関係数 -0.410, P= 0.005 (n=51)]。一方、血液中 CMV 特異的 CTL の存在比率 (%/全リンパ球)は血清 sIL2R [相関係数 0.046, P= 0.766 (n=51)] および 血液中 HTLV-1 load (copies/1000PBMC) [相関係数 0.138, P= 0.365 (n=51)] とそれぞれ有意な相関を示さなかった。このことは、HTLV-1 Tax 特異的 CTL の存在が ATL の腫瘍量を規定する因子の一つであることを示唆し、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。また、ヒトでは FOXP3 分子発現の Treg 特異性が低い、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。また non-Treg 中に CCR4 を発現する sub-population を認める。よって、CCR4 抗体で標的となる Treg は、理論上 effector Treg である。実際に CCR4 抗体の治療を受けた ATL 患者では、effector Treg 分画に存在する細胞比率は著しく低下した。Tax に対する特異的 CTL の存在比率は一定の傾向を示さなかったが、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、CCR4 抗体治療によって effector Treg 分画の細胞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。

CCR4 抗体治療を受けた ATL 細胞は CCR4 陽性であり、さらに ATL 細胞を FOXP3 と CD45RA の発現レベルで分類すると、約 40%が effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi})、約 15%が non-Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{lo})、残り約 45%が非特異的な形質を示していた。従って CCR4 抗体治療によって除去される effector Treg 分画内の細胞には Treg に加え、ATL 細胞自身も含まれる。

HTLV-1 Tax に対する血清中の抗体価については、ATL 患者における HTLV-1 Tax に対する免疫応答の程度を示すバイオマーカーになり得る所見を得ており、更に解析を進めている。

D. 考察

HTLV-1 Tax 特異的 CTL は ATL の腫瘍量を規定する因子の1つと考えられる。また、CCR4 抗体治療は effector Treg および ATL 細胞を除去することにより、Tax 特異的な免疫応答を増強せしめる。

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, 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).
2. 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 Jan 30. [Epub ahead of print]
3. 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.
4. 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)
5. 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)
6. 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.

7. 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)
8. 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.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特になし