

厚生労働科学研究委託費（がん対策推進総合研究事業）
委託業務成果報告（総括）

同種移植後再発の成人T細胞白血病リンパ腫に対する次世代型レトロウイルスベクターによるT細胞レセプター遺伝子導入ドナーリンパ球輸注療法

業務主任者 池田 裕明 三重大学 大学院医学系研究科 教授

研究要旨：本研究では同種造血幹細胞移植後の再発した成人T細胞白血病リンパ腫（ATLL）の治療として、ATLLに高発現するNY-ESO-1抗原特異的なT細胞レセプター（TCR）遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法(DLI)の医師主導治験実施を目指した実用化研究を行うことを目的とする。独自開発の内因性TCR発現を抑制するレトロウイルスベクターを用いてTCR遺伝子導入し、腫瘍特異的反応性(GVL)を強めGVHDを低減し、有効かつ安全性の高いドナーリンパ球輸注療法を開発する。平成26年度はTCR遺伝子導入T細胞の薬理活性と安全性に関する非臨床試験を行った。また、自家細胞を用いた場合の試験薬概要書を作成し、自家リンパ球を用いた場合の輸注プロトコルについてPMDAと薬事戦略相談の事前面談を行った。

1. 薬理薬効、毒性、安全性に関する非臨床試験

池田 裕明

三重大学 大学院医学系研究科 教授

俵 功

三重大学医学部附属病院 助教

2. 治験プロトコルの作製

池田 裕明

三重大学 大学院医学系研究科 教授

珠玖 洋

三重大学 大学院医学系研究科 教授

3. 薬事戦略相談、治験準備

池田 裕明

三重大学 大学院医学系研究科 教授

ナーリンパ球輸注療法が試みられるが、深刻な合併症としてのGVHD克服と有効性の向上が課題である。

本研究では同種造血幹細胞移植後の再発ATLLの治療として、ATLLに高発現するNY-ESO-1抗原特異的なT細胞レセプター（TCR）遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法の医師主導治験実施を目指し実用化研究を行う。独自開発の内因性TCR発現を抑制するレトロウイルスベクターを用いてTCR遺伝子導入し、腫瘍特異的反応性(GVL)を強めGVHDを低減し、有効かつ安全性の高いドナーリンパ球輸注療法を開発する。

A. 研究目的

成人T細胞白血病リンパ腫（ATLL）に対し同種造血幹細胞移植は有効だが3年非再発生存は30%前後である。再発例にド

B. 研究方法

In vitroにおけるヒトATLL細胞への特異的反応性、正常細胞への低反応性を確認する。免疫不全マウスを用いATLLの

造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法の *in vivo* 評価系樹立する。近交系マウスを用い白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法の *in vivo* 評価系樹立する。これらの *in vivo* 評価系を用いて薬効薬理、薬物動態、安全性薬理、毒性データ獲得する。また、これらのデータを基に治験プロトコルを作成する。品質データ(治験薬提供者作成)と合わせ、薬事戦略相談、治験準備を実施する。具体的には、同種リンパ球を用いた治験製品概要書の作製、治験プロトコルの検討、治験実施施設の選定、参加施設の組織化と実施体制ネットワーク作成、規制当局との相談、を行う。

(倫理面への配慮)

本研究に用いるヒト末梢血等の検体の採集、解析はヘルシンキ宣言にのっとり行なわれ、全て三重大学医学部研究倫理委員会にて承認されたプロトコルに従い、被験者本人の書面による同意書を得て実施される。採取した検体は本人特定不可能な暗号化がなされ盗難防止処置を施した冷蔵庫、液体窒素タンクに保存する。被験者個人情報に関しては匿名化され、個人のプライバシー、遺伝子解析の結果が外部に漏洩されないよう厳重な注意、処置が施行される。

レトロウイルスを用いたヒト末梢血単核球への腫瘍抗原特異的TCRの導入実験は三重大学の組換えDNA実験審査委員会及び三重大学医学部研究倫理委員会において承認されている。これらの実験は三重大学において承認を受けたP2レベルの研究室にて行なわれる。

実験動物を用いたT細胞輸注療法、遺

伝子免疫療法の研究は三重大学の組換えDNA 実験審査委員会、三重大学医学部研究倫理委員会、動物実験審査委員会においてすでに承認を受けており、三重大学において承認を受けた実験室、飼育室において実施される。

C. 研究結果

「TCR 遺伝子導入T細胞の薬理活性と安全性に関する非臨床試験」 -1. NY-ESO-1 陽性腫瘍細胞に対する *in vitro* の細胞傷害性試験を実施した。TCR 遺伝子を導入したヒトT細胞は NY-ESO-1 抗原と HLA-A*24:02 を発現する腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することを確認した。 -2. 免疫不全マウスを用いた、TCR 遺伝子改変ヒトT細胞によるドナーリンパ球輸注療法の評価系を作製した。本評価系を用いて、ドナーリンパ球中の CD4、CD8 陽性両 T 細胞サブセットが GVHD と抗腫瘍効果に果たす役割を検討した。その結果、GVHD 発症には CD4、CD8 陽性両 T 細胞が関わるが、siTCR ベクターを用いて TCR 遺伝子改変することで CD4、CD8 陽性 T 細胞は共に GVHD を起こさなくなることが示された。一方、抗腫瘍効果は主に TCR 改変された CD8 陽性 T 細胞が担うことが示された。また、本評価系における GVHD 病態の解析を行い、GVHD により顕著な骨髄破壊が起こるが、siTCR ベクターを用いて TCR 遺伝子改変することで骨髄破壊を起こさなくなることが示された。 -3. 近交系マウスを用いた、白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法の *in vivo* 評価系の作製を行った。 -4. TCR の認識する抗原ペプチドについ

てアラニン置換による交差反応性を検討し、正常タンパク質由来のペプチドに対する予期せぬ交差反応性の可能性が極めて低い事を確認した。「治験薬概要書の作成」NY-ESO-1 特異的 TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球に関して、自家細胞を用いた治験製品概要書(2014年12月2日第1版完成)を作製した。-1. 「PMDA との相談等」
-1. 9月30日 薬事戦略相談の事前面談(NY-ESO-1-TCR 遺伝子導入自家 T リンパ球を用いた場合の輸注療法プロトコルについて)を行った。

D. 考察

TCR 遺伝子導入 T 細胞の薬理活性と安全性に関する非臨床試験を行った。また、自家細胞を用いた場合の試験薬概要書を作成し、自家リンパ球を用いた場合の輸注プロトコルについて PMDA と薬事戦略相談の事前面談を行った。

E. 結論

平成26年度は TCR 遺伝子導入 T 細胞の薬理活性と安全性に関する非臨床試験を行い、自家細胞を用いた場合の試験薬概要書を作成し、自家リンパ球を用いた場合の輸注プロトコルについて PMDA と薬事戦略相談の事前面談を行うことにより治験開始に向けて順調に準備が進んだ。平成27年度にさらに追加非臨床試験の実施と薬事戦略相談、治験準備を行い、平成28年度に第1相医師主導治験実施を目指すことが可能と考えられる。

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, Imai N, Ishihara M, Saito K, Sugino S, Ueda S, Ishikawa T, Kokura S, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T, Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T, Yoshioka H, Tomura D, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Katayama N, Shiku H. Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene- transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer. Clin. Cancer Res., 2015 in press.
- 2) Ishihara M, Seo N, Mitsui J, Muraoka D, Tanaka M, Mineno J, Ikeda H, Shiku H. Systemic CD8+ T Cell-Mediated Tumorcidal Effects by Intratumoral Treatment of Oncolytic Herpes Simplex Virus with the Agonistic Monoclonal Antibody for Murine Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor. PLoS One, 9(8):e104669. 2014.
- 3) Asai H, Fujiwara H, Kitazawa S, Kobayashi N, Ochi T, Miyazaki Y, Ochi F, Akatsuka Y, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Ikeda H, Shiku H, Yasukawa M. Adoptive transfer of genetically engineered WT1-specific cytotoxic T lymphocytes does not induce renal injury. J Hematol Oncol. 7:3, 2014.

- 4) O'Sullivan T, Saddawi-Konefka R, Gross E, Tran M, Mayfield SP, Ikeda H, Bui JD. Interleukin-17D mediates tumor rejection through recruitment of natural killer cells. *Cell Rep.*, 7(4):989-998, 2014.
- 5) Hosoi H, Ikeda H, Imai N, Amaike C, Wang L, Orito Y, Yamane M, Ueno H, Ideno M, Nukaya I, Enoki T, Mineno J, Takesako K, Hirano S, Shiku H. Stimulation through very late antigen-4 and -5 improves the multifunctionality and memory formation of CD8⁺ T cells. *Eur J. Immunol.*, 44:1727-1758, 2014.
- 6) 土川貴裕、京極典憲、我孫子剛大、和田雅孝、宮谷内健吾、池田裕明、影山慎一、珠玖洋、平野聡 進行・再発癌に対する新規癌ワクチンCHP-MAGE-A4の臨床応用と特異的免疫応答の解析 分子細胞治療フロンティア2015 157-162 飯田橋パピルス 2014.
- 7) 池田裕明 がんに対する免疫細胞療法 JSI Newsletter Vol.23 No. 1 8-9 特集 癌免疫・細胞療法Revisited 日本免疫学会事務局 2014.
- 2.学会発表
- 1) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Isao Tawara, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Naoyuki Katayama, Hiroshi Shiku. Tumor-specific TCR-engineered donor lymphocyte infusion therapy with reduced GVHD induction utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. American Society of Hematology 56th annual meeting, SF, USA, 2014.
- 2) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Tumor-specific donor Lymphocyte infusion therapy with allogeneic T cells utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. Society for immunotherapy of Cancer 29th Annual Meeting. National Harbor, MD, USA, 2014.
- 3) 池田裕明 TCR遺伝子改変T細胞輸注による新しいがん免疫療法の臨床開発 2014第63回日本輸血・細胞治療学会東海支部例会 名古屋 2014.
- 4) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. TCR gene therapy with allogeneic T cells. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.
- 5) Yasushi Akahori, Motohiro Yoneyama, Hiroaki Ikeda, Yuki Orito, Yoshihiro Miyahara, Yasunori Amaishi, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Development of chimeric antigen receptor immunotherapy targeting intracellular WT1 gene

product. 第20回日本遺伝子治療学会
学術集会 東京 2014.

6) Hiroaki Uneno, Hiroaki Ikeda, Ayumi
Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai,
Sachiko Okamoto, Junichi Mineno,
Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku.
Development of TCR gene therapy
with allogeneic T cells. 第18回日
本がん免疫学会総会 松山 2014.

7) 赤堀泰 米山元裕 池田裕明 宮原慶
裕 織戸由貴 天石泰典 岡本幸子 峰
野純一 竹迫一任 珠玖洋 WT1ペプチ
ド-HLA-A24複合体を認識するヒト抗体
の単離とそれを用いたCAR治療法の開発
第18回日本がん免疫学会総会 松山
2014.

H. 知的所有権の出願・取得状況

該当無し