

治験プロトコルの作製

業務主任者 珠玖 洋 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。本業務項目ではin vivo評価系における検討から得られるデータを基に、治験プロトコルを検討し、治験申請に必要とされるプロトコル作成を行う。また、プロジェクトの総合推進を合わせて行う。

B. 研究方法

I 免疫不全マウスを用いた ATLL の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法の in vivo 評価系と、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 評価系を用いて、有効かつ安全に TCR 遺伝子度運輸リンパ球によるドナーリンパ球輸注療法を行い得るプロトコルを検討する。治験実施機関の参加施設の選定と組織化を行い、治験プロトコルについて協議する。

（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

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。本評価系において、本研究で用いるTCR遺伝子改変T細胞は $2 \times 10^7$ 個/マウスの輸注を行ってもGVHDを起こさず、また、NY-ESO-1陽性HLA-A0201陽性腫瘍細胞の完全退縮を誘導することが示された。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。また、いくつかのATLL患者の治療を積極的に行う施設と今後の臨床試験について協議を行った。

### D. 考察

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

評価系の結果から、相当数のナーリンパ球輸注を実施可能であることが推測された。

### E. 結論

樹立された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は治験プロトコル検討に役立つことが示唆された。平成27年度に樹立を目指す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評価系において、さらに詳細な検討が可能になると考えられる。今後、臨床試験実施施設と治験プロトコル詳細な協議が可能になると考えられる。

### F. 健康危険情報 該当無し。

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

- 1) Kenichiro Nishikawa, Naohiro Seo, Mie Torii, Nei Ma, Daisuke Muraoka, Isao Tawara, Masahiro Masuya, Kyosuke Tanaka, Yoshiyuki Takei, Hiroshi Shiku, Naoyuki Katayama, Takuma Kato. Interleukin-17 Induces an Atypical M2-Like Macrophage Subpopulation That Regulates Intestinal Inflammation. PLOS One, 9(9) e108494, 2014.
- 2) 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.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) 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.
- 6) 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<sup>+</sup> T cells. Eur J. Immunol., 44:1727-1758, 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<sup>2</sup>, 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 56<sup>th</sup> 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 29<sup>th</sup> 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 Ueno, 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

##### 1. 特許取得

該当無し

##### 2. 実用新案登録

該当無し

##### 3. その他

該当無し