

201438128A

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

成人 T 細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対する
NY-ESO-1+AS15 ASC I のモガムリズマブ併用での
安全性と有効性探索のための医師主導治験（第 I / II 相）

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 金倉 譲

平成 27（2015）年 3 月

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

成人 T 細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対する
NY-ESO-1+AS15 ASCL のモガムリズマブ併用での
安全性と有効性探索のための医師主導治験（第 I / II 相）

平成 26 年度 委託業務成果報告書

業務主任者 金倉 譲

平成 27（2015）年 3 月

本報告書は、厚生労働省の科学研究委託事業による委託業務として、金倉 譲が実施した平成26年度「成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第Ⅰ／Ⅱ相）」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I. 委託業務成果報告（総括）

- 成人 T 細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対する NY-ESO-1+AS15 ASCL の
モガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第 I / II 相）に
関する研究 1
金倉 讓

II. 委託業務成果報告（業務項目）

1. 成人 T 細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対する NY-ESO-1+AS15 ASCL の
モガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第 I / II 相）の
実施に関する準備と体制整備に関する研究 5
江副 幸子、塚崎 邦弘、石田 高司、石塚 賢治、前田 哲生
2. ATL患者に対するモガムリズマブ投与後の皮膚障害の解析 7
宇都宮 與
3. 成人 T 細胞白血病・リンパ腫における免疫応答に関する研究 12
西川 博嘉、織谷 健司
4. 血液腫瘍での免疫組織化学による腫瘍抗原発現法の標準化 15
佐藤 永一

III. 学会等発表実績 17

IV. 研究成果の刊行物・別刷 39

I. 委託業務成果報告（総括）

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（総括）

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第I／II相）に関する研究

業務主任者 金倉 讓（大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 教授）

研究要旨

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対し、モガムリズマブ併用でのNY-ESO-1+AS15 ASCLの安全性と有効性を探索する医師主導治験を計画した。プロトコルの作成と治験の体制準備を行った。プロトコルについては、すでに作成されていたものの治験デザインについて再度検討を行い、それに伴い統計的考察についての検討を行った。新たなプロトコルについて再度事前面談を実施し、対面助言の準備を行った。治験の体制については、業務委託会社の選定、治験実施施設の追加、生物統計専門家の相談を実施した。

【研究分担者】

坂口 志文

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター
実験免疫学 教授

西川 博嘉

大阪大学 免疫学フロンティア研究センター
実験免疫学 特任准教授

江副 幸子

大阪大学医学部附属病院
未来医療開発部 講師

石田 高司

名古屋市立大学大学院医学研究科
血液・腫瘍内科学 准教授

宇都宮 與

公益財団法人慈愛会 今村病院分院
血液内科 院長

石塚 賢治

福岡大学医学部
腫瘍・血液・感染症内科 講師

塚崎 邦弘

独立行政法人国立がん研究センター東病院
血液腫瘍科 科長

織谷 健司

大阪大学大学院医学系研究科
血液・腫瘍内科学 准教授

前田 哲生

大阪大学大学院医学系研究科
血液・腫瘍内科学 助教

佐藤 永一

東京医科大学 医学総合研究所
病理・画像部門 准教授

和田 尚

大阪大学大学院医学系研究科
臨床腫瘍免疫学 特任教授

A. 研究目的

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第Ⅰ／Ⅱ相）の推進のため、プロトコルの最終調整と体制整備を行う。

B. 研究方法

班会議において班員の間でのプロトコルに対する意見聴取と検討を行った。さらに、新たに生物統計専門家への相談を行い、試験デザインの見直しとそれに伴う統計的考察を行った。

治験の実施体制の整備を行った。治験実施のため、事務局業務、DM業務、統計解析業務、監査業務等について業務委託会社の選定を行った。また、治験の登録症例数の検討から治験実施施設を1施設追加した。ATLL好発地域である沖縄（琉球大学附属病院）を追加した。

また、統計解析の業務は治験業務委託会社に委託することとしたが、統計学的考察を踏まえ、プロトコル作成に関する相談を生物統計専門家をお願いすることとした。治験業務委託会社と協議し治験に関する標準業務手順書の作成をした。

EDCのデータベース構築に関する打合せを行い、構築を開始した。各実施医療機関での治験実施に関する調査を行い、説明を行った。

治験薬の適応条件となるNY-ESO-1の発現に調べるための診断キットの開発に着手した。現行での免疫染色、及びFAX解析をさらに簡素化すること、プローブの改変等によりより感度のよい検査法の開発を目的とする。

本治験における腫瘍免疫誘導の評価においては、抗体価の測定を実施することとしているが、さらに、NY-ESO-1特異的T細胞の誘導についても併存臨床研究として評価することを検討した。

（倫理面への配慮）

治験の実施は、GCPに則りIRBの承認を得て開始する。また、モニター、監査を置き、治験がGCP及びプロトコルを遵守して正しく行われていることを確認する。さらに、第Ⅰ相部分から第Ⅱ相部分への移行に際しては、効果安全性評価委員会の意見の元に行うこととした。効果安全性評価委員には、中立性を保つため、学外の血液学専門研究者と統計学専門研究者に依頼した。

C. 研究結果

班会議における議論の中で治験計画のデザインに関してシングルアームにすべきであるとの議論があり、検討した。新たに依頼した当生物統計学専門の大庭先生に相談し、実施計画の改定を行った。その改定を元に、再び事前面談を実施し、対面助言の申請を行っている。

治験事務局、DM、統計解析、モニタリング、監査を委託する治験委託会社を選定し、治験を実施できる体制の整備ができた。文書についてもGCPにおいて定められている必須の標準業務手順書の作成が完了した。プロトコルの変更が固定されるに先立ってEDCの構築に着手できた。

治験薬の提供について、NY-ESO-1提供企業であるグラクソ・スミスクラインのオンコロジーグループがノバルティスと統合されることになり、いったん治験薬の提供が困難な状況となった。そのため、当初年度内に予定していたIRBへの申請ができなくなり、治験の実施が遅れることが予想される。そのため、Ludwig Institute of Cancer ResearchよりNY-ESO-1蛋白ワクチンとアジュバントを入手し、臨床研究として別に研究を開始することを計画し、大阪大学においてIRBに承認された。

D. 考察

治験の実施までには、治験薬の入手に関する新

たな問題が生じたため、開始が大幅に遅れる可能性がある。それまでに全く同じ試験ではないが、臨床研究として開始でき、その安全性、有効性等についての情報が入手できればその情報を元にさらなるプロトコルや実施体制の検討を行うことができる。本研究は、ATLLに有効性のあるCCR4抗体療法とATLLに高発現するがん特異的抗原であるNY-ESO-1ワクチンの併用療法であり、その有効性が認められれば、難治性、予後不良であるATLLに対して希望となることが期待される。また、近年様々ながんの分野において免疫療法への期待が高まっているところである。本治療の有効性が認められれば、制御性T細胞を制御した上でワクチン療法を併用するという本治療のコンセプトは他のがんの治療法にも応用でき、新たながん治療の戦略を提供することになると思われる。

E. 結論

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第I／II相）の実施準備と体制整備を行った。

F. 健康危険情報

特に記載すべき情報はない。

G. 研究発表

論文発表

- 1) Yokota T, Kanakura Y. Role of tissue-specific AT-rich DNA sequence-binding proteins in lymphocyte differentiation. *J Biol Chem.* 289:22183-95. 2014.
- 2) Sata H, Shibayama H, Maeda I, Habuchi Y, Nakatani E, Fukushima K, Fujita J, Ezoe S, Tadokoro S, Maeda T, Mizuki M, Kosugi S, Nakagawa M, Ueda S, Iida M, Tokumine Y, Azenishi Y, Mitsui H, Quantitative

polymerase chain reaction analysis with allele-specific oligonucleotide primers for individual IgH VDJ regions to evaluate tumor burden in myeloma patients., Kanakura Y. *Exp Hematol.* [Epub ahead of print], 2015.

- 3) Yokota T, Oritani K, Sudo T, Ishibashi T, Doi Y, Habuchi Y, Ichii M, Fukushima K, Okuzaki D, Tomizuka K, Yamawaki K, Kakitani M, Shimono A, Morii E, Kincade PW, Kanakura Y. Estrogen-inducible sFRP5 inhibits early B-lymphopoiesis in vivo, but not during pregnancy. *Eur J Immunol.* [Epub ahead of print], 2015.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

II. 委託業務成果報告（業務項目）

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（業務項目）

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第Ⅰ／Ⅱ相）の実施に関する準備と体制整備に関する研究

担当責任者：江副幸子（大阪大学医学部附属病院 未来医療開発部 講師）
塚崎邦弘（国立がん研究センター東病院 血液腫瘍科 科長）
石田高司（名古屋市立大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学 准教授）
石塚賢治（福岡大学医学部 腫瘍・血液・感染症内科 講師）
前田哲夫（大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 助教）

研究要旨

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対し、モガムリズマブ併用でのNY-ESO-1+AS15 ASCLの安全性と有効性を探索する医師主導治験を計画した。プロトコルの作成と治験の体制準備を行った。プロトコルについては、すでに作成されていたものの治験デザインについて再度検討を行い、それに伴い統計的考察についての検討を行った。新たなプロトコルについて再度事前面談を実施し、対面助言の準備を行った。治験の体制については、業務委託会社の選定、治験実施施設の追加、生物統計専門家の相談を実施した。

A. 研究目的

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第Ⅰ／Ⅱ相）の実施のための準備と体制整備を行う。

B. 研究方法

班会議を実施し、班員の間でのプロトコルに対する意見聴取と検討を行う。さらに、新たに生物統計専門家への相談を行い、試験デザインの見直しとそれに伴う統計的考察を行う。その考察を元にプロトコル委員会を実施し、プロトコルの検討、特に治験デザインの検討を行う。そこで決定した計画についてPMDAへの相談を行う。

治験の実施体制の整備を行う。治験実施のため、事務局業務、DM業務、統計解析業務、監査業務等について業務委託会社の選定を行った。ATLL好発地域である沖縄（琉球大学附属病院）に治験への参加をお願いする。

また、統計学的考察を踏まえ、プロトコル作成に関して生物統計専門家に相談することとする。GCPに定められる必要な標準業務手順書の作成を行う。

各実施医療機関への連絡を行い、実施体制の構築、CRCの準備等を依頼する。

効果安全性評価委員会の設置について検討する。

C. 研究結果

班会議での意見に従ってプロトコルの微調整を

行った。さらに試験デザインに関しては、シングルアームでの実施が可能であるかどうかについて検討を行い、生物統計学専門家への相談の結果、さらにプロトコル委員会を開催し、PMDAへの相談を行う事とした。

治験業務委託会社の選定を行い、DOTインターナショナル株式会社に事務局業務、DM,統計解析業務、監査業務等を委託することになった。ATLL好発地域から琉球大学の参加を依頼し、全6施設で治験を実施することになった。

治験薬概要書作成の手順書、実施計画書、説明文書等の文書作成に関するSOPを作成した。効果安全性評価委員会を設定することとし、血液学専門家、統計解析専門家に委員の依頼をした。

D. 考察

ATLLの医師主導治験実施にむけて準備を進めた。実施施設が地域的に拡散していることから、事務局業務、調整医師の業務を効率的に整理しながら進めることが必要であると考えた。

GCPに基づいて治験を実施するために、細かいモニタリングが必要である。

E. 結論

成人T細胞性白血病／リンパ腫（ATLL）に対するNY-ESO-1+AS15 ASCLのモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第Ⅰ／Ⅱ相）の実施に関する準備と体制整備を行った。

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働省科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）
委託業務成果報告（業務項目）

ATL患者に対するモガムリズマブ投与後の皮膚障害の解析

担当責任者 宇都宮 與（今村病院分院 院長）

研究要旨：モガムリズマブは、再発・再燃ATL患者に対して高い有効率を示すことが報告されているが、有害事象として皮膚障害が問題となっている。当院でモガムリズマブを投与したATL患者24名について投与後の皮膚障害について検討した。男性13名、女性11名、年齢中央値62歳であった。4回以上の投与例が16名であった。急性輸注反応が17名、皮膚障害が7名に認められた。皮膚障害発症例は全例4回以上の投与例であり、紅皮症3例、多形紅斑3例、結節性紅斑1例であった。多くの例ではステロイドの外用や全身投与で軽快したが、遷延する例や再増悪する例もみられた。皮膚障害は、モガムリズマブの投与回数と関連があり、投与終了後に出現することが多いので注意を有する。また、皮膚障害発症例において非発症例に比べ抗腫瘍効果が高率に得られた。

A. 研究目的

モガムリズマブは、成人 T 細胞白血病/リンパ腫（ATL）と末梢性 T 細胞リンパ腫の治療薬として日本で開発された分子標的薬剤である。CC chemokine receptor 4 (CCR4)に対するヒト化モノクローナル抗体であり、フコースを除去することによって抗体依存性細胞傷害活性（ADCC）を増強させた薬剤である。CCR4 陽性再発・再燃 ATL 患者に対して単剤で 50%の有効率が報告されている。ATL 患者に対して非常に期待されている反面、有害事象として皮膚障害が問題となっている。

今回、当院でモガムリズマブを投与した ATL 患者の投与後の皮膚障害について解析を行った。

B. 研究方法

対象：モガムリズマブを投与した ATL 患者 24 名を対象とした。方法：モガムリズマブの投与回数、皮膚症状の性状、重症度、皮膚障害に対する治療効果、ATL に対する抗腫瘍効果などについて検討した。

（倫理面への配慮）

ATL は予後不良な疾患であるので、心理的にも十分配慮し、また、慎重に説明と同意を行った。

C. 研究結果

男性 13 名、女性 11 名で、年齢中央値は 62 歳であった。モガムリズマブの投与回数は、4 回以上が 16 名、3 回以下が 8 名であった。モガムリズマブ投与による急性輸注反応が 17 例にみられ、皮膚障害が 7 例に認められた。皮膚障害を発症した 7 例は、全例モガムリズマブ 4 回以上の投与を受けており、投与回数の中央値は 7 回であった。皮膚症状の内訳は、紅皮症 3 例、多形紅斑 3 例、結節性紅斑 1 例であった。多形紅斑 3 例のうち 1 例は、中毒性表皮壊死症（toxic epidermal necrolysis: TEN）を発症した。CTCAE v3.0 を用いた皮膚障害の重症度は、Grade 1 が 1 例、Grade 2 が 1 例、Grade 3 が 3 例、Grade 4 が 2 例であった。治療と治療効果では、Grade 1 の 1 例は、自然軽快した。Grade 2 以上の 6 例は、ステロイドの外用あるいは全身投与にて速やかに軽快した例もあったが、ステロイドの減量に伴い再発・

増悪した例や半年以上皮膚症状が遷延した例もみられた。7例中5例では、モガムリズマブ投与から4週間以上経ってから皮膚障害が発症もしくは最も重症化した。

モガムリズマブ投与を4回以上行った16例のATLに対する抗腫瘍効果は、皮膚障害発症例では奏効率86%（完全寛解6例、増悪1例）、皮膚障害非発症例では33%（完全寛解2例、部分寛解1例、不変3例、増悪3例）であった。

D. 考察

ATL患者においてモガムリズマブの皮膚障害は投与回数が多いほど出現しやすい可能性が示唆された。また、モガムリズマブは、休薬あるいは中止後4週間以上経って皮膚障害が発症または最重症化することが多く、モガムリズマブ使用後は長期にわたって慎重な経過観察が必要と考えられる。

モガムリズマブの投与回数などの他の交絡因子も考慮する必要があるが、モガムリズマブの皮膚障害は、ATLに対する臨床効果とも関連する可能性もあり、さらに症例を蓄積して検討を行う必要がある。

E. 結論

ATL患者に対するモガムリズマブの皮膚障害は投与回数と関連があり、投与終了後4週間以上経過してから発症することが多く、注意を要する。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

英文雑誌

1. Tokunaga M, Uto H, Oda K, Tokunaga M, Mawatari S, Kumagai K, Haraguchi K, Oketani M, Ido A, Ohnou N, Utsunomiya A, Tsubouchi H. Influence of human T-lymphotropic virus type 1 coinfection on the development of hepatocellular

carcinoma in patients with hepatitis C virus infection. *J Gastroenterol*, 2014, 49(12):1567-77.

2. 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 prognostic index and characterization of long-term survivors of aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma (JCOG0902A). *Br J Haematol*, 2014, 166(5):739-48.
3. Araya N, Sato T, Ando H, Tomaru U, Yoshida M, Coler-Reilly A, Yagishita N, Yamauchi J, Hasegawa A, Kannagi M, Hasegawa Y, Takahashi T, Kunitomo Y, Tanaka Y, Nakajima T, Nishioka K, Utsunomiya A, Jacobson S, Yamano Y. HTLV-1 induces a Th1-like state in CD4+CCR4+ T cells. *J Clin Invest*, 2014, 124(8):3431-42.
4. Takahashi R, Yamagishi M, Nakano K, Yamochi T, Yamochi T, Fujikawa D, Nakashima M, Tanaka Y, Uchimaru K, Utsunomiya A, Watanabe T. Epigenetic deregulation of EVC confers robust Hedgehog signaling in adult T-cell leukemia. *Cancer Sci*, 2014, 105(9):1160-9.
5. Kato K, Choi I, Wake A, Uike N, Taniguchi S, Moriuchi Y, Miyazaki Y, Nakamae H, Oku E, Murata M, Eto T, Akashi K, Sakamaki H, Kato K, Suzuki R, Yamanaka T, Utsunomiya A. Treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma with cord blood transplantation: a Japanese nationwide retrospective survey. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2014, 20(12):1968-74.

6. Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. High incidence of CMV infection in adult T-cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2014, 49(12):1548-9.
 7. 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*, 2014, 74(21):6129-38.
 8. Takekiyo T, Dozono K, Mitsuishi T, Murayama Y, Maeda A, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A. Effect of exercise therapy on muscle mass and physical functioning in patients undergoing allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Support Care Cancer*, 2014 [Epub ahead of print]
 9. Yamauchi J, Coler-Reilly A, Sato T, Araya N, Yagishita N, Ando H, Kunitomo Y, Takahashi K, Tanaka Y, Shibagaki Y, Nishioka K, Nakajima T, Hasegawa Y, Utsunomiya A, Kimura K, Yamano Y. Mogamulizumab, an anti-CCR4 antibody, targets human T-lymphotropic virus type 1-infected CD8+ and CD4+ T cells to treat associated myelopathy. *J Infect Dis*, 2015, 211(2):238-48.
 10. Kinpara S, Ito S, Takahata T, Saitoh Y, Hasegawa A, Kijiyama M, Utsunomiya A, Masuda M, Miyazaki Y, Matsuoka M, Nakamura M, Yamaoka S, Masuda T, Kannagi M. Involvement of double-stranded RNA-dependent protein kinase and anti-sense viral RNA in the constitutive NF κ B activation in adult T-cell leukemia/lymphoma cells. *Leukemia*, 2015 [Epub ahead of print]
 11. Utsunomiya A, Choi I, Chihara D, Seto M. Recent advances in treatment of adult T-cell leukemia-lymphomas. *Cancer Sci*, 2015 [Epub ahead of print]
 12. 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. *Br J Haematol*, 2015 [Epub ahead of print]
- 和文書籍
1. 宇都宮與:成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL). 白血病と言われたら一発症間もない患者さんにご家族のために一疾患・治療編. p131-139, 特定非営利法人全国骨髄バンク推進連絡協議会(東京), 2014.
 2. 宇都宮與:[III. リンパ系腫瘍 F. 成人T細胞白血病/リンパ腫(ATL)] ATLの治療方針. EBM 血液疾患の治療 2015-2016 (金倉譲・木崎昌弘・鈴木律朗・神田善伸編集), pp 309-313, (株)中外医学社(東京), 2014.
- 学会発表
1. Kinpara S, Saitoh Y, Hasegawa A, Utsunomiya A, Masuda M, Miyazaki Y, Matsuoka M, Nakamura M, Yamaoka S, Masuda T, Kannagi M: Involvement of PKR and anti-sense HTLV-1 transcripts in the constitutive NF- κ B activation in ATL cells. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Oral)
 2. Yamochi T, Morita Y, Yamochi T, Firouzi S, Sasaki Y, Watanabe N, Uchimarui K, Utsunomiya A, Watanabe T:

- Charactelization of putative ATL tumor initiating cells. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Poster)
3. Ishigaki T, Kobayashi S, Nakano N, Utsunomiya A, Uchimaru K, Tojo A: Comprehensive analysis of surface antigens on acute-type ATL cells and search for ATL-initiating cell markers. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Poster)
 4. Ishihara M, Araya N, Sato T, Utsunomiya A, Yamano Y, Sugano S, Ueda K: Comprehensive membrane-proteome analysis for discovery of novel therapeutic targets against adult T-cell leukemia. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 25-27 September, 2014.(Oral)
 5. Ito S, Okano Y, Izumida W, Shimoyama T, Sugawara T, Takatsuka Y, Takeuchi S, Fujisawa Y, Tsukushi Y, Shimosegawa K, Ikuta K, Oyake T, Murai K, Kakinoki Y, Utsunomiya A, Ishida Y: Phase 2 study of dose-adjustment of lenalidomide and dexamethasone in unfit myeloma patients. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(口演)
 6. Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: UCBT with myeloablative non-TBI regimen using Flu/Bu/Mel for advanced hematological diseases. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(口演)
 7. Yamagishi M, Takahashi R, Sakai N, Fujikawa D, Nakagawa S, Yamochi T, Yamochi T, Nakano K, Uchimaru K, Utsunomiya A: Tumor-specific gene expression leads to p38 and Hedgehog activation in adult T cell leukemia. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(口演)
 8. Ishihara M, Araya N, Sato T, Tatsuguchi A, Saichi N, Utsunomiya A, Yamano Y, Sugano S, Ueda S: Membrane proteome analysis to discover therapeutic targets for HTLV-I associated diseases. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(口演)
 9. Nosaka K, Iwanaga M, Ishizawa K, Ishida Y, Uchimaru K, Ishitsuka K, Amano M, Ishida T, Imaizumi Y, Uike N, Utsunomiya A, Oshima K, Kawai K, Tanaka J, Tokura Y, Tobinai K, Watanabe T, Tsukasaki K: A nationwide survey of patients with adult T cell leukemia/lymphoma (ATL) in Japan: 2010-2011. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(口演)
 10. Tokunaga M, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Prognostic significance of EBMT score and sIL-2R on outcomes after allo-HSCT for ATL. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(ポスター)
 11. 竹内昇吾、中野伸亮、窪田歩、徳永雅仁、徳永真弓、糸山貴浩、牧野虎彦、高塚祥芝、宇都宮興:成人T細胞性白血病/リンパ腫に対する高齢者移植の検討. 第76回日本血液学会学術集会, 大阪, 平成26年10月31日~11月2日.(ポスター)
 12. Tokunaga M, Nakano N, Kubota A, Tokunaga M, Itoyama T, Makino T, Takeuchi S, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Recent significance of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T cell leukemia/lymphoma (ATL). 56th American Society of Hematology

- Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA, 6-9 December, 2014.(Poster)
13. 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). 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA, 6-9 December, 2014.(Poster)
14. Ishigaki T, Kobayashi S, Ohno N, Nakano N, Utsunomiya A, Yamazaki S, Watanabe N, Uchimaru K, Tojo A, Nakauchi H : Comprehensive analysis of surface antigens on adult t-cell leukemia/lymphoma (ATL) cells and search for ATL-initiating cell markers. 56th American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition, San Francisco, CA, USA, 6-9 December, 2014.(Poster)
15. Nakano N, Itoyama T, Kubota A, Tokunaga M, Takeuchi S, Tokunaga M, Makino T, Takatsuka Y, Utsunomiya A: Impact of chromosomal abnormalities in recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with adult T-cell leukemia/lymphoma. 2015 BMT Tandem Meeting. San Diego, CA, USA, February 11-15, 2015. (Oral)
16. Yoshimitsu M, Tanosaki R, Kato K, Ishida T, Choi I, Fukuda T, Takatsuka Y, Eto T, Uchida N, Moriuchi Y, Nagamura-Inoue T, Mori S, Sakamaki H , Atsuta Y, Utsunomiya A: Risk stratification of outcomes among patients with adult T-cell leukemia/lymphoma receiving allogeneic hematopoietic cell transplantation: a retrospective analysis of the JSHCT ATL working group. 2015 BMT Tandem Meeting. San Diego, CA, USA, February 11-15, 2015.(Oral)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

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（業務項目）

成人 T 細胞白血病・リンパ腫における免疫応答に関する研究

担当責任者 西川博嘉（大阪大学 免疫学フロンティア研究センター 実験免疫学 特任准教授）

織谷健司（大阪大学大学院医学系研究科 血液・腫瘍内科学 准教授）

研究要旨

ATL細胞はCD3、CD4陽性細胞でかつ、その多くがCD25および転写因子forkhead box P3 (FOXP3)を発現している。これはCD4+制御性T細胞の特徴と極めて類似しており、事実ATL患者では強い免疫抑制が認められる。さらに近年、ATL細胞に一部の制御性T細胞と同様にケモカインレセプター4(CCR4)が高発現していることが明らかになり、抗CCR4抗体による抗体療法が臨床応用されている。

ATL患者およびHTLV-1無症候性キャリアでの免疫応答を適切に把握し、さらなる新しい治療法の開発が急務である。ATL患者におけるATL細胞に対する免疫応答について文献的考察を行った。

A. 研究目的

成人T細胞白血病・リンパ腫における腫瘍細胞の免疫応答についての検討を行い、病態に及ぼす影響について考察し、効果的な免疫療法の開発につなげる。

B. 研究方法

ATLLにおける免疫応答について文献的考察を踏まえ以下の点について検討した。

1. ウィルス分子以外で ATL 細胞の新規標的抗原を明らかにするため自己抗原タンパクアレイを用いて、新たな分子標的を網羅的に検索した。
2. ATLL患者のT細胞におけるNY-ESO-1始め、がん精巢抗原に対する免疫応答について検討した。

C. 研究結果

1. HTLV-1は多くの他ウィルスと異なり cell-cell コンタクトで感染が伝播し、ウィルス単独での感染性は低い。感染細胞は非感染細胞と接着し、細胞接着面に微小管形成中心(MTOC; microtubule organizing center)とともにウィルスシナプスが形成され、このシナプスを通じてウィルスが伝播される。HTLV-1 ウィルスの Tax 分子が MTOC の形成を促進するとともに、ウィルスシナプスの形成に重要な役割を果たしている。HTLV-1 は GLUT-1 (glucose transporter 1 protein) および heparin proteoglycan が発現している細胞に感染をすることが知られており、初期感染においては CD4 陽性細胞に特異的ではない。しかし、HTLV-1 感染細胞の維持されやすさ等の違いによ

り CD4 陽性細胞が主な感染細胞となると考えられる。

60%程度の ATL 患者で CD4+制御性 T 細胞のマスター遺伝子である FOXP3 が発現するとともに、CD25 や CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4)が発現している。また ATL 細胞自身も免疫抑制活性を示すことが報告されており、制御性 T 細胞の腫瘍化の可能性も示唆されている。これは制御性 T 細胞が *in vivo* で良く増殖しているためレトロウイルス感染を引き起こしやすいということからも支持される。一方で ATL 細胞が産生する C-C motif chemokine 22 (CCL22)により CCR4 発現制御性 T 細胞が腫瘍細胞近くに遊走しているとの報告もある。さらに HTLV-1 の転写因子 HTLV-1 bZIP factor(HBZ) が *Foxp3* 遺伝子転写にかかわっているとの報告もあり、ATL 細胞が制御性 T 細胞の腫瘍化のなのか、通常の CD4+ T 細胞に FOXP3 発現が誘導され、制御性 T 細胞様の特徴を獲得したのかは、ATL の病態解明の上でも今後の重要な課題である。

2. HTLV-1ウイルスに対する免疫応答で最も良く検討されているのがTax分子に対する免疫応答である。HTLV-1無症候性キャリアではTax分子に対するCD8+細胞傷害性T細胞が認められる。さらに重要なことに血液幹細胞移植を受けた患者でTax特異的CD8+細胞傷害性T細胞が誘導されていることが明らかになっている。しかしながら、HTLV-1無症候性キャリアからATL発症とともにTax分子発現が低下するとともに、Tax特異的CD8+細胞傷害性T細胞も低下することが明らかになっており、Taxは重要な免疫応答の標的分子であるが、さらなる検討が必要である。一方でHBZの発現はATL発症後も保たれている

ことから、標的分子として適切である。しかしながら、HBZ特異的CD8+細胞傷害性T細胞はウイルス感染細胞を認識できないことが報告されている。これは、HTLV-1ウイルスが母乳感染することから、腸管からの新生児期の感染によりウイルス分子に対する免疫寛容が誘導されている可能性も指摘されており、さらなる標的分子の検討が必要である。

3. 自己抗原タンパクアレイを用いることにより9000個の分子に対する抗体反応を一度に検索可能である。ATL患者の液性免疫応答を検討したところ、がん・精巣抗原の一つであるMelanoma antigen(MAGE)抗原ファミリーに対する抗体反応を検出した。健康成人血清ではこれらのがん・精巣抗原分子に対する抗体反応は検出できないことから、ATL細胞にがん・精巣抗原分子が発現しており、それが抗ATL免疫応答の標的抗原になっている可能性が示唆された。このデータにもとづいて57名のATLL患者由来のATL細胞で11種類(NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT7, CT10, SSX-1, SSX-2, SSX-4, SCP-1)のがん・精巣抗原の発現を検討した。悪性リンパ腫には多くのがん・精巣抗原の発現は認められないことが報告されているが、その報告と同様にMAGE-A1, MAGE-A10, CT7, CT10, SSX-1, SSX-2, SSX-4の発現は認められなかった。しかしながら、驚いたことにMAGE-A3, MAGE-A4, NY-ESO-1はそれぞれ31.6%、61.4%、61.4%と高率に発現が認められた。また、これらの3つのがん・精巣抗原のいずれかを発現しているATL細胞の頻度は87.7%に昇った。この発現頻度は従来発現頻度が高いことが報告されていた悪性黒色腫を上回るものであ

った。

4. ATL患者ではがん・精巣抗原に対する液性・細胞性免疫応答が認められる

がん・精巣抗原 (MAGE-A3、MAGE-A4、NY-ESO-1) が ATL で高率に発現していることから、43 例の患者血清を用いてがん・精巣抗原 (NY-ESO-1, MAGE-A1, MAGE-A3, MAGE-A4, MAGE-A10, CT7, CT10, SSX-1, SSX-2, SSX-4) に対する液性免疫応答を検討した。43 例中 5 例 (11.6%) で NY-ESO-1 に対する抗体反応が認められた。しかしながら MAGE-A3 および MAGE-A4 に対する抗体反応は、それぞれ 2.3% (1/43)、0% (0/43) でしか検出できず、抗体反応は限られたものであった。これは悪性黒色腫などの他の固形腫瘍のデータと一致しており、ATL 患者での免疫反応の特徴ではなく NY-ESO-1 分子自体の免疫原性の高さに関わりがあると考えられた。NY-ESO-1 に対して抗体反応の誘導が認められたため、さらに NY-ESO-1 発現 ATLL 患者で細胞性免疫応答を検索した。検体が十分にえられた 9 例中 5 例で、NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞が誘導されていることを確認した。また誘導された NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞は自己の ATL 細胞にも反応し、NY-ESO-1 特異的にサイトカインを産生することが明らかになった。特筆すべきことは、検討した ATL 症例のなかで 1 例は血液幹細胞移植を受け、現在長期にわたり完全寛解を維持していた。この患者の NY-ESO-1 特異的 CD8+T 細胞は IFN-g、TNF-a、IL-2 などの多彩なサイトカインを産生していた。

D. 考察

ATLの一部は、CD4+制御性T細胞様のフェノタ

イプをそなえている。依然としてこれらの細胞は制御性T細胞が腫瘍化したものか、それとも HTLV-1感染細胞が制御性T細胞様のフェノタイプを獲得したものかは不明であるが、ATL患者で見られる強い免疫抑制にかかわっていると考えられている。よって、がん・精巣抗原がATL細胞に高率に発現し、治療の新たな標的となることが示唆されるものの、免疫抑制を十分にコントロールした上で免疫治療に用いる必要があると考えられる。ATL細胞が制御性T細胞様のフェノタイプを持っていることから、近年再発ATL治療に臨床応用された抗CCR4抗体は、ATL細胞同様に制御性T細胞を除去する可能性が示唆されている。よって抗CCR4抗体とがん・精巣抗原に対する免疫療法を併用することにより、さらに効果的な免疫療法の開発につながることを期待される。

E. 結論

ATLLの治療においてがん・精巣抗原を標的とした治療法は期待できる。また、制御性T細胞を制御し、腫瘍免疫を高めた上で、ワクチン療法を行うことが、効果的な治療法の開発につながると考えられる。

F. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

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（業務項目）

成人 T 細胞性白血病/リンパ腫（ATLL）に対するモガムリズマブ併用 recNY-ESO-1 +AS15
ASCI のモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第 I / II 相）

分担研究課題：血液腫瘍での免疫組織化学による腫瘍抗原発現法の標準化

担当責任者 佐藤 永一（東京医科大学 医学総合研究所 准教授）

研究要旨

「成人 T 細胞性白血病/リンパ腫（ATLL）に対するモガムリズマブ併用 recNY-ESO-1 +AS15 ASCI のモガムリズマブ併用での安全性と有効性探索のための医師主導治験（第 I / II 相）」では、ATLL での NY-ESO-1 発現の有無を免疫組織化学あるいは RT-PCR 法にて検出するものとしている。本分担研究課題では、ATLL での NY-ESO-1 免疫組織化学の至適条件を標準化した。

A. 研究目的

この医師主導治験では候補患者の腫瘍細胞での NY-ESO-1 の発現を免疫組織化学あるいは RT-PCR を用いて評価する。免疫組織化学にあたってはホルマリン固定・パラフィン包埋された組織標本を用いた免疫組織化学を行う。

他施設共同研究であるこの治験では、サンプルの処理法・保存法が一定していないものと想定される。事前準備として、染色条件の十分な検討が必要である。

B. 研究方法

共同研究施設から供与された ATLL 組織標本を用いて、免疫組織化学を行った。一次抗体として clone E978（マウスモノクロナル抗体）を用い、一次抗体希釈濃度、抗体反応条件（温度および時間）、検出法、発色法をそれぞれ詳細に検討し染色条件を検討した。

なお解析にあたって、いずれのサンプルも連

結不可能に匿名化された。

C. 研究結果

抗原賦活化としては TRIS-EDTA 緩衝液（pH9.0）による加熱処理が有効であり、加熱時間は105℃、加熱時間は20分が至適と判断された。一次抗体の希釈濃度は5μg/ml、反応条件は16時間（4℃）で染色態度がもっとも鮮明であった。二次検出には酵素標識ポリマー法が有用であった。

以上の結果を標準として、本治験での免疫組織化学の標準操作手順書の作成を進めている。

D. 考察

免疫組織化学の指摘条件は的確に設定できた。今後は被験者のサンプルでの検査を行うが、多施設由来のサンプルであり、設定した条件で適切な染色ができない場合もあり得ると考える。条件の再設定や手順書の改訂等を速やかに行え