

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告

ATL の分子病態に基づく治療層別化のためのマーカー開発と分子標的の同定

今泉 芳孝 長崎大学病院血液内科 講師

研究要旨

成人 T 細胞白血病・リンパ腫（ATL）は難治性の造血器悪性腫瘍である。抗 CCR4 抗体が開発され、今後 CCR4 陽性症例と陰性症例で治療が層別化される可能性がある。初発 ATL 症例では大多数の症例で CCR4 が陽性であるが、再発・再燃症例における CCR4 発現については十分に検討されていない。今回、自験例で、CCR4 抗体医薬投与後に CCR4 陰性 ATL 細胞分画の増加を認めたため、CCR4 陰性化の分子動態について検討した。

A. 研究目的

成人 T 細胞白血病・リンパ腫（ATL）は難治性の造血器悪性腫瘍である。現在、多剤併用化学療法の対象となる、急性型、リンパ腫、予後不良因子を有する慢性型については、病型による差はなく同様の治療戦略がとられている。近年ケモカイン受容体 CCR4 に対する抗体医薬が開発され、CCR4 陽性 ATL に対して臨床応用されていることから、分子標的に基づく治療の層別化の候補としては CCR4 発現の有無によるものが挙げられる。一方で、CCR4 は ATL の 90% 以上の症例において陽性であることが報告されており、大多数の ATL が投与対象となり得ると考えられている。しかしながら、抗 CCR4 抗体投与後の CCR4 発現の変化や、それに伴う抗 CCR4 抗体に対する耐性の分子機構については、十分に検討されていない。今回我々は、抗 CCR4 抗体投与中に CCR4 陰性 ATL 細胞割合の増加を

認めた再発 ATL 症例における CCR4 発現の変化の分子機構について検討した。

B. 研究方法

末梢血異常リンパ球増加、腹腔内リンパ節腫大で再発した ATL 症例に対して、治療前に末梢血の異常細胞が CCR4 陽性であることをフローサイトメトリー（FCM）で確認し、抗 CCR4 抗体医薬による治療を選択した。治療開始後、末梢血の異常リンパ球数は減少傾向を認めたが、3 回投与後も LDH 上昇傾向を認めた。CT では、腹腔内リンパ節は増大傾向を認め、増悪と判断した。末梢血にも異常リンパ球の残存を認めたため、治療前後の CCR4 発現の変化を FCM で検討した。また、クローンの変化の有無を HTLV-1 サザンプロットで、プロウイルス量（PVL）の変化を定量 PCR で評価した。CCR4 の上流の転写因子、CCR4、および他の下流遺伝子の発現

を半定量PCRで評価した。*CCR4*遺伝子変異の有無を治療前後のATL細胞を用いて評価した。(倫理面への配慮)

所属施設の倫理委員会の承認を得た上で、ヘルシンキ宣言に従い研究を行った。

C. 研究結果

末梢血異常リンパ球は、治療前はほとんどの細胞が*CCR4*陽性(リンパ球領域でCD25 79.3%、*CCR4* 77.3%)であったが、治療後のFCMでは*CCR4*陰性分画の割合が増加(リンパ球領域でCD25 42.0%、*CCR4* 8.5%)していた。治療前後でPVLは減少(60.3 copies/100PBMCs→17.0 copies/100PBMCs)していたが、サザンプロットのバンドパターンは不変で、同一クローンの細胞と考えられた。RT-PCRでの検討でも治療後は*CCR4* mRNA発現が著明に低下していた。一方、*CCR4*の発現調節に関与する転写因子*FRA-2*、*JUNDO*の発現は維持されていた。また、*FRA-2*、*JUNDO*の下流遺伝子(*c-MYB*、*SOX4*など)の発現も保たれており、*CCR4*特異的な発現低下と考えられた。*CCR4*のSanger sequencingでは治療前後で新規に獲得された変異は認めなかった。

D. 考察

*CCR4*特異的な発現低下の原因として、epigenetic異常の関与や、clonal evolutionによる*CCR4*陰性サブクローンの選択的な増生が示唆された。

E. 結論

抗*CCR4*抗体医薬投与後の再発・再燃ではATL細胞における*CCR4*発現の変化を来す可能性があり、抗体医薬再投与前に改めて*CCR4*発現の有無について検討することが望まれる。抗*CCR4*抗体医薬に対する耐性の克服のために、*CCR4*陰性化の分子機構についてさらな

る検討が必要である。

F. 健康危険情報 記載略

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Taguchi M, Imaizumi Y, Sasaki D, Higuchi T, Tsuruda K, Hasegawa H, Taguchi J, Sawayama Y, Imanishi D, Hata T, Yanagihara K, Yoshie O, Miyazaki Y. Molecular analysis of loss of *CCR4* expression during mogamulizumab monotherapy in an adult T cell leukemia/lymphoma patient. *Ann Hematol*. [Epub ahead of print], 2014 Oct 23
2. Taniguchi H, Hasegawa H, Sasaki D, Ando K, Sawayama Y, Imanishi D, Taguchi J, Imaizumi Y, Hata T, Tsukasaki K, Uno N, Morinaga Y, Yanagihara K, Miyazaki Y. Heat shock protein 90 inhibitor NVP-AUY922 exerts potent activity against adult T-cell leukemia-lymphoma cells. *Cancer Sci*, 105(12): 1601-1608, 2014.
3. Makiyama J, Imaizumi Y, Tsushima H, Taniguchi H, Moriwaki Y, Sawayama Y, Imanishi D, Taguchi J, Hata T, Tsukasaki K, Miyazaki Y. Treatment outcome of elderly patients with aggressive adult T cell leukemia-lymphoma: Nagasaki University Hospital

experience. *Int J Hematol*, 100(5): 464-472, 2014.

4. Yoshida N, Karube K, Utsunomiya A, Tsukasaki K, Imaizumi Y, Taira N, Uike N, Umino A, Arita K, Suguro M, Tsuzuki S, Kinoshita T, Ohshima K, Seto M. Molecular characterization of chronic-type adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Res*, 74(21): 6129-6138, 2014.
5. Fukushima T, Nomura S, Shimoyama M, Shibata T, Imaizumi Y, Moriuchi Y, Tomoyose T, Uozumi K, Kobayashi Y, Fukushima N, Utsunomiya A, Tara M, Nosaka K, Hidaka M, Uike N, Yoshida S, Tamura K, Ishitsuka K, Kurosawa M, Nakata M, Fukuda H, Hotta T, Tobinai K, Tsukasaki K. Japan Clinical Oncology Group (JCOG) prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma (JCOG0902A). *Br J Haematol*, 166(5): 739-748, 2014.

2. 学会発表

1. 新野大介、谷口広明、今泉芳孝、佐々木大介、長谷川寛雄、三好寛明、郭英、加藤丈晴、柳原克紀、宮崎泰司、大島孝一: Clinical significance of overexpression of MALT1 in adult T-cell leukemia/lymphoma, 第76回日本血液学会,大阪,2014年10月31日~11月2日(口演)
2. 野坂生郷、岩永正子、石澤賢一、石田陽治、内丸薫、石塚賢治、天野正宏、石田高司、

今泉芳孝、鵜池直邦、宇都宮與、大島孝一、河井一浩、田中淳司、戸倉新樹、飛内賢正、渡邊俊樹、塚崎邦弘: A nationwide survey of patients with adult T cell leukemia/lymphoma (ATL) in Japan: 2010-2011, 第76回日本血液学会, 大阪, 2014年10月31日~11月2日(口演)

3. 加藤丈晴、今泉芳孝、谷口広明、牧山純也、上条玲奈、北之園英明、小林裕児、田口正剛、松尾真稔、安東恒史、澤山靖、新野大介、田口潤、今西大介、波多智子、大島孝一、宮崎泰司: Maintenance therapy in elderly patients with adult T-cell leukemia-lymphoma, 第76回日本血液学会, 大阪, 2014年10月31日~11月2日(ポスター)
 4. 谷口広明、今泉芳孝、高崎由美、北之園英明、中島潤、加藤丈晴、牧山純也、安東恒史、澤山靖、今西大介、田口潤、長谷川寛雄、波多智子、塚崎邦弘、宮崎泰司: Analysis of acute crisis of smoldering and chronic adult T-cell leukemia-lymphoma, 第76回日本血液学会,大阪, 2014年10月31日~11月2日(ポスター)
 5. 谷口広明、今泉芳孝、北之園英明、加藤丈晴、牧山純也、安東恒史、澤山靖、今西大介、田口潤、波多智子、長谷川寛雄、新野大介、大島孝一、宮崎泰司:末梢血と肝臓の病変で発症しindolentな経過をたどった成人T細胞白血病リンパ腫, 第54回日本リンパ網内系学会総会, 山形,2014年6月19日~6月21日(ポスター)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし