

厚生労働科学研究費補助金

難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（がん関係研究分野）

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第 a/ b 相医師主導治験
（H24 - 実用化（がん） - 一般 - 006）

平成26年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 上田 龍三

平成27（2015）年4月

目 次

．総括研究報告	
研究代表者、治験調整委員長	
固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験 （治験名；進行又は再発固形がん患者に対するモガムリズマブの第 Ia/Ib 相多施設共 同医師主導治験）	1
上田龍三（愛知医科大学）	
．分担研究報告	
1．液性免疫・細胞性免疫モニタリング	2
中山睿一（川崎医療福祉大学）	
2．臨床治験管理、第 a/ b 相治験	3
土井俊彦（国立がん研究センター東病院）	
3．抗体療法企画・管理	4
飯田真介（名古屋市立大学）	
4．第 Ia/Ib 相臨床治験の実施及び管理	5
和田 尚（大阪大学）	
5．第 a/ b 相臨床治験	6
岡 三喜男（川崎医科大学）	
6．第 Ib 相治験の実施	7
垣見和宏（東京大学）	
7．日本人の悪性黒色腫患者における NY-ESO-1, XAGE など腫瘍抗原の発現と 免疫に関する解析	8
船越建（慶應義塾大学）	
8．臨床治験 抗体療法モニタリング	9
石田高司（名古屋市立大学）	
9．抗 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析	10
西川博嘉（大阪大学）	
10．液性免疫・細胞性免疫モニタリング	11
鵜殿平一郎（岡山大学）	
11．治験症例がん組織での、CCR4 および腫瘍精巢抗原（NY-ESO-1, XAGE-1b） の発現検査	12
佐藤永一（東京医科大学）	

. 別添文書	13
1) 治験実施計画書 (改訂 6.0 版)	
. 研究成果の刊行に関する一覧表	14
. 研究成果の刊行物・別刷	15

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

研究代表者 上田 龍三 愛知医科大学 教授

研究要旨

ヒト化抗CCR4(C-C chemokine receptor type 4)モノクローナル抗体、Mogamulizumab(KW-0761)を用いた固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験は、順調に進み、平成25年度10月21日からIb相治験を開始した。26年度はIb相治験を継続し、平成27年4月までに、39例を登録、プロトコール治療を実施した。Ib相治験においても、安全性と、末梢血中Tregの効率的除去が確認された。治療効果については、PR1例、SD3例、PD15例と限定的であったが、付随研究により、治験薬投与後に腫瘍抗原(NY-ESO-1, XAGE-1b)に特異的な免疫応答の亢進効果がみられ、一定の免疫増強効果が確認された。今後、免疫チェックポイント分子に対する、抗体医薬や、腫瘍抗原ワクチンなどとの併用療法による、治療効果の向上が期待される。尚、平成25年度に終了したIa相治験症例については、1年間の経過観察の後、平成26年10月31日にデータを固定して解析を行った。Ib相のデータ固定は平成27年末に行う予定。

研究分担者

中山 睿一 川崎医療福祉大学医療福祉学部
教授

土井 俊彦 国立がん研究センター東病院先端
医療科 科長

飯田 真介 名古屋市立大学大学院医学研究科
血液・腫瘍内科学 教授

和田 尚 大阪大学医学系研究科・臨床腫瘍
免疫学 教授

岡 三喜男 川崎医科大学呼吸器内科学 教授

垣見 和宏 東京大学医学部附属病院免疫細胞
治療学講座 特任教授

船越 建 慶應義塾大学医学部皮膚科学
専任講師

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

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

鶴殿 平一郎 岡山大学大学院医歯薬学総合研
究科免疫学分野 教授

佐藤 永一 東京医科大学医学総合研究所
准教授

A. 研究目的

腫瘍内における免疫抑制環境は、腫瘍の進行、予後と密接な関係にあることが明らかとなっている。著明な制御性T細胞(Treg)、M2マクロファージの浸潤や、免疫チェックポイント分子により発せられる免疫抑制シグナルが免疫抑制環境を醸成する主因と考えられており、これらの免疫抑制に関わる免疫細胞や、分子は、がん免疫療法における標的となっている。近年、免疫チェックポイント抑制分子である、CTLA-4, PD-1, PD-L1 に対する、抗体医薬による治験が実施され、めざましい治療効果を上げていることは周知のとおりであり、癌治療における免疫抑制環境制御の重要性が実証されている。

我々はCCR4の発現が、エフェクターTregに対して選択的に認められることを

性についても検討した。さらに、モニタリングマーカーの探索についても実施した (図 2)。

2) 附随研究

治療と免疫動態との関連について明らかにするため、付随研究として、分担研究者、研究協力者により、治験と並行して、下記の研究が、実施されている。

抗 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析；大阪大学特任准教授 西川博嘉

Mogamulizumab 投与 ATL 患者における、Treg 及び特異的免疫の動態解析；名市大准教授 石田高司

XAGE-1b および NY-ESO-1 抗原特異的抗体反応および CD4、CD8 T 細胞反応の解析、T 細胞表面マーカー解析；川崎医療福祉大学教授 中山睿一

健常者、がん患者における PD-1、Tim-3 の発現解析；岡山大学教授 鷓殿平一郎

癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析；東大附属病院特任教授 垣見和宏

悪性黒色腫患者における NY-ESO-1、XAGE など腫瘍抗原の発現と免疫に関する解析；慶応大学助教 船越健

腫瘍内 FoxP3 陽性細胞の CCR4 発現解析、ADCC エフェクター細胞浸潤状況の検討。並びに市販 PD-L1 抗体反応性の検討；愛知医科大学 准教授 鈴木 進

(倫理面への配慮)

1. 本研究は多施設共同の医師主導治験として GCP に則り実施している。
2. 本臨床研究への参加はヘルシンキ宣言にのっとり、十分な説明のもと本人の書面による同意 (インフォームド・コンセント) を得て実施されている。
3. 検体の解析は院内 IRB の承認後関連する指針を遵守して実施する。本研究は本人の書面による同意を得て実施され、検体は匿名化され、情報は厳重に管理している。

C. 研究結果

1) 第 1b 相治験

第 1a 相治験の結果を踏まえ、効果安全性評価委員会において、DLT 発現が無かったことの確認と、忍容量を 1.0mg/kg とすることの承認を得た後、平成 25 年 10 月 21 日から、第 1b 相での患者登録が開始された。癌種を割り付け因子として動的にランダム割り付けを行い、平成 27 年 4 月現在、合計 39 名の患者 (肺がん 12 例、食道がん 11 例、胃がん 5 例、悪性黒色腫 6 例、卵巣がん 5 例) にプロトコール治療が実施された (表 1)。

表 1 第 1b 相治験患者登録状況

登録No.	施設名	登録No.	施設名
肺がん (12例)		食道がん (11例)	
B-03	川崎医大	B-01	国がん東
B-15	東京大	B-08	国がん東
B-16	川崎医大	B-09	大阪大
B-18	川崎医大	B-10	大阪大
B-19	川崎医大	B-11	名市大
B-20	名市大	B-27	国がん東
B-23	川崎医大	B-30	名市大
B-25	川崎医大	B-34	東京大
B-32	川崎医大	B-35	東京大
B-28#	東京大	B-37	国がん東
B-31#	東京大	B-39	東京大
B-36#	東京大	胃がん (5例)	
悪性黒色腫 (6例)		B-14	国がん東
B-04	慶応大	B-17	国がん東
B-05	慶応大	B-24	大阪大
B-06	慶応大	B-26	大阪大
B-07	名市大	B-29	国がん東
B-12	慶応大	卵巣がん (5例)	
B-21	名市大	B-02	大阪大
		B-13	大阪大
		B-22	名市大
		B-33	大阪大
		B-38	大阪大

悪性胸膜中皮腫

有害事象は皮疹も含め、重篤な症例はみられなかった。また、0.1 mg/kg 投与群、1.0 mg/kg 投与群の間で有害事象の頻度、症状に有意差はみられなかった。Treg 除去効果は登録症例 39 例のうち、投与後、5 週間目の検査が終了した 38 例全例においてみられた (図 3)。

エフェクター Treg (CD4+/CD45RA-/FoxP3++) 分画は、投与 5 週後には、ベースラインを 100% としたとき、概ね 20% 以下に低下した。そして、投与終了または中止後、次第に回復した。維持投与を実施した症例 1 例については、20% 以下にコントロールされた (図 3)。

効率的なエフェクター Treg 除去効果がみられたにもかかわらず、臨床効果は限定的で、PR

1 例、SD 3 例、PD 15 例にとどまった。

尚、平成 25 年度に終了した Ia 相治験症例については、1 年間の経過観察の後、平成 26 年 10 月 31 日にデータを固定した。結果の概要を表 2 に示した。投与量増量試験により 1.0

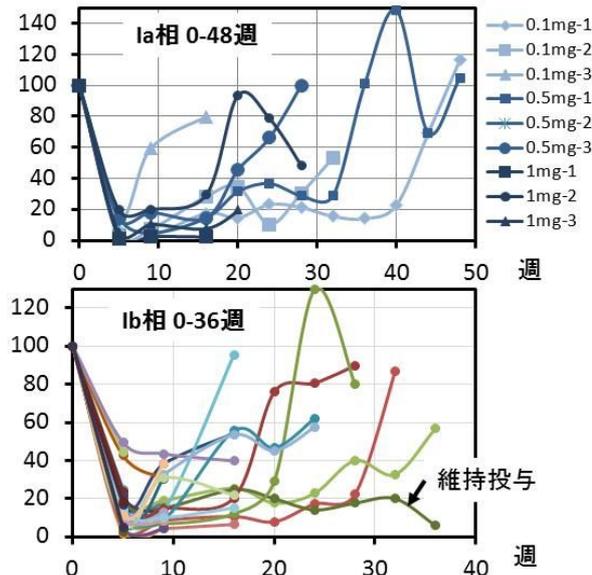


図3 治験薬投与後のエフェクターTregの推移

mg/kg での忍容性及び Treg 除去効果が確認された。いずれの投与群においても Grade2 を越える有害事象はみられなかったが、皮疹の発生が特徴的にみられた。有効性については検討可能であった 8 例について判定したところ、RECIST 法及び RECIST 変法にて共に SD 4 例、PD 4 例となった。

表2 第 Ia 相治験患者固定データの概要

投与量 mg/kg	登録 No.	がん種	施設名	病期	投与回数	皮疹グレード	RECIST	Treg 除去効果	抗体免疫反応 (抗原発現)
0.1	A1-01	肺	川医	ⅢB	14	2	SD	あり	低下 (陽性) なし (陰性)
	A1-02	肺	川医	Ⅳ	11	1	SD	あり	なし (陽性) なし (陰性)
	A1-03	肺	名市	ⅢA	6	2	PD	あり	低下 (陰性) なし (陰性)
0.5	A2-01	肺	川医	ⅡA	11	2	SD	あり	上昇 (陽性) 上昇 (陽性)
	A2-02	肺	名市	ⅢA	7	-	病状悪化	あり	なし (陰性) なし (陰性)
	A2-03	食道	国東	Ⅳ	9	1	SD	あり	なし (陰性) なし (陰性)
1	A3-01	食道	国東	ⅣA	8	-	PD	あり	なし (陰性) 低下 (陰性)
	A3-02	肺	国東	Ⅳ	7	2	PD	あり	なし (陰性) 低下 (陽性)
	A3-03	食道	阪大	ⅢC	3	-	病状悪化	(治験薬投与後のデータなし)	
	A3-04	肺	川医	Ⅳ	8	1	PD	あり	なし (陰性) 上昇 (陽性)

3) 附随研究

附随研究成果の概略を以下に示した。詳細は各分担研究報告を参照されたい。

抗 CCR4 抗体投与と制御性 T 細胞の関連の解析

a. 治験薬投与患者 (Ia 相 10 名、Ib 相 7 名) の末梢血検体を解析した。全症例において投与 5 週目ではエフェクター Tregs の有意な減少が認められた。一方で、病態の安定により投与を継続された患者で、再発前にエフェクター Tregs の頻度の上昇する例がみられた。

b. 投与前後で腫瘍局所の生検検体が得られた胃癌症例 (OUH-10) において治験薬投与前では末梢血 (4.27%) および腫瘍局所 (11.3%) と高頻度のエフェクター Tregs が認められたが、投与終了後には末梢血ではエフェクター Tregs が 0.23% に除去されるとともに、腫瘍局所においても 3.96% に減少が認められた。

Mogamulizumab 投与 ATL 患者における、Treg 及び特異的免疫の動態解析

a. Mogamulizumab の治療を受けた ATL 患者では、effector Treg の存在比率は著しく低下する一方、naïve Treg の存在比率は上昇することが明らかになった。

b. Grade 3 以上の皮膚障害を示した患者は有意に無増悪生存期間 (PFS) が延長しており、全生存 (OS) 期間の延長傾向を認めた。

c. ATL 細胞は CD45RA、FOXP3 の発現レベルから i) effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi}) タイプ、ii) non-Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{lo}) タイプ、iii) others に分類可能であり、このうち i) はポテリジオ治療への反応性が良好で、生存期間の延長を認めた。

XAGE-1b および NY-ESO-1 抗原特異的抗体反応および CD4、CD8 T 細胞反応の解析、T 細胞表面マーカー解析

a. Ib 相部において XAGE-1b 抗原が陽性であった 29 例中 8 例において XAGE-1b 抗体反応は、3 例で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与 9 週時点で 1 例において抗体価の有意な上昇を認め、2 例において有意な低下を認めた。NY-ESO-1 抗原は 29 例中 7 例陽性で、NY-ESO-1 抗体反応は、4 例で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与 9 週時点で 4 例 (内 1 例は投薬前に陰性) において抗体価の有意な上昇を認めた。治験薬投与前に陽性であった 4 例のう

ちの1例で有意な低下を認めた。

b. XAGE-1b 抗原陽性3例のうち、2例でベースライン、7週、12週の抗原特異的T細胞免疫応答を検討した結果、抗原特異的なT細胞免疫応答(TNF- α)はCD4について2例全例で上昇し、CD8は1症例のみ上昇を認めた。NY-ESO-1抗原陽性3例で同様の検討を行い、抗原特異的なT細胞免疫応答(IFN γ)はCD4について3例全例で上昇、CD8は1症例のみ上昇を認めた。

c. MDSC分画の解析をIa相10例のうち、付随研究の検体を採取できた7例において実施した(図1)。MDSC分画は7週において7例中6例で増加し、7週で増加を認めなかった1例についても投与24週で増加を認めた。さらに、MDSC分画が7週時点でベースラインと比較し3倍以上に増加した3例は12週で全例PD、3倍未満であった4例は12週で全例SDであった。

d. Ia相10例のうち、付随研究の検体を採取できた7例において経時的にT細胞表面抑制性および活性化分子(PD-1, Tim-3, LAG-3, GITR, OX-40, ICOS, 4-1BB, BTLA)の発現を検討したところ、CD4+T細胞、CD8+T細胞双方において、ICOSの顕著な上昇がみられた。

健常者、がん患者におけるPD-1, Tim-3の発現解析

PMA/ionomycin 刺激後の末梢血単核球中のCD8T細胞における疲弊分子PD-1, Tim-3の発現とサイトカインの産生について検討した。治験薬投与後の患者CD8T細胞のTim-3陽性細胞の減少と多機能性(サイトカイン同時産生能)上昇から、治験薬による制御性T細胞の除去により、末梢血CD8T細胞は活性化していると予想された。

癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析

投与後、胸水中、心嚢水中、リンパ球のTregの推移について検討。胸水中リンパ球においては、エフェクターTregの低下がみられた。心嚢水中のリンパ球では減少はみられなかった。また、胸水中リンパ球においては投与後、

免疫チェックポイント分子(PD-1, Tim-3, LAG3, BTLA)の発現が上昇した。心嚢水中リンパ球と心嚢水中腫瘍細胞を共培養したところ、リンパ球が強く活性化された。

悪性黒色腫患者におけるNY-ESO-1, XAGEなど腫瘍抗原の発現と免疫に関する解析

悪性黒色腫患者でのNY-ESO-1, XAGE-1b発現は、がんの進展従って、上昇することが示された。また、転移部位のXAGE-1bの発現は、予後が「悪いことが示され、予後因子となることが考えられた。

腫瘍内FoxP3陽性細胞のCCR4発現解析、ADCCエフェクター細胞浸潤状況の検討。並びに市販PD-L1抗体反応性の検討

a. 市販の肺扁平上皮癌がんパラフィン切片(31症例)を使って、FoxP3陽性細胞におけるCCR4の発現について免疫組織学的に検討した(図4)。FoxP3陽性細胞中のCCR4陽性率は10-70%と症例によってまちまちであった。ま

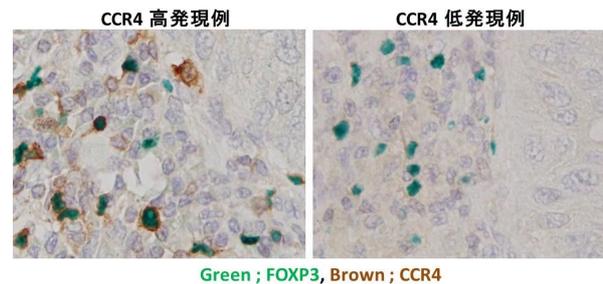


図4 FoxP3陽性細胞上CCR4の発現

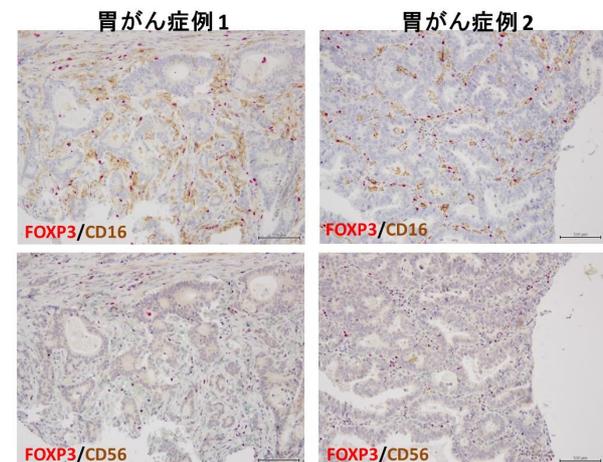


図5 胃癌んにおけるNK細胞の浸潤

た、市販の胃癌んパラフィン切片(30症例)を使ってNKなど、ADCCエフェクター細胞の浸

潤について、CD56, CD57, CD16, CD15, CD69, を用いた免疫染色で検討した。ADCC 活性において、必須である CD16 陽性細胞はいずれの組織においても、強く浸潤していることが確認されたが、CD16 発現細胞の大半が、単球、マクロファージ、好中球であり、ADCC 効果の高い、NK 細胞の浸潤は極めて低かった (図 5)。

b. Mogamurizumab と、PD-1 抗体医薬の併用療法に向け、市販 PD-L1 抗体(8 種類)の免疫染色での反応性について検討した。PD-L1 モノクローナル抗体(clone; 29E.2A3)を用いたフローサイトメトリーで、PD-L1 の発現について検討した細胞株をパラフィン包埋し、染色性について検討した。メーカー間で染色性はまちまちであり、用いた抗体によって、実験結果が異なる可能性が示唆された。今後、詳細な比較検討を行い、免疫染色に適した抗体の選択を実施したい。

5) プロトコル改訂

26 年度は以下に示したようにプロトコルの改訂を 2 度にわたり実施した。

a. 第 5.0 版 (平 26. 10/16)

効果安全評価委員の変更

b. 第 6.0 版 (平 27. 2/23)

治験期間の延長

D. 考察

医師主導治験として順調に患者登録、プロトコル治療が進み、Ia 相については半年前倒しで完了し、Ib 相についても、25 年度内に 14 症例についてプロコル治療が開始され、平成 27 年 4 月現在、39 症例(Ib 相目標 40 症例)についてプロトコル治療を実施している。Ia 相、Ib 相双方において主要評価項目である、安全性については、皮疹も含め、重篤な有害事象はみられず、ほぼ満足のいく結果となった。また、Treg 除去効果については、全例において減少効果を認め、治験薬の標的に対する直接的効果が証明された。しかしながら、治療効果については PR 1 例、SD 3 例、PD 15 例と限定的であった。理由として、腫瘍内における Treg 除去が不十分である可能性が考えられる。附随研究において、

大阪大学 西川准教授は、胃癌症例投与前後で末梢血におけるエフェクター Treg の減少に比べ、腫瘍内エフェクター Treg の減少は、効率が劣ることを報告している。愛知医科大学 鈴木准教授から、胃癌における NK 細胞の浸潤が極めて少ないことが示されていることから、腫瘍内で ADCC が生じにくく、Treg 除去が不十分となり、十分な治療効果に繋がらない可能性が考えられる。ただ、マクロファージ、好中球は、強く浸潤しており、これらの細胞は強く CD16 を発現しているため、マクロファージ、好中球が腫瘍内で ADCC 活性を有するのかどうか明らかにしていく必要がある。また、データはないものの、組織内への抗体の侵入が不十分である可能性もあり得る。Mogamulizumab 特異的な抗体を用いた、免疫染色などによって、腫瘍内へ侵入した Mogamulizumab の定量的解析も重要である。また、腫瘍内 FoxP3 陽性細胞における CCR4 の発現が症例によって様々であることが示された。末梢血においては、CCR4 の発現が、FoxP3 陽性細胞 Treg 機能と相関することが明らかとなっているが、腫瘍内でも同じことがいえるのかどうか検討する必要性が感じられた。現在、その前検討として、FoxP3/CCR4 の二重染色により、FoxP3+/CCR4+ 浸潤細胞数、FoxP3+/CCR4- 浸潤細胞数で比較したときに、予後など、臨床パラメータとの間に差があるかどうか検討する予定である。もし、FoxP3+/CCR4- 細胞の多くが Treg 活性を有するとすれば、CCR4 単独では Treg の標的分子として不十分である可能性も生じる。

しかしながら、治験薬投与後に、腫瘍内に近い環境下の胸水中 T 細胞、心嚢水中 T 細胞において活性化が見られることが、東京大学垣見教授より報告されている。また、末梢血中では、治験薬投与後に腫瘍抗原に対する特異的免疫の亢進が、川崎医療福祉大学 中山教授より報告されている。これらのデータは、十分な治療効果には至らないまでも、Treg 除去が、免疫の活性亢進を引き起こしているものと考えられる。PD-1 抗体など、免疫チェックポイント分子に対する抗体医薬との併用や、腫瘍免疫ワクチンとの併用などによる、免疫療法への展開が期待される。

免疫チェックポイント分子の発現を中心に治療効果のバイオマーカーについて検討した。中山教授らは、Ia 相治療症例において、免疫チェックポイント分子の推移について検討している。投薬後、発現が低下する分子、上昇する分子が示された。ICOS の動きが最も顕著であり、CD4+T 細胞、CD8+T 細胞ともに発現の上昇がみられた。また、岡山大学 鶴殿教授らは、投薬後の患者末梢血の Tim-3 発現量と、マルチサイトカイン産生能との間に負の相関を見いだしている。いずれも、今後のさらなる検討により、マーカーとしての位置づけが明確になることが期待される。

尚、名古屋市立大学 飯田教授により計画されている治験治療を受けた患者由来末梢血を用いた GWAS 解析については、現在進行中で、近日中に結果が得られる予定である。有害事象との関連性が明らかになることを期待している。

当初の予定どおり、26 年度中に Ib 相治験の登録がほぼ終了し、データ固定待ちの状況となっている。27 年度中には、終了し、結果が明らかになる予定。結果を踏まえて、PD-1 抗体との併用など、Mogamulizumab の Treg 除去をベースとした免疫治療法の発展を目指す考えである。

E. 結論

1) Ib 相治験登録、プロトコール治療をほぼ完了した。安全性と、Treg 除去効果が確認された。

2) 治療効果は、限定的であったが、腫瘍特異的免疫応答の増強がみられた。PD-1 抗体医薬や、腫瘍抗原ワクチン等との併用療法による、治療効果の向上が期待される。

3) 症例によっては、腫瘍内における、Treg の除去が不十分となる可能性が示唆された。投薬後の腫瘍内の Treg の減少についての検討が重要と考えられた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 関連論文発表

英文

1. Masaki A, **Ishida T**, Maeda Y, Suzuki S, Ito A, Takino H, Ogura H, Totani H, Yoshida T, Kinoshita S, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Inagaki A, Komatsu H, Niimi A, **Ueda R**, Utsunomiya A, Inagaki H, **Iida S**. Prognostic Significance of Tryptophan Catabolism in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. Clin Cancer Res. 2015 Mar 18. [Epub ahead of print].
2. **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
3. Ifuku H, Kusumoto S, Tanaka Y, Totani H, **Ishida T**, Okada M, Murakami S, Mizokami M, **Ueda R**, **Iida S**. Fatal reactivation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. Hepatol Res. In press.
4. 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 Apr;101(4):398-404.
5. 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.
6. Suzuki S, **Ishida T**, Yoshikawa K, **Ueda R**. Progress in clinical use of CCR4 antibody for regulatory T cell suppression. Inflammation and Immunity in Cancer. Springer, 207-227, 2015
7. 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)
8. 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)
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. **Ueda R**, Suzuki S, Yoshikawa K, **Ishida T**; Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody. Recent advances in cancer immunotherapy, Princess Takamatsu Cancer Research Fund, pp82-87,2014
 13. Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, **Nakayama E** and **Udono H**. Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Pros Natl Acad Sci USA*, 112(6): 1809-1814, 2015.
 14. Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, Nishio Y, Uenaka A, **Oka M** and **Nakayama E**. Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an anti-human CCR4 mAb (KM2760). *Journal of Thoracic Oncology*, 10(1): 74-83, 2014.
 15. Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, **Oka M** and **Nakayama E**. Prolongation of overall survival in advanced lung adenocarcinoma patients with the XAGE1 (GAGED2a) antibody. *Clin. Cancer Res.*, Oct 1, 20(19): 5052-63, 2014.
 16. Ohue Y, **Wada H**, **Oka M** and **Nakayama E**. Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in cancer patients. *OncoImmunology*, 3:11, e970032; December 1, 2014.
 17. Pandey, J, Namboodiri, A, Ohue, Y, **Oka, M**, **Nakayama, E**. Genetic variants of immunoglobulin and chains influence humoral immunity to the cancer-testis antigen XAGE-1b (GAGED2a) in patients with non-small cell lung cancer. *Clin Exp Immunol*, 176(1): 78-83, 2014.
 18. Uehara T, Fujiwara T, Takeda K, Kunisada T, Ozaki T, **Udono H**. Immunotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcomas. *BioMed Research International*, Article ID 820813, 2014.
 19. Ichianagi T, Ichianagi K, Ogawa A, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chuma S, Sasaki H, **Udono H**. HSP90 plays an important role in piRNA biogenesis and retrotransposon repression in mouse. *Nucleic Acids Res.* 42(19): 11903-11, 2014.
 20. Eikawa S, **Udono H**. Monitoring multifunctionality of immune-exhausted CD8 T cells in cancer bearing patients. *Methods in Mol Biol.*, 1142: 11-7, 2014.
 21. **Wada H**, Isobe M, **Kakimi K**, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, **Udono H**, Seto Y, Yamada K, **Nishikawa H**, Pan L, Venhaus R, **Doki Y**, **Oka M**, **Nakayama E**. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in patients with cancers expressing NY-ESO-1 antigen. *Journal of Immunotherapy*, 37(2): 84-92, 2014.
 22. Maeda Y, **Nishikawa H**, Sugiyama D, Ha D, Hamaguchi M, Saito T, Nishioka M, Wing JB, Adeegbe D, Katayama I and Shakaguchi S; Regulatory T cells drive autoimmune T cells into a distinct T-cell subpopulation functionally anergic and expressing CTLA-4. *Science*. 346(6216):1536-1540 2014 doi:

10.1126/science.aaa1292.

23. Matsumoto M, Baba A, Yokota T, **Nishikawa H**, Ohkawa Y, Kayama H, Kallies A, Nutt SL, Sakaguchi S, Takeda K, Kurosaki T and Baba Y.; "Interleukin-10-Producing Plasmablasts Exert Regulatory Function in Autoimmune Inflammation. *Immunity*. 41(6):1040-1051 2014 doi: 10.1016/j.immuni.2014.10.016.
24. **Nishikawa H**, Sakaguchi S; Regulatory T cells in cancer immunotherapy. *Curr Opin Immunol*. Jan 9;27:1-7 2014.
25. Ito Y, Hashimoto M, Hirota K, Ohkura N, Morikawa H, **Nishikawa H**, Tanaka A, Furu M, Ito H, Fujii T, Nomura T, Yamazaki S, Morita A, Vignali DAA, Kappler JW, Matsuda S, Mimori T, Sakaguchi N and Sakaguchi S.; Detection of T-cell responses to a ubiquitous cellular protein in autoimmune disease. *Science*. 346(6207):363-368 2014 doi: 10.1126/science.1259077.
26. Saito T, Wada H, Yamasaki M, Miyata H, **Nishikawa H**, Sato E, Kageyama S, Shiku H, Mori M, **Doki Y**.; High expression of MAGE-A4 and MHC class I antigens in tumor cells and induction of MAGE-A4 immune responses are prognostic markers of CHP-MAGE-A4 cancer vaccine. *Vaccine*. 32(45):5901-7 2014 doi: 10.1016/j.vaccine.2014.09.002.
27. Mizote Y, Uenaka A, Isobe M, **Wada H**, **Kakimi K**, Saika T, Kita S, Koide Y, **Oka M**, **Nakayama E**. Production of NY-ESO-1 peptide/DRB1*08:03 tetramers and ex vivo detection of CD4 T-cell responses in vaccinated cancer patients. *Vaccine*. 32(8):957-64. 2014
28. Ichimura T, Morikawa T, Kawai T, Nakagawa T, Matsushita H, **Kakimi K**, Kume H, Ishikawa S, Homma Y, Fukayama M. Prognostic Significance of CD204-Positive Macrophages in Upper Urinary Tract Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2014 Jun;21(6):2105-12
29. Wada I, Matsushita H, Noji S, Mori K, Yamashita H, Nomura S, Shimizu N, Seto Y, **Kakimi K**. Intraperitoneal injection of in vitro expanded V γ 9V δ 2 T cells together with zoledronate for the treatment of malignant ascites due to gastric cancer. *Cancer Med*. 2014 Apr;3(2):362-75.
30. Hosoi A, Matsushita H, Shimizu K, Fujii S, Ueha S, Abe J, Kurachi M, Maekawa R, Matsushima K, **Kakimi K**. Adoptive cytotoxic T lymphocyte therapy triggers a counter-regulatory immunosuppressive mechanism via recruitment of myeloid-derived suppressor cells. *Int J Cancer*. 2014 Apr 15;134(8):1810-22.
31. Yamada D, Matsushita H, Azuma T, Nakagawa T, Nagata M, Yamada Y, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Kume H, Homma Y, **Kakimi K**. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor as a predictor of the response of metastatic renal cell carcinoma to tyrosine kinase inhibitor therapy. *Mol Clin Oncol*. 2014 Nov;2(6):1023-1027.
32. Matsushita H, Hosoi A, Ueha S, Abe J, Fujieda N, Tomura M, Maekawa R, Matsushima K, Ohara O, **Kakimi K**. Cytotoxic T lymphocytes block tumor growth both by lytic activity and IFN- γ -dependent cell cycle arrest. *Cancer Immunol Res*. 2015 Jan;3(1):26-36.
33. Matsushita H, Enomoto H, Kume H, Nakagawa T, Fukuhara H, Suzuki M, Fujimura T, Homma Y and **Kakimi K**. A pilot study of autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination combined with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2014 Aug 19;2:30.
34. Futami J, Fujiyama H, Kinoshita R, Nonomura H, Honjo T, Tada H, Matsushita H, Abe Y, **Kakimi K**. Denatured mammalian protein mixtures exhibit unusually high solubility in nucleic acid-free pure water. *PLoS One*. 2014 Nov 18;9(11):e113295.
35. Kobayashi T, **Kakimi K**, **Nakayama E**, Jimbow K. Antitumor immunity by magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia. *Nanomedicine (Lond)*. 2014 Aug;9(11):1715-26.
36. Ueha S, Yokochi S, Ishiwata Y, Ogiwara H, Chand K, Nakajima T, Hachiga K, Shichino S, Terashima Y, Toda E, Shand FH, **Kakimi K**, Ito S, Matsushima K. Robust anti-tumor effects of combined anti-CD4 depleting antibody and anti-PD-1/PD-L1 immune checkpoint antibody treatment in mice. *Cancer Immunol Res*. 2015 Feb 20. pii: canimm.0190.2014.

和文

1. 鈴木 進, 石田 高司, 吉川 和宏, 上田 龍三: モガムリズムマブ The Frontiers in Life Sciences. 生命科学から創薬へのイノベーション 南山堂 183-95 2014
2. 河上 裕, 上田龍三: 新たな時代を迎えたがん免疫療法. *Immuno-Oncology*

Frontier, 1(1):2015-1, p5

3. 黒瀬浩史、**岡三喜男**、**中山香一**：基礎：抗CCR4抗体への制御性T細胞への影響と臨床応用の可能性、最新医学、70(3): 393-398, 2014.
4. **岡三喜男**、大植祥弘、黒瀬浩史：特集：これから期待される肺癌診断と治療：抗体免疫療法、呼吸器内科、26(6):431-437, 2014
5. **岡三喜男**、大植祥弘、黒瀬浩史、**中山香一**：がん精巢抗原に対する免疫応答とその臨床的意義、BIO Clinica 30(3):31-35, 2015
6. 黒瀬浩史、**岡三喜男**、**中山香一**：抗CCR4抗体への制御性T細胞への影響と臨床応用の可能性、最新医学、70(3):393-398, 2015
7. 杉山大介、**西川博嘉**：制御性T細胞および免疫チェックポイント分子の解除による抗腫瘍免疫応答増強の可能性 がん分子標的治療 2014;12:84-88.
8. 島津 裕、**西川博嘉**：制御性T細胞によるがん抗原特異的T細胞の抑制 癌と化学療法 2014;41:1057-1061
9. 長瀬博次、西塔拓郎、**和田尚**、**西川博嘉**：抑制性T細胞の同定と機能評価 Surgery Frontier 2014;21:70-75
10. 杉山大介、**西川博嘉**：成人T細胞白血病に対する免疫療法 血液フロンティア 2014;63-69
11. **西川博嘉**：制御性T細胞とがん免疫療法 臨床血液 2014;55:475-481
12. **西川博嘉**、坂口志文：ヒト制御性T細胞の解析 医学のあゆみ 2015.252.69-74
13. **西川博嘉**：Visual View がん免疫療法のメカニズム Immuno-Oncology Frontier 2015.1.10-13
14. **和田尚**：抗PD-1抗体の泌尿器科疾患、消化器疾患への応用 最新医学 70(3): 421-427 2015
15. 柴川伸吾、**鶴殿平一郎**：T細胞の免疫疲弊と免疫チェックポイント分子、最新医学 70 巻 3号: 62-68, 2014.

学会発表 (総括研究者のみ)

海外

1. **Ryuzo Ueda**(講演)：CCR4: Novel targets for Adult T-cell leukemia (ATL) and cancer immunotherapy. 平成26年9月10日 Seminar at the Cancer Science Institute, Singapore
2. **Ryuzo Ueda**(講演)：CCR4: Novel targets for Adult T-cell leukemia (ATL) and cancer immunotherapy. 平成26年9月11日 Seminar at the National University Cancer Institute, Singapore
3. **Ryuzo Ueda**(講演)：Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody、Hematology/Oncology、H26年10月9日、マウントサイナイ大学 Tisch 癌研究所(NY).
4. Nishio-Nagai M, Suzuki S, Hayashi T, Ohmura Y, Yamada Y, Yoshikawa K, **Ueda R** and Kazaoka Y.: Chemo-immunotherapy with CTL and 5-fluorouracil (5FU) for head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). Poster Abstracts, 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium. NY(The Grand Hyatt New York), October 5-8, 2014.

国内

1. **Ueda R**:Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody. The 30th Nagoya International Cancer Treatment Symposium. Nagoya(Aichi Cancer Center), February 14-15, 2015.
2. **Ryuzo Ueda** (Speaker) :Clinical Application of anti-CCR4 Monoclonal antibody-Antibody Therapy (抗CCR4抗体薬の臨床応用-抗体療法). The Forty-fifth International Symposium of The Princess Takamatsu Cancer Research Fund、Recent Advances in Cancer Immunotherapy (公益財団法人 高松宮妃癌研究基金第45回国際シンポジウム、がん免疫療法の近年の進歩). H26年11月19日、Tokyo(Palace Hotel Tokyo).
3. 正木彩子、石田高司、前田康博、稲垣淳、鈴木進、伊藤旭、成田朋子、榊原健夫、滝野寿、李政樹、楠本茂、小松弘和、**上田龍三**、稲垣宏、宇都宮與、**飯田真介**：成人T細胞性白血病/リンパ腫における indoleamine

- 2,3-dioxygenase の臨床的意義. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会(ポスターセッション)、6月21日、山形、日本リンパ網内系学会会誌、54:109, 2014.
4. 正木彩子、滝野寿、青山峰芳、夏洪晶、山田勢至、佐藤文彦、葛岩、李政樹、**石田高司**、**上田龍三**、宇都宮與、浅井清文、稲垣宏：miR-145 down-regulation が成人 T 細胞白血病/リンパ腫の予後に与える影響. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会(ポスターセッション)、6月21日、山形、日本リンパ網内系学会会誌、54:118, 2014.
 5. 丸山大、永井宏和、前田嘉信、塚崎邦弘、**上田龍三**：再発・難治性の日本人末梢性 T 細胞リンパ腫 (PTCL) 患者を対象とした pralatrexate の第 I/II 相臨床試験. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会(ポスターセッション)、6月21日、山形、日本リンパ網内系学会会誌、54:120, 2014.
 6. **上田龍三**：がん免疫療法の現状と将来の展望. 第 18 回日本がん分子標的治療学会(シンポジウム；基調講演)、6月27日、仙台、第 18 回学術集会プログラム・抄録集、18:68, 2014. 第 54 回日本リンパ網内系学会総会(ポスターセッション)、6月21日、山形、日本リンパ網内系学会会誌、54:118, 2014.
 7. 長瀬博次、**和田 尚**、**西川博喜**、鈴木 進、平家勇司、小嶋隆嗣、**垣見和宏**、**松越 達**、**飯田真介**、**石田高司**、**佐藤永一**、**鶴殿平一郎**、**岡三喜男**、**中山書一**、**土岐祐一郎**、**上田龍三**：制御性 T 細胞解析方法の標準化に向けた多施設共同研究. 第 18 回日本がん免疫学会総会、7月31日、松山、日本がん免疫学会総会抄録集、18:97, 2014 .
 8. **上田龍三**：ATL 治療抗体薬 Mogamulizumab の開発研究. 第 52 回日本癌治療学会学術集会(シンポジウム；講演)、8月29日、横浜、JSCO 49(3):537, 2014.
 9. **石田高司**、**上田龍三**：Tregs 除去薬モガムリズマブ. 第 52 回日本癌治療学会学術集会(シンポジウム)、8月29日、横浜、JSCO 49(3)：626, 2014
 10. **石田高司**、鈴木 進、**上田龍三**：CCR4 を標的抗原とする、新規がん免疫療法. 第 73 回日本癌学会学術総会、9月26日、横浜、第 73 回日本癌学会学術総会抄録集、73, 2014.
 11. 西尾麻矢子、**鈴木 進**、大村元伸、山田陽一、**上田龍三**、吉川和宏、風岡直暁：口頸部扁平上皮癌 (HNSCC) における 5-フルオロウラシル(5-FU)併用免疫療法. 第 73 回日本癌学会学術総会、9月27日、横浜、第 73 回日本癌学会学術総会抄録集、73: ,2014.
 12. **上田龍三**(特別講演)：日本初抗がん薬の開発研究の経緯とその展開 アカデミアがリードする創薬と標準治療の確立そして革新～モガムリズマブを例として～. NCCN ガイドライン日本語版 造血器腫瘍領域公開記念シンポジウム (TRI)) (第 76 回日本血液学会学術集会)、H26 年 11 月 2 日、大阪(大阪国際会議場).
 13. **上田龍三**(講演)：CCR4:Noverl target for cancer immunotherapy. Perspectives in anticancer Drug Discovery and Development. DSK Symposium 2014. H26 年 11 月 11 日、京都(京都大学)..
 14. **上田龍三**(シホ講演)：我が国初の抗がん抗体薬の開発経験. 新世代のがん分子標的治療戦略シンポジウム、京都府立シンポジウム、平成 26 年 12 月 6 日、京都(京都国際会議場)
 15. **上田龍三**(座長)：変貌するがん免疫療法の理解と臨床効果の時代に向けて. 第 10 回トランスレーショナルリサーチワークショップ、日本がん分子標的治療学会、平成 27 年 1 月 20 日、東京(都市センターホテル)
 16. **上田龍三**(講演)：固形がんの免疫療法における抗 CCR4 抗体の役割. 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会ランチョンセミナー、平成 27 年 2 月 28 日、東京(東京ガーデンパレス)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 - 1) XAGE-1b 特異的免疫反応を誘導するペプチドおよびその利用(特許第 5709108 号)

2) 免疫評価方法とその評価された免疫活性化剤(特願 2014-166593)

2. 実用新案登録
なし。

3. その他
なし。

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題: 液性免疫・細胞性免疫モニタリング

研究分担者 中山 睿一 川崎医療福祉大学 教授

研究要旨

制御性T細胞のうち、特に活性化制御性T細胞が膜表面にCCR4を発現することから、抗CCR4抗体投与により活性化制御性T細胞分画を除去し臨床効果をもたらすことを期待して「固形がん患者に対する第Ia/Ib相医師主導治験」を開始した。本治験では、附随探索研究として、XAGE-1bおよびNY-ESO-1抗原特異的抗体反応およびCD4、CD8T細胞反応の解析を実施する。抗体反応はELISA法により、また、CD4、CD8T細胞反応は、IFN捕捉法および細胞内染色法によりモニタリング解析した。また、T細胞表面抑制性および活性化分子について解析した。

A. 研究目的

がん死亡は本邦の死因の第一位となり、新規のがん治療法の開発が急務である。免疫療法は、次世代のがん治療法として注目されている。また、近年、がん患者では、制御性T細胞が抗腫瘍免疫反応を抑制していることが明らかになった。制御性T細胞のうち、特に活性化制御性T細胞は膜表面にCCR4を発現することから、抗CCR4抗体投与により活性化制御性T細胞分画を除去して抗腫瘍免疫応答の増強をもたらす、これによる臨床効果を期待して固形がん患者に対する第Ia/Ib相医師主導治験を開始した。

本治験では、附随探索研究として、制御性T細胞除去効果、XAGE-1bおよびNY-ESO-1抗原特異的抗体反応、および抗原特異的CD4、CD8T細胞反応を解析する。また、骨髄由来抑制細胞(MDSC)分画の解析およびT細胞表面抑制性および活性化分子の解析を行った。制御性T細胞除去効果はSRL社でフローサイトメトリー法により解析し、抗体反応はELISA法、また、CD4、CD8T細胞反応は、IFN捕捉法および細胞内染色法を一次モニタリングに用いて解析した。

B. 研究方法

抗CCR4抗体投与による有効性の指標として、XAGE-1bおよびNY-ESO-1抗原に対する抗体反応を検討した。血液サンプルは、ベースライン、5週、9週、12週以降は可能な限り4週毎、維持投与時は9回目投与日より4週毎に採取した。血清中の抗体価は、ELISA法により、合成XAGE-1bタンパク及び組換えNY-ESO-1タンパクに対する反応を測定した。

今年度は、治験Ib相症例29例についてXAGE-1bおよびNY-ESO-1抗体価を測定した。また、Ia相10例のうち、XAGE-1bもしくはNY-ESO-1抗原陽性であった5例について、抗原特異的CD4およびCD8T細胞反応の解析を実施した。

Treg解析はベースライン、5週、9週に、また、MDSC、T細胞表面活性化および抑制性分子の解析については、ベースライン、7週、9週、12週以降は可能な限り4週毎にサンプルを採取し、フローサイトメトリー法を用いて実施した。Tregは抗CD4、CD8、CD25、CD45RA、Foxp3抗体で染色し、MDSCは抗CD3、CD11b、CD14、CD15、CD33、CD45抗体、HLA-DR

抗体で細胞表面を染色した。T細胞表面抑制性分子はPD-1、BTLA、TIM-3、LAG-3、活性化分子はICOS、OX-40、GITR、4-1BBについて、それらの発現を各々の抗体を用いてフローサイトメトリー法で経時的に解析した。

本医師主導治験は、川崎医大倫理委員会の承認を受け、本研究内容は付随研究として実施している。患者および家族の人権および利益の保護に十分配慮している。がん患者の組織および血液は担当医によるインフォームド・コンセントを得て提供を受け、匿名化して研究室に保存している。

C. 研究結果

1. XAGE-1b および NY-ESO-1 抗体反応解析

第1b相部症例29例（肺癌10例、食道癌6例、胃癌4例、悪性黒色腫6例、卵巣癌3例）についてXAGE-1bおよびNY-ESO-1抗体反応をELISA法で検討した（表1）。

1b相部においてXAGE-1b抗原は29例中8例（肺癌5例、食道癌1例、胃癌1例、卵巣癌1例）で陽性、NY-ESO-1抗原は29例中7例（肺癌1例、食道癌2例、胃癌2例、悪性黒色腫1例、卵巣癌1例）で陽性であった。そのうち3例（食道癌1例、胃癌1例、卵巣癌1例）はXAGE-1bおよびNY-ESO-1共に陽性であった。

XAGE-1b抗体反応は、3例（肺癌3例）で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与9週時点で1例（肺癌）において抗体価の有意な上昇を認め、2例（肺癌）において有意な低下を認めた。NY-ESO-1抗体反応は、4例（肺癌1例、胃癌2例、卵巣癌1例）で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与9週時点で4例（肺癌1例、食道癌1例、胃癌2例）において抗体価の有意な上昇を認めた。治験薬投与9週時点で有意な抗体価の上昇を認めた4例のうち1例（食道癌）は、治験薬投与前の抗体価は陰性であった。

表1 1b相 検査結果まとめ

症例	がん腫	XAGE-1b			NY-ESO-1			
		抗原発現	投与前(抗体価)	増減	抗原発現	投与前(抗体価)	増減	
B-01	NCC-03	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-02	OUH-04	卵巣癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-03	KMSH-07	肺癌	+	陽性 (x10561)	あり (x ⁹²³¹ / _{x7503})	-	陰性	なし
B-04	KEI-01	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-05	KEI-03	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-06	KEI-02	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-07	NCUH-08	悪性黒色腫	-	陰性	なし	+	陰性	なし
B-08	NCC-04	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-09	OUH-05	食道癌	+	陰性	なし	+	陰性 (x533)	あり (x ⁶⁴² / _{x742})
B-10	OUH-06	食道癌	-	陰性	なし	+	陰性	なし
B-12	KEI-04	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-13	OUH-07	卵巣癌	+	陰性	なし	+	陽性 (x3164)	あり (x ²³⁷⁶ / _{x1878})
B-15	TK-03	肺癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-17	NCC-07	胃癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-18	KMSH-08	肺癌	+	陰性	なし	-	陰性	なし
B-19	KMSH-11	肺癌	-	陰性	なし	+	陰性	なし
B-20	NCUH-10	肺癌	-	陰性	なし	-	陽性 (x4120)	あり (x ⁹⁶⁶² / _{x16371})
B-21	NCUH-11	悪性黒色腫	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-22	NCUH-12	卵巣癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-23	KMSH-12	肺癌	+	陰性	なし	-	陰性	なし
B-24	OUH-10	胃癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-25	KMSH-13	肺癌	+	陰性	なし	-	陰性	なし
B-26	OUH-11	胃癌	-	陰性	なし	+	陽性 (x1970)	あり (x2174)
B-27	NCC-09	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-28	TK-04	肺癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-29	NCC-10	胃癌	+	陰性	なし	+	陽性 (x3855)	あり (x ⁴⁵²⁶ / _{x4873})
B-30	NCUH-13	食道癌	-	陰性	なし	-	陰性	なし
B-31	TK-05	肺癌	-	陽性 (x568)	あり (x ⁵³² / _{x453})	-	陰性	なし
B-32	KMSH-14	肺癌	+	陽性 (x844)	あり (x ¹⁰³⁵ / _{x1471})	-	陰性	なし

治験薬投与前に陽性であった4例のうち1例（卵巣癌）で有意な低下を認めた。また、治験薬投与前にNY-ESO-1抗体陽性患者の4例（肺癌1例、食道癌1例、胃癌2例）および治験薬投与後に陽性となった1例（食道癌）のうち1例（肺癌）は、NY-ESO-1抗原陰性であった。

2. 抗原特異的CD4、CD8 T細胞反応解析

Ia相部10例のうち、XAGE-1bもしくはNY-ESO-1抗原陽性であった肺癌症例5例（XAGE-1b抗原のみ陽性2例、NY-ESO-1抗原のみ陽性2例、XAGE-1bとNY-ESO-1陽性1例）について、抗原特異的CD4、CD8 T細胞反応を経時的に免疫モニタリングによって解析した。

XAGE-1b抗原陽性3例のうち、2例でベースライン、7週、12週の抗原特異的T細胞免疫応答を検討した結果、抗原特異的なT細胞免疫応答（TNF- α ）はCD4について2例全例で上昇し、CD8は1症例のみ上昇を認めた。この2症例のうち、XAGE-1b抗体について、1例は有意な上昇あり、1例は高値で横ばいであった。

NY-ESO-1抗原陽性3例で同様の検討を行い、抗原特異的なT細胞免疫応答（IFN γ ）はCD4について3例全例で上昇、CD8は1症例のみ上昇を認めた。

3. TregおよびMDSC解析

Ia相部10例のうち、早期に治験中止となった1例を除く9症例について、ベースライン、5週、9週、以降4週毎における制御性T細胞

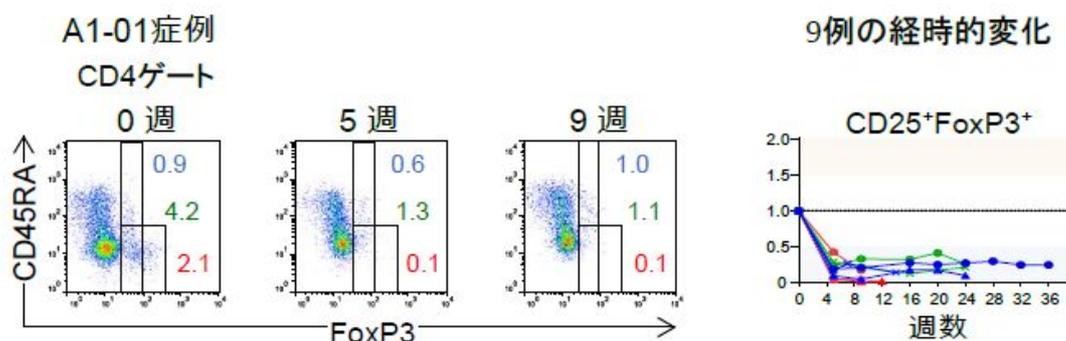
分画（CD25⁺Foxp3⁺分画、CD45RA⁺Foxp3^{lo} resting Treg分画、CD45RA⁻Foxp3^{hi} activated Treg分画、CD45RA⁻Foxp3^{lo} non Treg分画）をフローサイトメトリー法で解析した。その結果、9例すべてにおいて、ベースラインに比較して投与5週、9週においてCD25⁺Foxp3⁺、activated Treg、non Treg分画の減少を認めた（図1）。

MDSC分画の解析はIa相10例のうち、付随研究の検体を採取できた7例において実施した（図1）。MDSC分画は7週において7例中6例で増加し、7週で増加を認めなかった1例についても投与24週で増加を認めた。さらに、MDSC分画が7週時点でベースラインと比較し3倍以上に増加した3例は12週で全例PD、3倍未満であった4例は12週で全例SDであった。

4. T細胞表面抑制性および活性化分子解析

Ia相10例のうち、付随研究の検体を採取できた7例においてベースライン、7週、12週、以降12週毎におけるT細胞表面抑制性および活性化分子の発現を検討した。CD4表面の抑制性および活性化分子のうち、PD-1、TIM-3、LAG-3、ICOS、GITR分子発現は上昇傾向であり、特にICOSの上昇は顕著であった。BTLA、OX-40、4-1BB発現は低下傾向であった。CD8表面の抑制性および活性化分子のうち、PD-1、ICOS分子発現は上昇傾向であり、特にICOSの上昇は顕著であった。LAG-3、GITRは横ばいであった。TIM-3、BTLA、OX-40、4-1BBはほとんどの症例において低下傾向であった。

図1 治験Ia相 Treg除去効果



D. 考察

Ib 相部において XAGE-1b 抗原は 29 例中 8 例（肺癌 5 例、食道癌 1 例、胃癌 1 例、卵巣癌 1 例）で陽性、NY-ESO-1 抗原は 29 例中 7 例（肺癌 1 例、食道癌 2 例、胃癌 2 例、悪性黒色腫 1 例、卵巣癌 1 例）で陽性であった。そのうち 3 例（食道癌 1 例、胃癌 1 例、卵巣癌 1 例）は XAGE-1b および NY-ESO-1 共に陽性であった。

XAGE-1b 抗体反応は、3 例（肺癌 3 例）で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与 9 週時点で 1 例（肺癌）において抗体価の有意な上昇を認め、2 例（肺癌）において有意な低下を認めた。NY-ESO-1 抗体反応は、4 例（肺癌 1 例、胃癌 2 例、卵巣癌 1 例）で治験薬投与前に陽性であり、治験薬投与 9 週時点で 4 例（肺癌 1 例、食道癌 1 例、胃癌 2 例）において抗体価の有意な上昇を認めた。治験薬投与 9 週時点で有意な抗体価の上昇を認めた 4 例のうち 1 例（食道癌）は、治験薬投与前の抗体価は陰性であった。治験薬投与前に陽性であった 4 例のうちの 1 例（卵巣癌）で有意な低下を認めた。また、治験薬投与前に NY-ESO-1 抗体陽性患者の 4 例（肺癌 1 例、食道癌 1 例、胃癌 2 例）および治験薬投与後に陽性となった 1 例（食道癌）のうち 1 例（肺癌）は、NY-ESO-1 抗原陰性であった。

Ia 相部において XAGE-1b 抗原陽性 3 例のうち、2 例で経時的に抗原特異的 T 細胞免疫応答を検討した結果、CD4 について 2 例全例で上昇し、CD8 は 1 症例のみ上昇を認めた。NY-ESO-1 抗原陽性 3 例で経時的に抗原特異的 T 細胞免疫応答を検討した結果、CD4 について 3 例全例で上昇、CD8 は 1 症例のみ上昇を認めた。

Treg 分画の解析では、9 例中 9 例すべてにおいて、CD25⁺Foxp3⁺、activated Treg、non Treg 分画の減少を認めた。一方、MDSC 分画は治験薬投与 7 週において 7 例中 6 例で増加を認めた。さらに 7 週時点でベースラインと比較し 3 倍以上に増加した 3 例は 12 週で全例 PD、3 倍未満であった 4 例は 12 週で全例 SD であり、MDSC 分画の変動が治療効果のバイオマーカーとなる可能性がある。

T 細胞表面抑制性および活性化分子の解析では、CD4、CD8 表面上の ICOS 分子の発現が

顕著に上昇した。

E. 結論

Mogamulizumab 投与による末梢血中の Treg 除去効果が全例で確認された。また CD4、CD8 表面の活性化分子である ICOS の顕著な上昇が確認され、Treg 除去により T 細胞が活性化したものと考えられる。さらに、一部の症例においては、抗原特異的な液性および細胞性免疫が誘導されていることが確認できた。しかしながら免疫抑制細胞である MDSC の上昇を認め、Mogamulizumab 投与によって Treg が除去されても、免疫活性化が抑制されている可能性がある。

研究発表

1. 論文発表

英文

- (1) Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E and Udono H. Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(6): 1809-1814, 2015.
- (2) Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, Nishio Y, Uenaka A, Oka M and Nakayama E. Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an anti-human CCR4 mAb (KM2760). *Journal of Thoracic Oncology*, 10(1): 74-83, 2014.
- (3) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M and Nakayama E. Prolongation of overall survival in advanced lung adenocarcinoma patients with the XAGE1 (GAGED2a) antibody. *Clin. Cancer Res.*, Oct 1, 20(19): 5052-63, 2014.
- (4) Ohue Y, Wada H, Oka M and Nakayama E. Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in

cancer patients. *OncoImmunology*, 3:11, e970032; December 1, 2014.

- (5) Pandey, J, Namboodiri, A, Ohue, Y, Oka, M, Nakayama, E. Genetic variants of immunoglobulin γ and κ chains influence humoral immunity to the cancer-testis antigen XAGE-1b (GAGED2a) in patients with non-small cell lung cancer. *Clin Exp Immunol*, 176(1): 78-83, 2014.

和文

- (6) 黒瀬浩史、岡 三喜男、中山睿一、基礎：抗 CCR4 抗体への制御性 T 細胞への影響と臨床応用の可能性、最新医学、70(3): 393-398, 2014.
- (7) 岡 三喜男、大植祥弘、黒瀬浩史、中山睿二、がん精巢抗原に対する免疫応答とその臨床的意義、*BIO Clinica*、30(3): 31-35, 2014.

2. 学会発表

- (8) 大植祥弘、黒瀬浩史、溝手 雄、松本博文、磯辺みどり、上中明子、福田 実、中山睿二、岡 三喜男、Prolonged overall survival in XAGE-1b (GAGED2a) antibody positive NSCLC patients. (口頭) 大阪府大阪市 (第 54 回日本呼吸器学会学術講演会) 2014 年 4 月 25 日
- (9) 黒瀬浩史、大植祥弘、西尾祐美、磯辺みどり、上中明子、岡 三喜男、中山睿一、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb. (口頭) 大阪府大阪市 (第 54 回日本呼吸器学会学術講演会) 2014 年 4 月 25 日
- (10) Yoshihiro Ohue, Koji Kurose, Yu Mizote, Hirofumi Matsumoto, Yumi Nishio, Midori Isobe, Minoru Fukuda, Akiko Uenaka, Mikio Oka, Eiichi Nakayama, Clinical effect of XAGE-1 (GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma. (口頭) 愛媛県松山市 (第 18 回日本がん免疫学会総会) 2014 年 7 月 30 日
- (11) 黒瀬浩史、大植祥弘、柴川伸吾、西尾祐美、磯辺みどり、上中明子、岡 三喜男、中山睿一、Increase of activated Tregs in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Tregs by ADCC using anti-human CCR4 mAb (KM2760). (口頭) 愛媛県松山市 (第 18 回日本がん免疫学会総会) 2014 年 7 月 31 日
- (12) 長瀬博次、和田 尚、西川博嘉、鈴木 進、平家勇司、小嶋隆嗣、垣見和宏、船越 健、飯田真介、石田高司、佐藤永一、鶴殿平一郎、岡 三喜男、中山睿一、土岐祐一郎、上田龍三、制御性 T 細胞解析方法の標準化に向けた多施設共同研究 (口頭) 愛媛県松山市 (第 18 回日本がん免疫学会総会) 2014 年 7 月 31 日
- (13) Yoshihiro Ohue, Koji Kurose, Hirofumi Matsumoto, Yu Mizote, Yumi Nishio, Midori Isobe, Minoru Fukuda, Akiko Uenaka, Mikio Oka, Eiichi Nakayama Clinical effect of XAGE1 immune response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma. (口頭) 神奈川県横浜市 (第 73 回日本癌学会学術集会) 2014 年 9 月 25 日
- (14) Mikio Oka, Koji Kurose, Yoshihiro Ohue, Eiichi Nakayama Targeted immunotherapy strategy for non-small cell lung cancer. (口頭) 神奈川県横浜市 (第 73 回日本癌学会学術集会) 2014 年 9 月 25 日
- (15) Mami Negawa, Shingo Eikawa, Takenori Uehara, Yuki Kunisada, Yoshihiro Ohue, Koji Kurose, Midori Isobe, Akiko Uenaka, Eiichi Nakayama, Heiichiro Udono Monitoring multifunctionality of exhausted CD8 T-cells in cancer patients. (ポスター) 神奈川県横浜市 (第 73 回日本癌学会学術集会) 2014 年 9 月 25 日

(16) Koji Kurose, Yoshihiro Ohue, Shingo Eikawa, Yumi Nishio, Midori Isobe, Akiko Uenaka, Mikio Oka, Eiichi Nakayama
Increase of activated Tregs in TIL in Lung cancer and in vitro depletion of Tregs by ADCC using anti-human CCR4 mAb. (ポスター) 神奈川県横浜市 (第73回日本癌学会学術集会) 2014年9月27日

(17) Yoshihiro Ohue, Koji Kurose, Yu Mizote, Hirofumi Matsumoto, Yumi Nishio, Midori Isobe, Minoru Fukuda, Akiko Uenaka, Mikio Oka, and Eiichi Nakayama. Clinical effect of XAGE1 (GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma. (ポスター) New York, USA (22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium), 2014年10月5日

(18) Koji Kurose, Yoshihiro Ohue, Shingo Eikawa, Yumi Nishio, Midori Isobe, Akiko Uenaka, Mikio Oka, and Eiichi Nakayama. Increase of activated Tregs in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Tregs by ADCC using anti-human CCR4 mAb (KM2760). (ポスター) New York, USA (22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium), 2014年10月5日

(19) 大植祥弘, Janardan Pandey, Aryan Namboodiri, 中山睿一, 岡三喜男、非小細胞肺癌患者で、免疫グロブリン鎖および鎖の遺伝的変異がXAGE1免疫に及ぼす影響 (ポスター) 京都府京都市 (第55回日本肺癌学会学術集会) 2014年11月14日

(20) 大植祥弘, 黒瀬浩史, 溝手雄, 松本博文, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 福田実, 中山睿一, 岡三喜男、非小細胞肺癌におけるXAGE1

免疫の予後延長効果 (ポスター) 京都府京都市 (第55回日本肺癌学会学術集会) 2014年11月14日

(21) 黒瀬浩史, 大植祥弘, 西尾祐美, 磯辺みどり, 堅田洋佑, 阿部公亮, 上中明子, 中山睿一, 岡三喜男、Increase of activated Tregs in TIL in lung cancer and depletion of Tregs using anti-human CCR4 mAb. (ポスター) 京都府京都市 (第55回日本肺癌学会学術集会) 2014年11月14日

(22) 大植祥弘, 黒瀬浩史, 岡三喜男, 中山睿一、進行期肺腺癌におけるXAGE1 (GAGED2a) 免疫と予後 (口頭) 東京都文京区 (第12回日本免疫治療学研究会学術集会) 2015年2月28日
大植祥弘, 黒瀬浩史, 岡三喜男, 中山睿一、Clinical effect of XAGE1(GAGED2a) immunity in advanced lung adenocarcinoma. (ポスター) 東京都文京区 (第12回日本免疫治療学研究会学術集会) 2015年2月28日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

XAGE-1b特異的免疫反応を誘導するペプチドおよびその利用 (特許第5709108号)

2. 実用新案登録

3. その他

厚生労働科学研究費補助金(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(がん関係研究分野))
分担研究報告書(平成26年度)

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第1a/1b相医師主導治験

分担研究課題: 臨床治験管理、第 a/ b相治験

研究分担者 土井俊彦 国立がん研究センター東病院 先端医療科科長

研究要旨

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab(抗CCR4抗体)を週1回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること(第 a相部)及び週1回反復投与した際の安全性及び制御性T細胞除去効果を検討すること(第 b相部)を目的として多施設共同試験を計画し、研究を継続している。平成24年2月より登録が開始され、目標症例数は第1a相部9例(最大18例)、第1b相部40例である。平成27年3月31日現在、全施設で第1a相部10例、第1b相部38例の新規症例登録が登録された。

A. 研究目的

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab(抗CCR4抗体)を週1回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること(第 a相部)及び週1回反復投与した際の安全性及び制御性T細胞除去効果を検討すること(第 b相部)を目的とする。

B. 研究方法

多施設共同研究としてプロトコル作成、共通プロトコルでの症例集積および試験治療を実施している。

(倫理面への配慮)

本試験は、ヘルシンキ宣言に則った試験実施計画書に基づいて計画され、参加全施設の倫理審査の承認と患者本人からの文書での同意を得てから登録を行う。また、個人情報等の保護も十分に配慮して試験を遂行する。

C. 研究結果

本試験は、平成25年2月より登録が開始。平成26年3月31日現在、全施設で第1a相部10例、第1b相部38例の新規症例登録が登録された。

D. 考察

がん患者では、制御性T細胞が抗腫瘍免疫反応を抑制していることが知られている。制御性T細胞のうち、特に活性化制御性T細胞は膜表面にCCR4を発現することから、Mogamulizumab投与により活性化制御性T細胞分画を除去し臨床効果をもたらされることが評価されれば、進行再発がんの治療成績の向上が期待される。

E. 結論

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab(抗CCR4抗体)を週1回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること(第 a相部)、及び週1回反復投与した際の安全性及び制御性T細胞除去効果を検討すること(第 b相部)を目的として多施設共同試験を計画し、研究を継続している。平成24年2月より登録が開始され、目標症例数は第1a相部9例(最大18例)、第1b相部40例である。平成27年3月31日現在、全施設で第1a相部10例、第1b相部38例の新規症例登録が、当院から第1a相部2例、第1b相部7例の新規症例登録が登録された。目標症例数の達成まで試験を継続する。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題: 抗体療法企画・管理

研究分担者 飯田 真介 公立大学法人名古屋市立大学 教授

研究要旨

活性化制御性T細胞(Treg)表面に発現するケモカイン受容体であるCCR4分子を標的としたヒト化ポテリジェント抗体、Mogamulizumab(KW-0761)を用いて、進行・再発固形がん患者における抗腫瘍免疫増強効果を狙った第Ia/Ib相医師主導治験を実施した。第Ia相においては0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kgの3コホートでの安全性と薬物動態の検討が行われ、0.1mg/kgから1.0mg/kg投与コホートの安全性が確認された。その結果を受けて平成25年10月21日から開始された第Ib相では、安全性とTreg除去効果を主要評価項目として、0.1mg/kgと1.0mg/kgのランダム化試験が行われることとなった。当院では平成25年度に、悪性黒色腫および食道がん患者各1名に対して治験治療を開始した。平成26年度には、肺小細胞がん、食道がん、悪性黒色腫、卵巣がん患者各1名ずつに対して治験治療を実施した。

A. 研究目的

進行再発固形がん患者を対象に、ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第Ia/Ib相治験を計画し実施する。第Ia相では、Mogamulizumabを週1回反復投与した際の安全性および薬物動態を検討する。第Ib相では、週1回投与した際の安全性および制御性T細胞除去効果を検討し、第II相部での推奨投与量を決定することを目的とする。

B. 研究方法

主要評価項目:

- 1) 第Ia相 安全性: 最大耐用量(MTD)、用量制限毒性(DLT)、有害事象の種類・頻度・程度、薬物動態の検討
- 2) 第Ib相 安全性: 有害事象の種類・頻度・程度、制御性T細胞除去効果
- 3) 対象患者:

進行又は再発固形がん患者で、登録時に以下の規準を満たす場合に適格とする: 1) 腫瘍細胞のCCR4発現が陰性であり、且つ病理組織診断で肺癌、胃癌、食道癌、悪性黒色腫、卵巣癌の悪性腫瘍の診断が確定している、2) 標準治療に不応・不耐性の患者、適切な治療法がない患者、又は標準治療を拒否した患者、3) performance status(ECOG基準)が0、1、2、4) 主要臓器(骨髄、心、肺、肝、腎等)に高度な障害がなく臨床検査値(登録前2週間以内)が以下の基準を満たす、5) 好中球数1,500/ μ L以上、ヘモグロビン値8.0g/dL以上、血小板数75,000/ μ L以上、血清総ビリルビン値2.0mg/dL以下、AST/ALT値施設上限値x2.5倍以下、血清クレアチニン1.5mg/dL以下、動脈血酸素飽和度93%以上、心電図上治療を要する異常を認めない、左心駆出率50%以上、6) 同意取得時から治験薬投与終了後24週まで避妊に同意、7) 本人が書面で同意している、8) Mogamulizumab初回投与から翌日までの入院が可能、9) RECIST ver1.1における測定可能病

変を有する、10)3ヶ月以上の生存が期待できること。ただし下記の除外規準を満たさないこと：1)HIV 抗体陽性、2)HCV 抗体陽性、3)自己免疫疾患あり、4)HBs 抗原が陽性もしくはHBV-DNA が陽性、5) 抗体製剤の投与により重篤な過敏症の既往歴を有する、6) 重複がんを有する、7)前治療から治験薬投与開始予定日まで4週以上経過していない、8) 妊娠中、授乳中、あるいは妊娠の可能性がある、9) 活動性の感染症を合併している、10) 精神障害又は認知症患者、11) 全身性のステロイド剤投与による治療の継続が必要、12) 造血幹細胞移植等の移植療法が実施された患者、13)中枢神経浸潤を有する、14)登録4週間に以内に他の治験薬を投与されている、15)その他治験遂行に不相当と考えられる。

治験デザイン：

第1a相部は、各コホート3～6名づつ、0.1mg/kgから開始し、忍容性が確認されれば0.5mg/kg及び1.0mg/kgへ増量を行う。第1b相部では、忍容性が確認された投与群のうち高用量群及び0.1mg/kgの2群(第a相部で0.5mg/kgがMTDの場合、0.1mg/kg1群)で実施。がん種を割り付け因子として各群20例となるように登録する。

投与方法：

【第a相部】0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kgのいずれかの投与量を1週間に1回2時間かけて静脈内投与し、計8回投与する。用量制限毒性(DLT)評価期間は5回目の投与前までとした。

【第b相部】第a相部で1.0mg/kgまでの忍容性が確認された場合は0.1mg/kg又は1.0mgのいずれか、0.5mg/kgまでの忍容性が確認された場合は0.1mg/kg又は0.5mg/kgのいずれか、0.1mg/kgまでの忍容性が確認された場合は0.1mg/kgを1週間に1回2時間かけて静脈内投与し、計8回投与する。【第a相部・第b相部共通】9回目以降の投与は、維持投与の実施基準(8回投与後に制御性T細胞除去効果及び抗原特異的抗体免疫反応又はRECISTにおいてSD以上が確認された被験者)を満たした場合に可能とし、4週毎に治験薬を投与する。投与前の前処置として、治験薬投与の30分前にジフェンヒドラミン30～50mg及びアセトアミノフ

エン300～500mgを内服する。初回投与時にはハイドロコチゾン100mgを静脈内に投与する。併用療法：骨転移例に対するゾレドロン酸やパミドロネートの静脈内点滴、及びデノスマブの皮下注射については、本治験参加前から継続していた場合は、4週に1回の投与であれば併用可とする。

投与中止基準：

1) 投与延期基準により2週間を超えて延期となった場合、2)24週目以降においてRECISTの変法の評価で総合効果がPDであった場合、3)grade3以上の皮膚障害が発現した場合、4)治験責任医師により治験継続が困難と判断される場合、5)被験者が治験の中止を申し出た場合、6)不適格例であることが判明した場合、7)その他、治験責任医師が中止すべきと判断した場合である。

治験で実施する検査：

ベースライン検査としては、一般血液検査、腫瘍マーカー、尿検査、CTまたはMRIによる画像検査、腫瘍抗原(NY-ESO-1, XAGE-1b)発現検査、CCR4発現検査、抗原特異的抗体免疫反応検査、制御性T細胞検査を実施する。治験治療開始後は、一般血液検査や尿検査に加えて、抗原特異的抗体免疫反応検査、制御性T細胞検査を実施する。第1a相部では薬物動態検査を実施する。加えて、任意ではあるが書面での同意がいただけた場合には、免疫増強効果検査、遺伝子バイオマーカー検査も実施する。

予定登録症例数：

第1a相部は各群3例(最大6例)で計3～18例、第1b相部は各群20例づつで計40例

治験実施期間：

2013年2月～2015年6月

倫理面への配慮：

本治験は、「ヘルシンキ宣言」ならびに、且つ治験実施計画書、薬事法第14条第3項及び第80条の2に規定する基準及び「医薬品の臨床試験実施の基準に関する省令(GCP)」(厚生省令第28号)に則り実施する。本治験の実施に先立ち、各実施医療機関の治験審査委員会において、治験実施計画書、被験者の同意を得るのに使用される方法、治験薬概要書及びその他の必要な文書を審議し、本治験が倫理的及び

科学的に妥当であるかどうか、その他、本治験が実施医療機関において行うのに適当であるかどうかを審査し承認を得た上で患者登録を開始する。治験責任医師等は、被験者に治験について十分に説明し、文書による同意を得る。被験者が熟読し保管できるように、治験の詳細を示した説明文書を被験者に渡し、被験者に情報を十分に考慮する時間を与え、疑問点を確認した後で、同意文書に署名及び日付を記入していただく。

C. 研究結果

1) 第 1b 相への患者登録とプロトコル治療の実施

第 1a 相における用量制限毒性の発現がなかったことを含む安全性についての効果・安全性評価委員会での承認を経て、平成 25 年 10 月 21 日から第 1b 相での患者登録が開始された。KW-0761 の投与量は、癌種を割り付け因子として 0.1mg/kg と 1.0mg/kg のランダム化が開始された。名古屋市立大学病院では平成 25 年度に悪性黒色腫患者 3 名と食道がん患者 1 名から参加同意を得て、各々の患者各 1 名にプロトコル治療が実施された。悪性黒色腫患者は、グレード 2 の皮疹が出現するも対症療法でコントロール可能で計 8 回の投与を実施して治療効果判定を行ったが、肝転移巣と肺転移巣の増大による原病増悪の判定となった。NY-ESO-1 抗原は陽性であったが、抗原特異的抗体免疫反応は誘導されなかった。また皮下腫瘍が増大し摘出術を行った際の切除標本においては、制御性 T 細胞の著明な減少を認めたが腫瘍組織周囲へのリンパ球浸潤は認めたものの腫瘍組織内への浸潤はわずかで特に CD8 陽性 T 細胞の浸潤は極少数であった。多発リンパ節転移を有する食道がん（神経内分泌がん）患者は、計 4 回の投与後に原疾患増悪による食思不振を発症し、その後担当医判断によりプロトコル治療中止に至り原疾患による呼吸不全で死亡された。治験薬 1 回投与後にグレード 1 の皮疹を認めた。平成 25 年度内に第 1b 相では計 14 名の患者にプロトコル治療が開始された。

引き続き、平成 26 年度も第 1b 相への患者登録が継続された。名古屋市立大学病院では、肺

小細胞がん患者 1 名、食道がん患者 2 名、悪性黒色腫患者 1 名、卵巣がん患者 1 名から書面による治験参加同意を得たが、食道がん患者 1 名は原病増悪により脱落となった。したがって上記の各がん種につき 1 名ずつ治験治療が実施された。肺小細胞がん患者は、肝・骨・リンパ節への転移巣を認め、計 8 回の治験薬投与を完了した。しかし、効果判定において全ての転移巣の増大を認め増悪と判定した。悪性黒色腫患者は肺・肝・多発リンパ節転移を認め、治験薬投与を計 8 回実施した。グレード 1 の紅斑を認めた。しかし、効果判定で全ての転移巣の増大を示し、増悪と判定された。肝転移を有する卵巣がん患者に対しては、計 8 回の治験薬投与を実施した。しかし、原発性腫瘍の増大を認め、増悪と判定された。食道がん患者は多発性肝転移と肺転移、左側胸水を認めており、計 8 回の治験薬投与を行った。しかし、効果判定にて肝病変の増大を認めたため増悪と判定された。

以上、名古屋市立大学病院では第 1b 相で計 6 名の患者にプロトコル治療が実施された。内訳は、悪性黒色腫 2 名、食道がん 2 名、肺小細胞がん 1 名、卵巣がん 1 名であり何れも化学療法抵抗性病変を有する患者であった。8 回投与が 5 名、4 回投与が 1 名であった。末梢血中の制御性 T 細胞(effector Treg)については、投与前後での比較が出来なかった 1 名を除く全例で減少を示した。しかし、残念ながら 6 名全例で臨床効果は認められず、維持投与への移行は行われなかった。皮疹は 3 名に認め全例 0.1mg/kg 投与群であったが、最悪グレードは 2 であり保存的治療で対応可能であった。また皮疹以外の自己免疫性有害事象は認められなかった。制御性 T 細胞の減少効果や毒性においても、0.1mg/kg 投与群と 1.0mg/kg 投与群間に明らかな差を認めなかった。第 1b 相においては、全参加施設で計 39 名に対して治験治療が実施されているが、2015 年 4 月末現在で RECIST による明らかな腫瘍縮小効果を認めた（部分奏効以上）患者は食道がん患者 1 名にとどまっている。抗 CCR4 抗体 Mogamulizumab 1.0mg/kg までの固形がん患者に対する安全性は第 1b 相においても確認された結果となったが、単剤での臨床効果は限定的であった。

2) その他

治験患者登録と同時に開始した附随研究「抗CCR4抗体(Mogamulizumab)療法を受けた進行・再発がん患者における臨床効果と免疫関連有害事象を予測するゲノムバイオマーカーの探索的検討」には、第Ia相において遺伝子倫理審査委員会承認が間に合わなかった1名を除いた10名から参加同意をいただき検体提出をいただいた。第Ib相においては、39名から同意をいただき末梢血単核球(PBMC)と血清の保存を行っている。第Ia相で検体提出をいただいた10名、第Ib相で検体提出をいただいた33名を合わせた計43のPBMCからは既にDNAを抽出し、次世代シーケンス法を用いたHLA解析、Genome-wide association study(GWAS)を実施した。またmiRNAの網羅的発現解析も実施している。これらの解析結果と皮疹などの有害事象との関連を探索する予定である。

D. 考察

がんの発生や制御には、細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte: CTL)が重要な役割を担っている。最近、CTLの働きを負に制御するCTLA4分子やPD-1/PD-L1分子を標的とした抗体療法が腫瘍の縮小効果を有することが示され、既に臨床応用が始まっており、我が国においても「根治切除不能な悪性黒色腫」に対するヒト型抗PD-1モノクローナル抗体nivolumabが2014年9月に薬価収載されている。一方、CTLを含む免疫系を負に制御している制御性T細胞(regulatory T-cell: Treg)が、もう一つの治療標的として注目されている。TregはCD4陽性CD25陽性FoxP3陽性分画に存在するとされているが、本研究班の分担研究者である大阪大学の西川らはその中でもCCR4陽性の分画に活性化Treg(effector Treg)が存在することを明らかにしている。がん免疫療法が十分な効果を発揮できていないのも活性化Tregによる抗腫瘍免疫抑制作用によるものであることが推定されている。実際、CCR4ノックアウトマウスにおいては、Treg作用の減弱のため腫瘍増殖が抑制されることが明らかになっている。

本治験において進行・再発固形がん患者に対する抗腫瘍免疫増強効果を期待して用いるMogamulizumab(KW-0761)はポテリジェント技術を用いてADCC効果を増強したヒト化抗CCR4抗体である。Mogamulizumab療法を受けた成人T細胞

性白血病・リンパ腫(ATLL)患者の中で、顕著な抗腫瘍効果が認められた患者では、Tregの長期間の枯渇とともに、時に抗Taxあるいは抗NY-ESO-1特異的なCD8陽性CTLが増加を示すことが観察されている。同様のTreg減少効果と抗腫瘍免疫活性の増強は、CTLA4分子の中和抗体であるIpilimumabを投与された悪性黒色腫患者においても観察されている。このように、Tregの減少により、CTLの増殖や活性化効果が期待される。しかし、固形がん患者においてはATLL患者のように腫瘍細胞が直接CCR4を発現しているわけではないため、Mogamulizumabの投与量はより少なくても済む可能性がある。Mogamulizumabによる有害事象で最も重篤な有害事象は、Treg抑制により活性化された自己反応性T細胞によると考えられる皮膚障害をはじめとした自己免疫性有害事象(immune-related adverse events: irAE)である。したがって本治験では、第Ia相においてATLL患者に対する推奨投与量である1mg/kgの1/10の投与量である0.1mg/kgから慎重に投与を開始し、安全性と薬物動態を確認しながら1.0mg/kgまで増量するデザインとした。第Ib相においては、患者体内におけるTregの動態をセカンダリーエンドポイントに設定し、長期のMogamulizumab投与の安全性とTregの減少効果、そして臨床効果や安全性を考慮して推奨投与量を決定するためのランダム化試験のデザインとした。また同時に5がん種を割り付け因子として、Mogamulizumab療法の有効性が期待できるがん種を探索するように設定した。

第Ia相の患者登録は2013年2月に開始され、順調に進捗した。0.1mg/kg、0.5mg/kg、1.0mg/kgにそれぞれ3名、3名、4名が登録されDLTは観察されなかった。また本治験治療における輸注反応は、ATLL患者へのMogamulizumab投与時の輸注反応に比較して概して軽度であった。これは、血中に直接の標的となるCCR4陽性のATLL細胞が存在していないためと考えられる。しかし、皮疹は11名中7名に出現し、グレード2の患者が5名であった。グレード3以上の皮疹は治験治療終了後に1名で認められたがステロイド剤の全身投与で軽快している。

第Ib相の患者登録は、2013年10月に開始となった。予定通り、0.1mg/kgと1.0mg/kgの2群にランダム化を行い、安全性とTreg減少効果をエンドポイントとして第II相試験における推奨用量と対象がん種を決定することとした。2014年3月末までに全施設で39名がランダム化されプロトコ

ル治療を開始している。当院においても平成25年度に2名において治療開始し、平成26年度に4名の患者のプロトコル治療を開始した。すなわち第1b相には計6名の登録が行われ、治験治療を実施した。残念ながら、6名全例で臨床効果は観察されず維持投与への移行例は存在しなかった。ただし、第1a相で確認されたmogamulizumab 1.0mg/kg以下での安全性は第1b相においても確認された。同時に制御性T細胞の中でも分画IIに存在するeffector Treg分画の減少は全例で確認された。また他施設においては、部分奏効が確認された1名（食道がん患者）を含む病態安定化（stable disease）患者も認められている。したがって、今後は他の薬剤、特に化学療法、ワクチン製剤、そして免疫賦活作用の作用点異なる抗体薬である抗PD-1/PD-L1抗体などの免疫チェックポイント分子に対する抗体薬などとの併用療法の開発が期待される。

E. 結論

ヒト化単クローン性抗CCR4抗体（Mogamulizumab）を用いてTregを抑制し、固形がん患者に対する抗腫瘍免疫の活性化を期待した医師主導の第I相臨床治験を実施した。1.0mg/kgまでの投与量の安全性は確認されたが、固形がん患者に対する推奨投与量が0.1mg/kgであるのか、あるいは1.0mg/kgであるのかは長期の経過観察とともに、附随研究による免疫動態の結果を待って結論を出す必要がある。しかし、何れの投与量においても制御性T細胞の著明な減少効果を認めたことは、本治療薬のproof of conceptが達成されていたことを示している。単剤での臨床効果は限定的であったため、今後は他剤との併用療法の臨床第I/II相試験へと発展させていく必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- (1) 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* 2014; Published online on January 30.

- (2) Narita T, Inagaki A, Kobayashi T, Kuroda Y, Fukushima T, Nezu M, Fuchida S, Sakai H, Sekiguchi N, Sugiura I, Maeda Y, Takamatsu H, Tsukamoto N, Maruyama D, Kubota Y, Kojima M, Sunami K, Ono T, Ri M, Tobinai K, Iida S. t(14;16)-positive multiple myeloma shows negativity for CD56 expression and unfavorable outcome even in the era of novel drugs. *Blood Cancer J* 2015; 5: e285.
- (3) Ifuku H, Kusumoto S, Tanaka Y, Totani H, Ishida T, Okada M, Murakami S, Mizokami M, Ueda R, Iida S. Fatal activation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. *Hematology Res* 2015; In press.
- (4) Masaki A, Ishida T, Maeda Y, Suzuki S, Ito A, Takino H, Ogura H, Totani H, Yoshida T, Kinoshita S, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Inagaki A, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Utsunomiya A, Inagaki H, Iida S. Prognostic significance of tryptophan catabolism in adult T-cell leukemia/lymphoma. *Clin Cancer Res* 2015; Epub ahead of print on March 18.

和文

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

該当なし

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題: 第Ia/Ib相臨床治験の実施及び管理

研究分担者 和田 尚(大阪大学医学系研究科・臨床腫瘍免疫学・教授)

研究要旨

成人T細胞白血病リンパ腫に対する日本発のがん治療薬であるヒト化抗CCR4モノクローナル抗体(Mogamulizumab)を、制御性T細胞(Treg)の除去を介した抗腫瘍免疫増強による固形がん治療に用いるという革新的がん治療の実用化に関する臨床研究を行う。安全性、制御性T細胞除去効果及び薬物動態を検討することを目的に医師主導第Ia/Ib相臨床治験を食道・胃・婦人科・皮膚科癌を対象に実施している。また、他の免疫チェックポイント分子阻害剤との将来的な併用への準備をしている。

A. 研究目的

「がん対策基本法」による「がんの克服を目指し、がんに関する専門的、学際的又は総合的な研究を推進するとともに、がんの予防、診断、治療等に係る技術の向上その他の研究等の成果を普及し、活用し、及び発展させること」という基本理念の達成のため、成人T細胞白血病リンパ腫(ATL)に対する日本発のがん治療薬であるヒト化抗CCR4モノクローナル抗体(Mogamulizumab/KW-0761)を、制御性T細胞(Treg)の除去を介した抗腫瘍免疫増強による固形がん治療に用いるという革新的がん治療の実用化に関する臨床研究を行う。Treg細胞表面にCCR4抗原が著明に強発現していることによる。大阪大学大学院・臨床腫瘍免疫学教室では消化器外科と共同で、安全性、制御性T細胞除去効果及び臨床効果を検討することを目的に医師主導第Ia/Ib相臨床治験を実施する。

B. 研究方法

臨床試験; 標準治療抵抗性CCR4抗原発現陰性の進行・再発肺・胃・食道・卵巣・皮膚がん患者を対象とし、第Ia相では、第Ib相に用いるMogamulizumabの最大投与量を決定する。投

与量増量試験を、0.1 mg/kg群に3例(最大6例)、0.5 mg/kg群に3例(最大6例)、1.0 mg/kg群に3例(最大6例)について行い、安全かつ十分なTreg除去(減少)効果を認める投与量を決定する。Mogamulizumabの投与回数は8回とし、週1回で投与する。第b相部は、第a相部において忍容性が確認された投与量のなかで高用量の1用量及び0.1mg/kgにて各群約20例となるように投与する。投与は、週に1回8週連続で静脈内投与する。大阪大学病院では消化器がん及び婦人科癌症例への治験薬投与を行う。

胃癌・食道癌患者に対する免疫療法の実践と解析; 当科では2004年より種々の癌精巢抗原を用いた癌ワクチン療法を行ってきた。今回MAGE-A4がんワクチンを実施した。安全性・臨床効果を観察している。同時に投与患者体内における種々の免疫学的解析として、NY-ESO-1抗原特異的液性・細胞性免疫反応、腫瘍組織を用いた腫瘍細胞抗原・免疫担当細胞の免疫染色、投与抗原以外の腫瘍関連抗原に対する免疫反応の推移などを探索している。その中で、アジュバントの開発と抗原蛋白の投与形態の工夫をしている。

(倫理面への配慮) 大学病院の臨床試験部、臨床治験部とともに、適応症例に対する説明や登録手法を慎重に検討し、同意取得・記録保存・データ管理などに際しては対象患者への倫理的配慮を十分に行っている。また参加症例の安全性確保のため、外来化学療法部と連携し、十分な観察を行っている。

C. 研究結果

症例登録；大阪大学附属病院においては、3例の食道癌症例（OUH-03；平成25年7月に1例、OUH-05, -06；平成26年3月に2例それぞれ投与開始）、2例の胃がん症例（OUH-10, -11；2014年7月と8月にそれぞれ投与開始）、4例の卵巣癌症例（OUH-04, -07, -15, -16；平成26年1月、4月、2015年2月、3月にそれぞれ投与開始）が参加した。OUH-03, -11は3回投与にて原疾患の増悪により離脱した。OUH-04, -06, -07, -10は8回の投与を完遂し、評価を行った。OUH-05, -15, -16は現在投与を行っている。試験薬に関連した重篤な副作用は、観察していない。OUH-05は、1サイクル8回の投与にてPRを観察、その後月に一度の継続投与を実施、現在19回の投与を行い、以前PRを維持している。OUH-05, -10の2症例では皮疹を投与後に観察したが、投薬にて軽快した。

MAGE-A4がんワクチン臨床試験；MAGE-A4総蛋白を用いたがんワクチンに際して、コレステリルプルラン（CHP）をドラッグデリバリーシステムとして用いた第一相臨床試験を2010年より行った。蛋白量として300 μ g、2週間隔6回を1サイクルとして20例に投与した。重篤な副作用は見られず安全な試験であった。6回の投与を完遂した15例の末梢血を用い、MAGE-A4特異的免疫反応を解析すると、抗体は4例で増強、CD4T細胞反応は3例で、CD8T細胞反応は4例で誘導された。臨床効果では2例にSDが観察された。抗体増強の有無で生存率を比較すると、MAGE-A4抗体反応の増強例では有意に生存率が延長していた。これらより、CHP-MAGE-A4がんワクチンは安全であり、抗原特異的免疫の誘導・増強効果がみられた。臨床的に有効例も存在し、特に液性免疫誘導症例においては全生存期間の延長効果が観察されたことは、このワクチンの有効性を示すものと考えられた。

D. 考察

症例選択・受け入れ・実施・他科協力などの方法・組織が確立・構築され、症例登録や試験薬の

投与、症例の安全性の確保、記録などが十分に可能である。

進行癌症例に対するMAGE-A4がんワクチンにおいて、MAGE-A4蛋白ワクチンがCHPとの併用で、臨床的にかつ免疫誘導に関して有効かつ効果的であることが分かった。

E. 結論

抗CCR4抗体療法を胃癌、食道癌をはじめとする各種固形がんに対して投与する医師主導治験を実施中である。癌精巢抗原を用いたがんワクチン臨床試験を種々遂行した。今後は他の免疫療法との併用を考慮していく。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- (1) Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in cancer patients. Ohue Y, Wada H, Oka M, Nakayama E. *OncoImmunology* 3: 11 2014.
- (2) High expression of MAGE-A4 and MHC class I antigens in tumor cells and induction of MAGE-A4 immune responses are prognostic markers of CHP-MAGE-A4 cancer vaccine. Saito T, Wada H, Yamasaki M, Miyata H, Nishikawa H, Sato E, Kageyama S, Shiku H, Mori M, Doki Y. *Vaccine*.32(45):5901-7. 2014
- (3) Production of NY-ESO-1 peptide/DRB1*08:03 tetramers and ex vivo detection of CD4 T-cell responses in vaccinated cancer patients. Mizote Y, Uenaka A, Isobe M, Wada H, Kakimi K, Saika T, Kita S, Koide Y, Oka M, Nakayama E. *Vaccine*. 32(8):957-64. 2014

和文

- (4) 和田尚. 抗 PD-1 抗体の泌尿器科疾患, 消化器疾患への応用. *最新医学* 70(3): 421-427 2015

2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし。

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題: 第 a/ b相臨床治験

研究分担者 岡 三喜男 川崎医科大学 教授

研究要旨

進行再発がん患者に対してMogamulizumab(抗CCR4抗体)を週1回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること(第 a相部)、及び週1回反復投与した際の安全性及び制御性T細胞除去効果を検討すること(第 b相部)を目的とする医師主導治験である。

川崎医科大学は、平成26年4月30日の現在、第 a相部で5例の患者に、第 b相部で7例に治験薬の投与を完了して、その安全性を確認した。26年度は、安全性、忍容性の確認を行うとともに、臨床効果、制御性T細胞除去効果および免疫増強効果の検討を行った。

A. 研究目的

進行再発がん患者に対して Mogamulizumab (抗 CCR4 抗体) を週 1 回反復投与した際の安全性及び薬物動態を検討すること(第 a相部) 及び週 1 回反復投与した際の安全性及び制御性 T 細胞除去効果を検討すること(第 b相部) を目的とする。

B. 研究方法

治験実施予定期間は平成 25 年 2 月～平成 27 年 6 月とし、進行又は再発固形がん(腫瘍細胞の CCR4 発現が陰性(診断は本邦で標準化されている方法を用いること)であり、且つ病理組織診断で肺がん、胃がん、食道がん、悪性黒色腫、卵巣がんの悪性腫瘍の診断が確定している患者、標準治療に不応・不耐性の患者、適切な治療法がない患者、又は標準治療を拒否した患者、performance status (ECOG 基準) が 0、1、2 であること、治験参加同意取得日の年齢が 20 歳以上であること、主要臓器(骨髄、心、肺、肝、腎等)に高度な障害がなく臨床検査値(登録前 2 週間以内)が基準を満たすこと、同意取得時から治験薬投与終了後 24

週まで、コンドーム等の避妊方法による避妊に同意していること(閉経後(最終月経から 1 年以上経過)又は外科的不妊手術を施行した女性及び外科的避妊術を施行した男性は除く)、本人が文書により同意していること、Mogamulizumab の初回投与前から初回投与翌日まで投与入院が可能な患者 効果判定の対象になる RECIST version 1.1 (New response evaluation criteria in solid tumors: Revised RECIST guideline (version 1.1)) における測定可能病変を有すること、3 カ月間以上の生存が期待できる患者を対象に以下のように執り行う。

【第 a 相部】Mogamulizumab 0.1 mg/kg 群 3 例(最大 6 例)、その後 0.1 mg/kg 群の忍容性が確認された場合は 0.5 mg/kg 群を 3 例(最大 6 例)、0.5 mg/kg 群の忍容性が確認された場合は 1.0 mg/kg 群 3 例(最大 6 例)について所定の用量の治験薬を週に 1 回 8 週連続で静脈内投与する。

【第 b相部】第 a相部において忍容性が確認された投与量(MTDの一段階下の投与量又はMTDに達していない場合は1.0 mg/kg)のなかで高用量の1用量及び0.1 mg/kgにて各群20例となるように投与する。投与は、週に1回8週連続で静脈内投与す

る。ただし、第 a相部において、忍容性が確認された投与量が0.1 mg/kgのみであった場合は、第 b相部では、0.1 mg/kgの1用量を用いて20例となるように投与する。

なお、8回投与後の制御性T細胞検査及び抗原特異的抗体免疫反応検査あるいは画像診断において、制御性T細胞除去効果及び抗原特異的抗体免疫反応又はRECISTにおいてSD以上が確認された被験者については、被験者に治験薬の維持投与の希望があり、且つ治験責任医師等が治験薬の維持投与が適当と判断した場合は、12週以降4週毎に、投与中止基準に該当するまで治験薬の維持投与を可とする。

主要評価項目は第 a相部では、安全性：最大耐用量（MTD）、用量制限毒性（DLT）、有害事象の種類・頻度・程度と薬物動態の検討を行い、第 b相部では、安全性：有害事象の種類・頻度・程度と制御性T細胞除去効果を検討する。

さらに副次的評価項目として、第 a相部では制御性T細胞除去効果と有効性：腫瘍縮小効果、無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）を検討し、第 b相部では有効性：腫瘍縮小効果、無増悪生存期間（PFS）、全生存期間（OS）および第 相試験以降の推奨投与量の決定を行う。

付随研究として、同意を得られた患者より得た検体を用いて、担当研究機関と連携をとりながら、抗原特異的抗体免疫反応検査、抗原特異的細胞免疫反応検査、サイトカイン産生能評価、免疫担当細胞・制御細胞解析などを総合的に解析し抗原特異的なT細胞免疫の増強効果を証明する。

以上の治験および付随研究は、全て倫理面に配慮して、大学の倫理審査委員会承認されている。

今年度は、第1a相症例における安全性評価を継続するとともに、忍容性が確認された0.1mg/kg及び1.0mg/kgにて第1b相を継続した。

C. 研究結果

川崎医科大学では、平成27年4月30日の現在、第 a相部で5例（0.1 mg/kg 2例、0.5 mg/kg 1例、1.0 mg/kg 2例）、第1b相部で7例（0.1 mg/kg 4例、1.0 mg/kg 3例）に治験薬を投与した。

第 a相部の5例における12週のirRECIST評価は3例でSD、2例でPDであった。SDであった3例は維持投与に移行し、そのうち2例は24週でPD評価

となり11回で投与中止、1例は36週でSD範囲内での増悪と評価し14回で投与中止した。1a相部では、当院5例を含む、全10症例でDLTの発生はなく安全性、忍容性が確認された。

当院で治験薬の投与を行った肺癌5例での治験薬との因果関係が否定できない有害事象を次に示す。0.1mg/kg投与群（2例）では、Grade2の皮疹、リンパ球減少、前庭障害、う歯、網膜出血、Grade1の皮疹、斑状丘疹状皮疹、発熱を各1例ずつ認めた。0.5mg/kg投与群（1例）では、Grade2の斑状丘疹状皮疹、低リン酸血症、Grade1のAST増加、LDH増加を認めた。1.0mg/kg投与群（2例）では、Grade3のγ-GTP増加（2例）、リンパ球減少、Grade2の倦怠感、食欲減退、皮疹、斑状丘疹状皮疹、甲状腺機能低下症、血中コレステロール増加、Grade1の下痢、発熱（2例）、高トリグリセリド血症、LDL増加、斑状丘疹状皮疹、CRP増加、AST増加、ALT増加、LDH増加を認めた。全5症例で投与量に関わらず皮疹もしくは斑状丘疹状皮疹が出現し、長期間持続する傾向があったが、Grade2の範囲であり、オロパタジンとd-クロルフェニラミン内服、局所あるいは全身性のステロイド投与によりコントロール可能であった。甲状腺機能低下症が出現した1例においては甲状腺ホルモンの内服治療を必要とした。

第1b相部では、治験薬の投与を行った肺癌7例のうち6例は8回投与を完遂した。1例（1.0 mg/kg投与群）はSAE（誤嚥性肺炎）により3回投与で中止したが、治験薬との因果関係は否定できると判断した。投与を完遂した6例で12週のirRECIST評価を行い、6例中1例でSD、5例でPDであった。SDであった1例は原疾患の悪化による食欲低下のため、維持投与へ移行せず、8回投与で中止とした。

現在まで、当院では第1a/1b相で肺癌12例において投与を終了し、治験薬との因果関係が否定できない重篤な有害事象は認めなかった。

D. 考察

平成26度は、第1a相症例における安全性評価を継続するとともに、忍容性が確認された0.1mg/kg及び1.0mg/kgにて第1b相を継続した。

1a相部における安全性評価では、当院5例を含む、全10症例でDLTの発生はなく安全性、忍容性が確認された。当院で治験薬の投与を行った肺癌5例の有害事象は、多くがGrade2以下であった。また、皮疹および斑状丘疹状皮疹は必発であり、長期間持続する傾向があったが、Grade2の範囲で

あり、コントロール可能であった。

第1b相部では、治験薬の投与を行った肺癌7例のうち6例は8回投与を完遂した。投与を完遂した6例で12週のirRECIST評価を行い、6例中1例でSD、5例でPDであった。

SDであった1例は原疾患の悪化による食欲低下のため、維持投与へ移行せず、8回投与で中止とした。

今後、1a、1b相における臨床効果、安全性、制御性T細胞除去効果および免疫増強効果を統括する予定である。

E. 結論

平成27年4月30日の現在、第1a相部で5例、第1b相部で7例、計12例にに対して治験薬の投与を行い、現在まで投与した肺癌患者においてMogamulizumab（抗CCR4抗体）の安全性を確認した。今後、安全性、忍容性の統括を行うとともに、臨床効果、制御性T細胞除去効果および免疫増強効果の検討を検体が得られた全症例で行う予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- (1) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Prolongation of overall survival in advanced lung adenocarcinoma patients with the XAGE1 (GAGED2a) antibody. Clin Cancer Res 20(19):5052-5063, 2014
- (2) Ohue Y, Wada H, Oka M, Nakayama E. Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in cancer patients. OncoImmunology3:11, 2014
- (3) Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, Nishio Y, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Increase of activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an anti-human CCR4 mAb (KM2760). J Thorac Oncol 10(1):74-83, 2015
- (4) Janardan P. Pandey, Aryan M. Namboodiri, Ohue Y, Oka M, Nakayama E. Genetic

variants of immunoglobulin g and k chains influence humoral immunity to the cancer-testis antigen XAGE-1b (GAGED2a) in patients with non-small cell lung cancer. Clinical and Experimental Immunology 176(1):78-83, 2014

- (5) Kobashi Y, Mouri K, Obase Y, Kato S, Oka M. Clinical application of T-SPOT.TB as a diagnostic method for tuberculosis infection. Open Journal of Respiratory Diseases 4:64-71, 2014
- (6) Katoh S, Ikeda M, Shimizu H, Mouri K, Obase Y, Kobashi Y, Fukushima K, Hirashima M, Oka M. Increased levels of plasma galectin-9 in patients with influenza virus infection. Tohoku J Exp Med 232(4):263-267, 2014
- (7) Yamagishi T, Shimizu K, Ochi N, Yamane H, Irei I, Sadahira Y, Takigawa N, Oka M, Nakata M. Histological comparison between preoperative and surgical specimens of non-small cell lung cancer for distinguishing between "squamous" and "non-squamous" cell carcinoma. Diagn Pathol. 29;9(1):103. 2014
- (8) Wakabayashi T, Yamaguchi Y, Fukuda Y, Katou A, Shimizu H, Obase Y, Oka M, Nakano T, Terada K, Ouchi K. The exacerbation risk prediction by fractional exhaled nitric oxide in younger and elder children with bronchial asthma. Kawasaki Medical Journal 40(1):41-46, 2014

和文

- (9) 岡 三喜男：「読む肺音、視る肺音、病態がわかる肺聴診学」1-73、金原出版（東京）、2014
- (10) 岡 三喜男、大植祥弘、黒瀬浩史：特集：これから期待される肺癌診断と治療：抗体免疫療法、呼吸器内科、26(6):431-437, 2014
- (11) 岡 三喜男：肺聴診の基本と病態推論、呼吸 33(7):724-727, 2014
- (12) 岡 三喜男、大植祥弘、黒瀬浩史、中山睿

一：がん精巢抗原に対する免疫応答とその臨床的意義、BIO Clinica 30(3):31-35, 2015

- (13) 黒瀬浩史, 岡三喜男, 中山睿一：抗 CCR4 抗体の制御性 T 細胞への影響と臨床応用の可能性、最新医学、70(3):393-398, 2015
- (14) 池田征樹, 尾長谷靖, 阿部公亮, 松田宗也, 八十川直哉, 堅田洋佑, 橋高誠, 黒瀬浩史, 清水大樹, 大植祥弘, 毛利圭二, 加藤茂樹, 小橋吉博, 岡三喜男：胸部リンパ節病変の診断における超音波気管支内視鏡ガイド下経気管支針生検 (EBUS-TBNA) の有用性、川崎医学会誌 40(1):27-35, 2014
- (15) 阿部公亮, 小橋吉博, 岡三喜男：抗 MRSA 薬、臨床と研究 92(2):159-162, 2015

2. 学会発表

- (16) Oka M, Kurose K, Ohue Y, Nakayama E. Targeted immunotherapy strategy for non-small cell lung cancer. 第 73 回日本癌学会学術集会、平成 26 年 9 月 25-27 日、横浜
- (17) Ohue Y, Kurose K, Matsumoto H, Mizote Y, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Clinical effect of XAGE1 immune response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma. 第 73 回日本癌学会学術集会、平成 26 年 9 月 25-27 日、横浜
- (18) Kurose K, Ohue Y, Eikawa S, Nishio Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Increase of activated Tregs in TIL in Lung cancer and in vitro depletion of Tregs by ADCC using anti-human CCR4 mAb. 第 73 回日本癌学会学術集会、平成 26 年 9 月 25-27 日、横浜
- (19) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M and Nakayama E. Clinical effect of XAGE1 (GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type advanced lung adenocarcinoma. 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium, October 5-8, 2014, New York, USA
- (20) Kurose K, Ohue Y, Eikawa S, Nishio Y, Isobe M, Uenaka A, Oka M, and Nakayama E. Increase of activated Tregs in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Tregs by ADCC using anti-human CCR4 mAb (KM2760). 22nd Annual International Cancer Immunotherapy Symposium, October 5-8, 2014, New York, USA
- (21) Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, Oka M, Nakayama E. Clinical effect of XAGE1(GAGED2a) antigen expression and antibody response in EGFR mutated and wild-type and advanced lung adenocarcinoma. 第 18 回日本がん免疫学会総会、平成 26 年 7 月 30 日-8 月 1 日、愛媛
- (22) 岡三喜男、肺癌の免疫微小環境と抗 CCR4 抗体薬、第 27 回日本バイオセラピー学会学術集会総会、平成 26 年 12 月 4-5 日、大阪
- (23) 大植祥弘, 黒瀬浩史, 溝手雄, 松本博文, 磯辺みどり, 上中明子, 福田実, 中山睿一, 岡三喜男、Prolonged overall survival in XAGE-1b (GAGED2a) antibody positive NSCLC patients、第 54 回日本呼吸器学会学術講演会、平成 26 年 4 月 25-27、大阪
- (24) 黒瀬浩史, 大植祥弘, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 岡三喜男, 中山睿一、Depletion of Tregs from PBMCs by treatment with defucosylated anti-CCR4 mAb、第 54 回日本呼吸器学会学術講演会、平成 26 年 4 月 25-27、大阪
- (25) 黒瀬浩史, 大植祥弘, 榮川伸吾, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 岡三喜男, 中山睿一、Increase of activated Tregs in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Tregs by ADCC using anti-human CCR4 mAb(KM2760)、第 18 回日本がん免疫学会総会、平成 26 年 7 月 30 日-8 月 1 日、愛媛

- (26) 長瀬博次, 和田尚, 西川博嘉, 鈴木進, 平家勇司, 小嶋隆嗣, 垣見和宏, 船越建, 飯田真介, 石田高司, 佐藤永一, 鶴殿平一郎, 岡 三喜男, 中山睿一, 土岐祐一郎, 上田龍三、制御性 T 細胞解析方法の標準化に向けた多施設共同研究、第 18 回日本がん免疫学会総会、平成 26 年 7 月 30 日-8 月 1 日、愛媛
- (27) 大植祥弘, Janardan Pandey, Aryan N, 中山睿一, 岡 三喜男、非小細胞肺癌患者で、免疫グロブリン 鎖および 鎖の遺伝的変異が XAGE1 免疫に及ぼす影響、第 55 回日本肺癌学会学術集会、平成 26 年 11 月 14-16 日、京都
- (28) 大植祥弘, 黒瀬浩史, 溝手雄, 松本博文, 西尾祐美, 磯辺みどり, 上中明子, 福田実, 中山睿一, 岡 三喜男、非小細胞肺癌における XAGE1 免疫の予後延長効果、第 55 回日本肺癌学会学術集会、平成 26 年 11 月 14-16 日、京都
- (29) 黒瀬浩史, 大植祥弘, 西尾祐美, 磯辺みどり, 堅田洋佑, 阿部公亮, 上中明子, 中山睿一, 岡 三喜男、Increase of activated Tregs in TIL in lung cancer and depletion of Tregs using anti-human CCR4 mAb、第 55 回日本肺癌学会学術集会、平成 26 年 11 月 14-16 日、京都
- (30) 大植祥弘, 黒瀬浩史, 岡 三喜男, 中山睿一、Clinical effect of XAGE1(GAGED2a) immunity in advanced lung adenocarcinoma、第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会、平成 27 年 2 月 28 日、東京
- (31) 大植祥弘, 黒瀬浩史, 岡 三喜男, 中山睿一、進行期肺腺癌における XAGE1 (GAGED2a) 免疫と予後、第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会、平成 27 年 2 月 28 日、東京

発明者：中山睿一、大植祥弘
出願番号：特願 2011-514462
出願日：平成 22 年 5 月 21 日
登録日：平成 27 年 3 月 13 日

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許番号：5709108 号

発明の名称：XAGE-1b 特異的免疫反応を誘導するペプチドおよびその利用

特許権者：国立大学法人 岡山大学

厚生労働科学研究費補助金

(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (がん関係研究分野))
分担研究報告書 (平成26年度)

固形がんに対する抗 CCR4 抗体療法第 Ia/Ib 相医師主導治験

分担研究課題： 第Ib相治験の実施

研究分担者 垣見和宏 東京大学医学部附属病院 特任教授

研究要旨

第Ib相治験実施施設として、平成26年度は、6例の患者(肺癌1例、悪性胸膜中皮腫3例、食道癌2例)に対して抗CCR4抗体(モガムリズマブ)の投与を実施した。モガムリズマブに関連する重篤な有害事象は認められなかった。継続中の2例を除く4例中、SDが1例、PDが3例であった。2例は1コース8回の投与を完遂し、そのうち1例はSDと判定され継続投与を受けた。肺癌患者においては、治療前後に胸水を採取して、モガムリズマブの投与により、末梢血のみならず、胸水中のCD4⁺CD45RA⁻Foxp3^{hi}活性化型制御性T細胞(aTreg)が減少することを確認した。また、胸水中のT細胞上には、PD-1およびTIM-3の発現が増強していた。悪性胸膜中皮腫患者の心嚢水中には、多数のリンパ球が浸潤していた。メソテリン陽性の腫瘍細胞と、モガムリズマブ投与後の心嚢水から樹立した心嚢水由来リンパ球を共培養すると、腫瘍反応性にIFN- γ とTNF- α の産生を認めた。これらの結果はモガムリズマブの投与によるTregの制御が、腫瘍反応性T細胞の誘導あるいは活性化をもたらした可能性を示唆している。

A. 研究目的

ケモカイン受容体 CCR4 を発現する再発又は難治性の成人 T 細胞白血病リンパ腫(ATL)に対する治療薬として、抗 CCR4 抗体であるモガムリズマブ (Mogamulizumab 協発発酵キリン) が開発された。本抗体は、CCR4 発現腫瘍に対して、ADCC 活性 (Antibody-Dependent-Cellular-Cytotoxicity : 抗体依存性細胞傷害活性) に基づく細胞傷害活性を示し、臨床効果を発揮する。Treg が CCR4 を発現していることから、抗 CCR4 抗体を用いて Treg を除去(減少)することが可能であれば、Treg による免疫抑制機構を解除し、その結果として抗腫瘍免疫応答を増強させることが期待される。さらに、高免疫原性ワクチンを同時投与することで、強力な腫瘍特異的な免疫応答を誘導しうる次世代がんワクチンの基盤開発が可能となるのではないかと期待される。

東大病院呼吸器外科、胃食道外科、皮膚科、免疫細胞治療学講座が協力して、第Ib相治験実施施設のための院内の組織を構築した。さらに治験に付随す

る研究「癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析」を実施し、腫瘍局所へ浸潤している Treg が、末梢血中に存在する Treg と同様に CCR4 を発現しているか、さらにモガムリズマブの投与により、腫瘍局所の Treg が除去されるかどうかを検討することを目的とした。また、がん細胞と免疫細胞が同時に存在している胸水/心嚢水を免疫抑制性の腫瘍局所として、末梢血と比較検討し、モガムリズマブの投与で Treg を制御することが、免疫環境の改善につながるかどうかの検討を目的とした。

B. 研究方法

(1) 第Ib相治験の実施

治験実施のためのプロトコールは、平成25年9月26日東大病院治験審査委員会において承認され、平成25年10月11日に治験届を提出したのち、対象患者の募集を行った。東大病院では、モガムリズマブによる腫瘍局所の免疫応答の解析を試みるために、特に通常の診療(診断および治療の評価目的)

	年齢	性別	癌種	登録年月日	投与量 (mg/kg)	投与回数
TK-01	70	男	悪性胸膜中皮腫	原疾患の悪化のため登録に至らず		
TK-02	69	男	胃がん (腹水貯留)			
TK-03	57	男	肺がん (胸水貯留)	2014/5/1	0.1	8
TK-04	71	男	悪性胸膜中皮腫	2014/9/30	0.1	4
TK-05	68	男	悪性胸膜中皮腫	2014/10/29	1	10
TK-06	65	男	食道がん	2015/1/30	1	8 (継続中)
TK-07	47	女	食道がん	2015/3/4	0.1	4
TK-08	80	男	悪性胸膜中皮腫	2015/3/9	1	4 (継続中)

において、局所の組織の採取を伴う悪性胸膜中皮腫や食道がん患者、胸水の貯留を伴う肺がん患者を対象として治験への参加者を募集した。

(2) 付随研究：胸水中の免疫応答の解析

1) 対象

癌性胸膜炎/腹膜炎患者で、その治療経過において、穿刺廃液処置を必要とする患者 (モガムリズマブ治療患者を含む)。

選択基準 診断あるいは治療目的で胸水/腹水を穿刺採取する 20 歳以上の患者で性別を問わない。

除外基準 説明文書の内容が理解できない者、自筆で同意書が記入できない者。

2) 方法

採取された胸水/心嚢水 (50ml-200ml) を遠心分離し、沈渣 (細胞成分) と上清に分離し、測定まで凍結保存する。沈渣中の細胞成分を蛍光標識されたモノクローナル抗体のパネルを用いて染色し、フローサイトメーターを用いてその細胞組成を解析し、免疫抑制性の細胞である Treg とその CCR4 発現を解析する。腫瘍細胞とリンパ球を共培養し、腫瘍反応性リンパ球の存在を評価する。上清中のサイトカイン・ケモカインを Bio-Plex Pro ヒトサイトカイン 27-Plex アッセイ (Bio-Rad) で測定した。

「癌性胸膜炎/腹膜炎による胸水/腹水中の免疫環境の解析」(審査番号 3880) は、平成 24 年 9 月 5 日東京大学大学院医学系研究科研究倫理審査委員会で承認された。

C. 研究結果

(1) 第 1b 相治験の結果

1) 症例 TK-03

57 歳、男性、喫煙歴 36 年 3 本/日

肺がん (Ad cT2aN3M1b、stage IV、EGFRwt、ALK(-))、脳転移、骨転移、肝転移を認めた。

腫瘍の免疫染色: NY-ESO-1 (-)、XAGE (-)

既往歴: 虫垂炎手術、睡眠時無呼吸症候群、COPD、高血圧症

治療歴:

1st line、2012/10/13- CDDP+VP16 コース PD

2nd line、2012/11/1- CDDP+PEM コース PD

脳転移に対し ナイフ、骨転移に対し局所放射線、40Gy/20 回

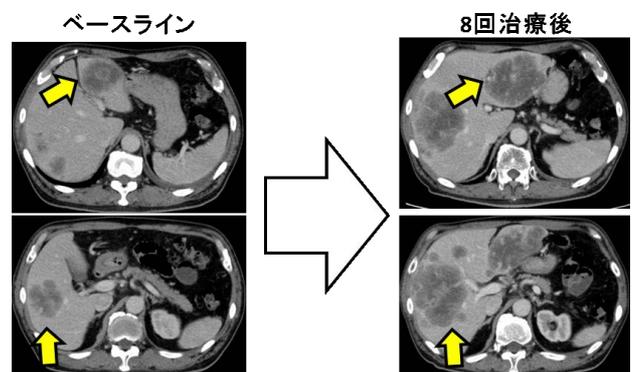
3rd line、2013/2/6- CDDP+DOC コース、CBDCa+DOC コース PD

4th line 2013/4- DOC+BEV、コース PD

5th line 2014/2- GEM+VNR、コース PD

2014/5/8 ~ 6/26 まで、1 週間間隔で 8 回のモガムリズマブの投与を実施した。

モガムリズマブ投与 4 回目から体幹、腰背部 紅色丘疹が次第に全身に拡がり、ステロイドの外用と、PSL 15 mg の内服で皮疹をコントロールしてモガムリズマブの投与を 8 回完遂した。



CEA 値は 21.4、23.4、40.5 と上昇し、標的病変の増大を認め PD と判定した。

2) 症例 TK-04

71 歳、男性、右悪性胸膜中皮腫

職歴：20-62 歳頃まで、建築現場の現場監督（アスベスト暴露歴あり）

治療歴：

2010/4 胸腔鏡下胸膜生検で、悪性胸膜中皮腫と診断 胸膜癒着術

2010/5/19 CDDP+PEM

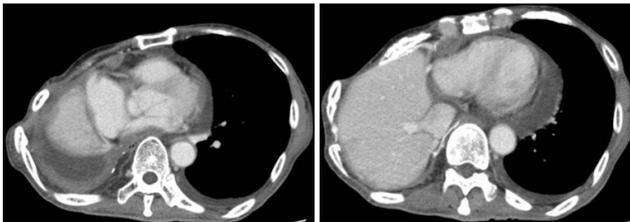
2010/6/15 CDDP+PEM

2010/7 胸腔鏡下胸膜癒着術

2010/8 右胸膜肺全摘、第 8,9 肋骨胸壁切除、心膜・横隔膜切除

2014/8 レントゲンで心拡大

ベースライン (2014/9/12)



CT で心嚢水貯留を認め、心嚢穿刺排液施行し細胞診は Class 5 中皮腫の再発と診断され、治験に参加した。

2014/10/2～10/23 まで、1 週間間隔で 4 回のモガムリズマブの投与を実施した。治験薬に関連する明らかな有害事象は認めなかったが、心嚢水の貯留が継続し次第に全身状態が悪化したため、治験を中止して緩和医療へと移行した。

3) 症例 TK-05

68 歳、男性、右悪性胸膜中皮腫

職歴：62 歳まで鹿島のプラントの運転の業務に 50 年間ついていた。

既往歴：高血圧

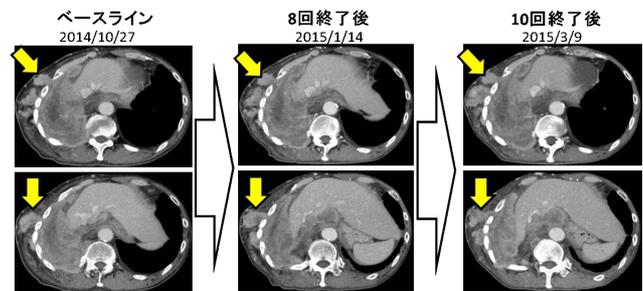
治療歴：

2011/10/7 肺剥皮術、悪性胸膜中皮腫と診断。

2012/1/12 シスプラチン(110mg/body)・ペメトレキセート(750mg/body)

2014/5 左胸水貯留 胸腔ドレナージ・胸膜癒着術

2014/10/30～12/18 まで 8 回のモガムリズマブの投与を完遂した。SD と判定し、2015/1/15、2/12 の 2 回の追加投与を実施した。



治験薬に関連する重篤な有害事象は認めなかった。評価病変の増大は認めず、SD と判定されていたが、以前より認めていた腫瘍の食道圧排による嚥下障害が増強し、腫瘍の増大を認めたため、治験薬の投与を中止し、地元の病院での緩和医療に移行した。

4) 症例 TK-06

65 歳、男性、進行食道癌、根治的放射線化学療法後局所リンパ節遺残、サルベージ手術後再発

治療歴：

2013 年 1 月ごろ 食物のつかえ感が出現し 3 月下旬に Adenocarcinoma と診断された。

2013/5/27 化学放射線治療 (RT 50.4Gy/28Fr)+NDP/TS-1

2013/6/23 NDP/TS-1

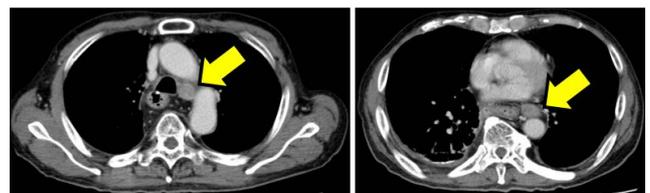
2013/8/22 サルベージ手術施行

2014/7/11 再発

2014/7/18 DCF 計 5 コース

2015/1/19 CT:縦隔再発巣、リンパ節ともに増大 CEA 71.4 CA19-9 254 PD

ベースライン (2015/1/19)



2015/2/9～3/30 まで、8 回のモガムリズマブの投与を完遂した。がん性胸膜炎に伴う胸水の貯留が増悪し、呼吸困難を認めたが、治験薬との因果関係はないと判断した。今後画像診断で評価予定である。

5) 症例 TK-07

47 歳、女性、食道癌(小細胞癌)術後再発、縦隔播種、皮下転移、左肺転移、肝転移

治療歴：2013/12/25 食道癌根治術、胃管挙上再建

2014/6/12 食道癌(小細胞癌)術後再発、縦隔播種、

皮下転移

2014/06/24- 化学放射線治療(60Gy/30Fr)

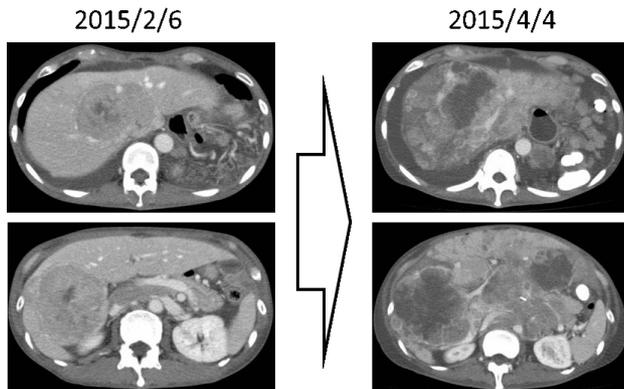
2014/06/24 CDDP + ETP 計3コース

2014/9/17- DCF 計2コース

2014/12/15- CPT-11+CDDP 2コース

2015/2/5 CDDP day8 PD

2015/3/6 ~ 3/27 まで1週間間隔で4回のもガムリズマブの投与を実施した。



2015/4/5 AST 4378 U/L と顕著な上昇を認め、CTにて多発肝転移、腹部骨盤リンパ節腫大が増悪、門脈本幹の狭窄、腹膜播種の増大と大量の腹水、両側胸水の増加、脳転移の増悪を認めたため、PDと判定し治験を中止した。

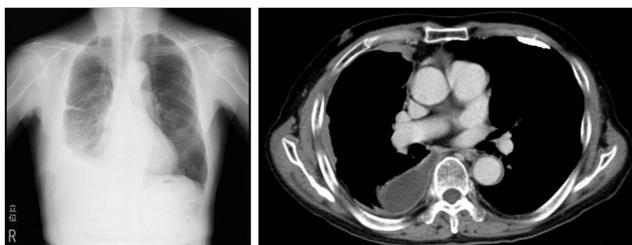
6) 症例 TK-08

80歳、男性、右悪性胸膜中皮腫

喫煙：20本/日 50年間、飲酒：なし

粉じん暴露：アスベスト暴露有

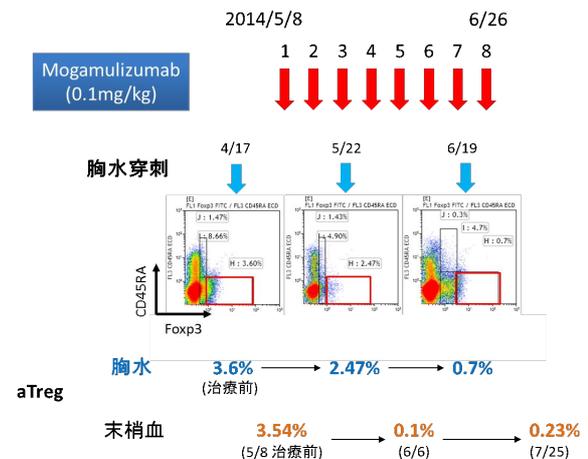
ベースライン(2015/3/9)



2014/11 労作時呼吸苦あり。2015/2/5 右胸膜生検施行し、右悪性胸膜中皮腫(上皮型)と診断。年齢から化学療法は難しいと判断され、また本人も希望せず。CCR4抗体薬の phase 1b 治験に登録となった。2015/3/15より4回のもガムリズマブの投与を実施した。体幹に漿液性丘疹が出現したが、抗ヒスタミン薬の内服とステロイドの外用でコントロール可能であった。現在も継続治療中である。

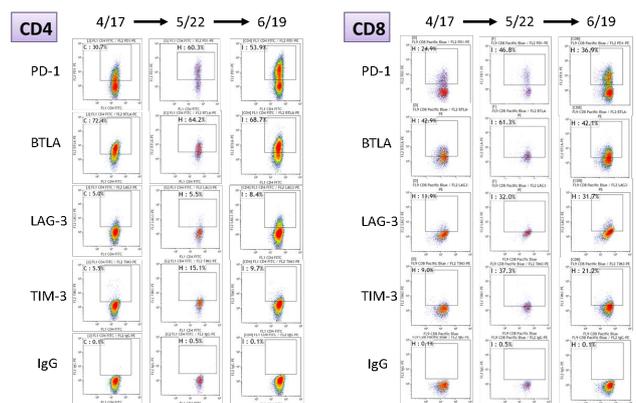
(2) 付随研究：胸水中の免疫応答の解析結果

1) もガムリズマブ投与による Treg の制御

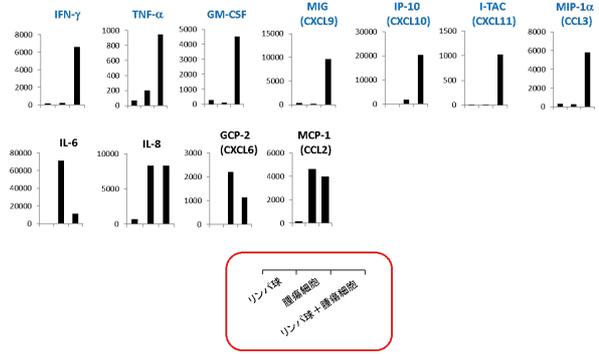
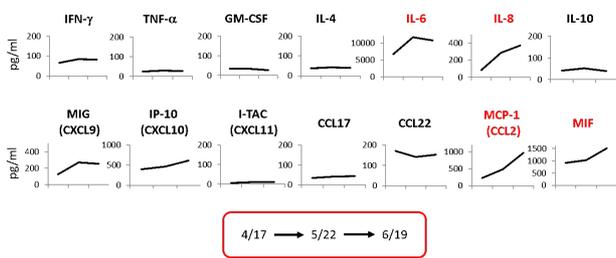


症例 TK-03 において、もガムリズマブ投与前、2回および6回投与後の胸水を採取し、CD4⁺CD45RA⁺Foxp3⁺の activated Treg(aTreg)の変化を、末梢血中の変化と比較した。もガムリズマブの投与によって、末梢血中の aTreg は、3.54%から0.1%、0.23%と速やかに減少した。同様に胸水中の aTreg も3.6%、2.47%、から0.7%へと減少した。

胸水中の細胞は、PD-1、BTLA、LAG-3、TIM-3などの免疫制御にかかわる分子を発現していた。



もガムリズマブの投与後、胸水中の CD4⁺/CD8⁺ T細胞上の PD-1 の発現が増強していた。PD-1 の発現は、T細胞の活性化後に認められることから、もガムリズマブの投与により、胸水中でのT細胞の活性化が誘導されたことを間接的に示唆している。

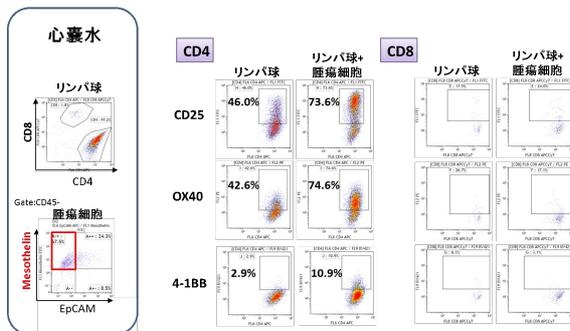


T細胞の活性化に伴い、胸水中のIFN- とその下流の分子であるCXCL9, CXCL10の増加を認めた。また、マクロファージの活性化にかかわるIL-6、IL-8、CCL2、MIFが胸水中で増加していた。

2) 腫瘍反応性リンパ球の誘導

悪性胸膜中皮腫細胞は細胞表面にメソテリンを発現している。症例TK-04の心嚢水中に存在するメソテリン陽性細胞を抗メソテリン抗体とマグネットビーズを用いて単離し、腫瘍細胞を得た。モガムリズマブを4回投与した後の心嚢水中から分離したリンパ球と共培養したところ、CD4細胞にCD25、OX40、4-1BBの発現が増強した。

心嚢水リンパ球の活性化分子の発現 (in vitroの解析)



また、培養上清中には、腫瘍反応性リンパ球の存在を示唆するIFN-、TNF-、CXCL9、CXCL10、CXCL11の産生を認めた。

これらの結果から、モガムリズマブ治療を受けた患者の心嚢水中には、腫瘍反応性CD4リンパ球が誘導され活性化されていた。

D. 考察

第b相医師主導治験の主要評価項目は、安全性であり、有害事象の種類・頻度・程度および、制御性T細胞除去効果を検討した。副次的評価項目は、有効性の評価として腫瘍縮小効果、無増悪生存期間(PFS)、全生存期間(OS)を解析し、第相試験以降の推奨投与量を決定することである。東大病院では、実施計画書に基づき、6例の患者に対してモガムリズマブの投与を実施した。同時に、腫瘍局所あるいは、腫瘍細胞が存在するコンパートメントとして胸水や心嚢水中のaTregの制御と、抗腫瘍免疫応答の解析を目的とした付随研究を実施した。癌性胸膜炎による胸水貯留を認めた肺癌患者1例と、悪性胸膜中皮腫による心嚢水貯留を認めた患者から、モガムリズマブ投与前と投与後の検体を採取し、免疫モニタリングを実施することができた。末梢血と胸水を採取したタイミングが異なるため、時間的な比較はできなかったが、モガムリズマブの投与により末梢血のみならず、胸水中でもCD4⁺CD45RA⁺Foxp3^{hi}aTregが減少することを確認できたことから、モガムリズマブの投与は、腫瘍局所においても、aTreg

表2. 6症例のまとめ

	年齢	性別	癌種	投与量 (mg/kg)	投与回数	Treg除去効果		RECIST 12週	有害事象	試験中止理由
						末梢血	胸水			
TK-03	57	男	肺癌 (胸水貯留)	0.1	8	あり	あり	PD	皮疹	現病悪化
TK-04	71	男	悪性胸膜中皮腫 (心嚢水貯留)	0.1	4	あり	腫瘍反応性リンパ球の存在	PD (4週)	なし	現病悪化
TK-05	68	男	悪性胸膜中皮腫	1	10	あり	-	SD	なし	現病悪化
TK-06	65	男	食道がん	1	8 (継続中)	あり	-	継続中	皮疹	継続中
TK-07	47	女	食道がん	0.1	4	不明	-	PD (4週)	なし	現病悪化
TK-08	80	男	悪性胸膜中皮腫	1	4 (継続中)	継続中	継続中	継続中	皮疹	継続中

を除去する可能性が示唆された。

悪性胸膜中皮腫症例において、すでに診断が確定しており、通常の診療において胸膜生検の実施の必要がなかったため、直接腫瘍を採取する機会は得られなかったが、心嚢水の貯留による心タンポナーデの治療目的に心嚢水穿刺ドレナージが実施されたため、腫瘍細胞を含んだ心嚢水を採取する機会が得られた。原疾患の増悪に伴い全身状態が悪化し、モガムリズマブの投与が4回で中止されたためか、心嚢水中のaTregは、投与前の0.9%に対して4回投与後は1.2%と、明らかな減少は認めなかった。末梢血中のaTregは2.15%から0.22%へと減少していた。腫瘍細胞が共存する環境下ではモガムリズマブによるaTregの制御は、末梢血中に比較して困難である可能性が示唆された。心嚢水中のaTregの割合に明らかな変化はなかったが、腫瘍反応性リンパ球の存在が確認され、モガムリズマブによる免疫抑制環境の制御が抗腫瘍免疫応答の誘導に関与していた可能性が認められた。しかしながら、モガムリズマブ投与前後の腫瘍反応性リンパ球の正確な比較が求められるが、投与前の検体量が不十分で、比較が困難である点が問題である。

E. 結論

- ・東京大学医学部附属病院において、6例の患者に対して抗CCR4抗体治療の治験を実施した。さらに1例の食道がん患者の治験登録を予定している。
- ・付随研究として、モガムリズマブ投与を受けた患者の胸水/心嚢水中の免疫応答を解析した。
- ・モガムリズマブの投与により、末梢血のみならず胸水中のTregも減少した。
- ・Tregの減少に伴い、胸水・心嚢水中の免疫応答の活性化が認められた。

F. 研究発表

論文発表

英文

- 1 Ichimura T, Morikawa T, Kawai T, Nakagawa T, Matsushita H, Kakimi K, Kume H, Ishikawa S, Homma Y, Fukayama M. Prognostic Significance of CD204-Positive Macrophages in Upper Urinary Tract Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2014 Jun;21(6):2105-12
- 2 Wada I, Matsushita H, Noji S, Mori K,

Yamashita H, Nomura S, Shimizu N, Seto Y, Kakimi K. Intraperitoneal injection of in vitro expanded V 9V 2 T cells together with zoledronate for the treatment of malignant ascites due to gastric cancer. *Cancer Med*. 2014 Apr;3(2):362-75.

- 3 Hosoi A, Matsushita H, Shimizu K, Fujii S, Ueha S, Abe J, Kurachi M, Maekawa R, Matsushima K, Kakimi K. Adoptive cytotoxic T lymphocyte therapy triggers a counter-regulatory immunosuppressive mechanism via recruitment of myeloid-derived suppressor cells. *Int J Cancer*. 2014 Apr 15;134(8):1810-22.
- 4 Yamada D, Matsushita H, Azuma T, Nakagawa T, Nagata M, Yamada Y, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Kume H, Homma Y, Kakimi K. Granulocyte macrophage colony-stimulating factor as a predictor of the response of metastatic renal cell carcinoma to tyrosine kinase inhibitor therapy. *Mol Clin Oncol*. 2014 Nov;2(6):1023-1027.
- 5 Matsushita H, Hosoi A, Ueha S, Abe J, Fujieda N, Tomura M, Maekawa R, Matsushima K, Ohara O, Kakimi K. Cytotoxic T lymphocytes block tumor growth both by lytic activity and IFN- γ -dependent cell cycle arrest. *Cancer Immunol Res*. 2015 Jan;3(1):26-36.
- 6 Matsushita H, Enomoto H, Kume H, Nakagawa T, Fukuhara H, Suzuki M, Fujimura T, Homma Y and Kakimi K. A pilot study of autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination combined with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma. *J Immunother Cancer*. 2014 Aug 19;2:30.
- 7 Futami J, Fujiyama H, Kinoshita R, Nonomura H, Honjo T, Tada H, Matsushita H, Abe Y, Kakimi K. Denatured mammalian protein mixtures exhibit unusually high solubility in nucleic acid-free pure water. *PLoS One*. 2014 Nov 18;9(11):e113295.
- 8 Kobayashi T, Kakimi K, Nakayama E, Jimbow K. Antitumor immunity by magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia.

Nanomedicine (Lond). 2014 Aug;9(11):1715-26.

- 9 Ueha S, Yokochi S, Ishiwata Y, Ogiwara H, Chand K, Nakajima T, Hachiga K, Shichino S, Terashima Y, Toda E, Shand FH, Kakimi K, Ito S, Matshushima K. Robust anti-tumor effects of combined anti-CD4 depleting antibody and anti-PD-1/PD-L1 immune checkpoint antibody treatment in mice. Cancer Immunol Res. 2015 Feb 20. pii: canimm.0190.2014.

1. 学会発表

国内学会

- 1 2014/7/31 第 18 回日本がん免疫学会総会、愛媛県松山市
神原佳織、藤枝奈緒、大平公亮、近藤篤、近藤真、泉謙道、高橋卓也、松下博和、和田郁雄、瀬戸泰之、垣見和宏
T 細胞を用いたがん免疫細胞治療における TIM-3 と Galectin-9 の相互作用
- 2 2014/7/31 第 18 回日本がん免疫学会総会、愛媛県松山市
垣見和宏、榮川伸吾、磯辺みどり、松下博和、宮井まなみ、細井亮宏、藤枝奈緒、鶴殿平一郎、上中明子、中山睿一
TCR ディープシーケンスによる NY-ESO-1 特異的 T 細胞のモニタリング
- 3 2014/7/31 第 18 回日本がん免疫学会総会、愛媛県松山市
長瀬博次、和田尚、西川博嘉、鈴木進、平家勇司、小島隆嗣、垣見和宏、舩越建、飯田真介、石田高司、佐藤永一、鶴殿平一郎、岡美喜男、中山睿一、土岐一郎、上田龍三
制御性 T 細胞解析方法の標準化に向けた多施設共同研究
- 4 2014/8/1 第 18 回日本がん免疫学会総会、

愛媛県松山市

細井亮宏、平野康介、松下博和、瀬戸泰之、前川隆司、垣見和宏

腫瘍内の免疫抑制性環境の制御による腫瘍特異的 CTL 移入治療の増強

- 5 2014/12/11 第 43 回日本免疫学会学術集会、京都府京都市
Akihiro Hosoi, Satoshi Ueha, Hirokazu Matsushita, Ryuji Maekawa, Kouji Matsushima, Kazuhiro Kakimi. Enhancement of adoptive cell therapy by regulating immunosuppressive environment

国際学会

- 1 2014/7/2-3 MIMB 2014, The 22nd International Symposium on Molecular Cell Biology of Macrophages, Kobe, Japan. Akihiro Hosoi, Hirokazu Matsushita, Satoshi Ueha, Kouji Matsushima and Kazuhiro Kakimi. CTL therapy-induced immunosuppressive microenvironment in the tumor is potentiated by the recruitment of MDSCs.
- 2 2014/11/7-9 SITC (Society for immunotherapy of Cancer) 2014, National Harbor, MD, USA. Kazuhiro Kakimi, Hirokazu Matsushita, Yutaka Enomoto, Tohru Nakagawa, Haruki Kume and Yukio Honma. Autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination combined with Sunitinib for metastatic renal cell carcinoma

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費補助金(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業(がん関係研究分野))
分担研究報告書(平成26年度)

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題：
日本人の悪性黒色腫患者におけるNY ESO-1, XAGE1bなど腫瘍抗原の発現と免疫に関する解析

研究分担者 船越 建 慶應義塾大学医学部皮膚科学 助教

研究要旨

近年、悪性黒色腫は分子学的にも疫学的にも異なる個性を有した疾患の集合体と考えられるようになってきている。今回我々は、抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子と、それに関連して患者の予後を予測し得るマーカーの探索を行うことを目的として研究を進めている。当院で集積した悪性黒色腫 94 症例 114 検体を用いて候補となるバイオマーカーの免疫染色をし、その発現強度と患者の予後および治療反応性を統計学的解析により比較検討している。

研究協力者

森 真理子 助教

種瀬 啓士 助教

確認と探索を行うことで、悪性黒色腫患者における治療反応性と予後予測が可能なバイオマーカーの確立を目指している。

A. 研究目的

近年、悪性黒色腫の病態に対する理解は長足の進歩を遂げた。BRAF, NRAS, c-KIT 等の ERK1/2MAPK シグナル伝達経路を構成する因子の遺伝子変異が頻回に認められることが明らかとなり、BRAF の V600E 変異を有する症例に対しては分子標的薬がある一定の成果をあげている。また、抗腫瘍免疫を増強する治療においても進歩が見られている。T 細胞の抗腫瘍活性を負に制御する CTLA-4 や PD-1 に対する抗体製剤が患者の予後を有意に改善することが明らかとなり、これらの製剤も臨床の現場で用いられ始めている。しかし、半数以上の症例がこれらの治療に対しても抵抗性であり、悪性黒色腫の更なる病態の解明が望まれている。そのような中で我々は、抗 PD-1 および抗 CTLA-4 阻害薬等の抗腫瘍免疫を増強する治療が有効と予測できる因子(NY ESO-1 をはじめとした癌精巣抗原； cancer-testis antigen、以下 CTA)の

B. 研究方法

本研究を行うにあたり、院内倫理委員会より承認された患者説明文書・同意書を用いて悪性黒色腫患者より研究のための同意を得た。

対象は 2000 年から 2013 年の間に当院皮膚科を受診し悪性黒色腫と診断された 94 症例(男性 30 例、女性 54 例、年齢中央値 61 歳、最高年齢 86 歳、最少年齢 15 歳)の 114 検体(原発巣 75 検体、リンパ節転移巣 27 検体、皮膚転移巣 12 検体)のホルマリン固定パラフィン包埋標本である。これらに対し、CTA である NY ESO-1 と XAGE1b の発現の有無を免疫組織学的染色により確認し、患者の臨床情報との相関性を検討した。

解析の対象となった患者の背景、原発巣の発症部位、病理組織学的 stage 分類等のまとめを以下の表 1 に示す。

表1 本検討で解析の対象となった患者の背景

	N (%)
Sex	
Male	30 (35.7%)
Female	54 (64.3%)
Age (years)	
Mean ± SD (range)	59.54±14.64 (15-86)
Median	61
Survival time (months)	
Mean ± SD (range)	61.87±5.69 (2-225)
Median (mm)	43.5
Primary lesion	
Breslow thickness	
in situ/lentigo maligna	2
≤ 1.00 mm	17
1.01-2.00 mm	15
2.01-4.00 mm	12
> 4.01 mm	22
Unknown	7
Mean ± SD (range)	3.30±0.38(0.2-14)
Median (mm)	2.10
Tumor subtype	
ALM	23 (30.7%)
SSM	20 (26.7%)
NM	22 (29.3%)
LMM	1 (1.3%)
in situ	2 (2.7%)
mucosal	7 (9.3%)
Tumor site	
Extremity	37 (49.3%)
Trunk	16 (21.3%)
Head and neck	10 (13.3%)
Mucosal	7 (9.3%)
Genital	5 (6.7%)
Metastatic lesion	
Lymph node	27
Skin metastasis	12

染色方法

染色を行うにあたり、組織内にメラニンの沈着を多く認める検体は脱メラニン処理を要した。また、すべての検体について赤発色を施行した。

1. 脱メラニン処理（過マンガン酸カリウム・シュウ酸法）

- 0.25%過マンガン酸カリウム水溶液に
1時間浸す
- 水洗い
- 5%シュウ酸水に切片が脱色するまで2~5
分間浸す。
- 静かに水洗い、10分間。
- 蒸留水洗浄

2. 染色

脱メラニン後の標本を、5%スキムミルク水（EZprepで溶解）に10分間浸す
EZバッファーにより脱パラフィン，親水化を行う。

イムノブロックにより撥水防止処理を行う

CC1 バッファーによる抗原不活化を行う。

（ ~ は自動組織免疫染色装置

（Ventana:Roche）を用いて行う。）

一次抗体（100倍希釈）を100μl添加。2時間反応させる。（抗体はanti NY-ESO-1 clone(Aigma Aldrichi)を使用）

PBSで洗浄。

二次抗体（ヒストファイン AP シンプルステイン AP (M)）を3滴添加し40分反応させる。

PBSで洗浄。

ファーストレッド 基質キットを添加、12分反応させる。

miliQ 洗浄

HE染色を行う。

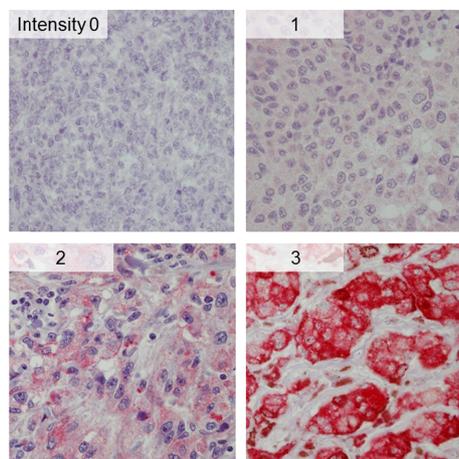
染色態度の評価は陽性細胞のパーセンテージ（Number）と陽性細胞の染色強度（Intensity）の2項目に対して行う。

Numberの評価は以下の通りを行う。

陽性細胞	5%以下	スコア	0
陽性細胞	5-25%	スコア	1
陽性細胞	26-75%	スコア	2
陽性細胞	75%以上	スコア	3

Intensityの評価は以下の図1に例示する染色強度の通りに行った。左上からスコア0、1、2、3の順である。

図1 各染色強度の代表例



スコアリングは皮膚病理と免疫染色の原理に習熟した二人の皮膚病理医により独立に行われ、スコアの結果が異なる場合には二人でスコアリングにつき検討を行い、合意が得られたものを採用する。合意が得られない場合は第三者のスコアリングを参照するという手法をとった。

各染色態度の評価がそろった段階で、腫瘍のステージ、患者の予後等の臨床情報と対比することで、統計解析を行う。

(倫理面への配慮)

インフォームドコンセントを取るに当たり、臨床研究指針に準拠した同意書を作成し、これに患者の同意を得た。また、臨床検体を用いるにあたり、情報公開し、オプトアウトの機会提供をしている。本研究は慶應義塾大学・倫理委員会の承認を得たプロトコールにしたがって行われた。

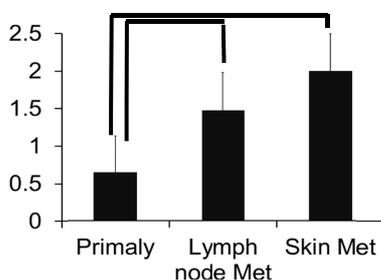
C. 研究結果

ヒト悪性黒色腫におけるこれらの蛋白質の発現を免疫組織染色において検討した。

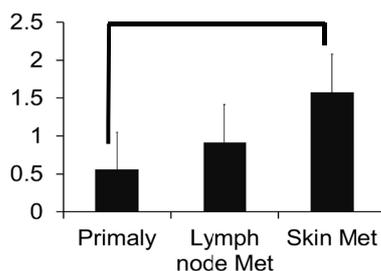
以下の図3の如く、XAGE1bとNY ESO-1のいずれにおいても、原発巣 リンパ節転移巣 皮膚転移巣と癌が進展に伴って発現する症例/発現の強度が増加するという傾向が認められた。

図2 悪性黒色腫検体における各 CTA の染色態度と腫瘍進展の関係

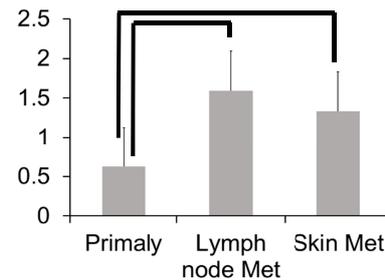
XAGE1b number



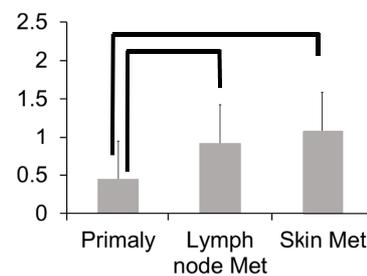
XAGE1b intensity



NY ESO-1 number



NY ESO-1 intensity

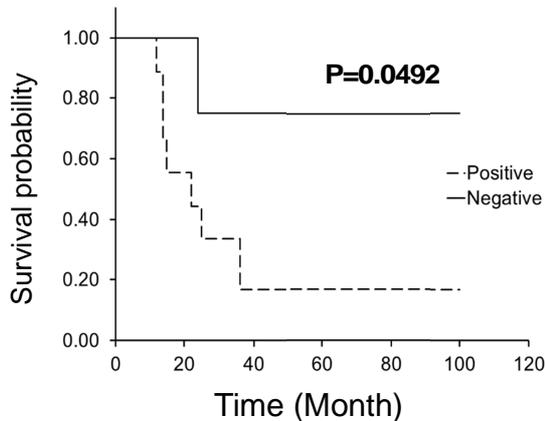


p < 0.05以下で有意差あり

続いて、解析可能であったリンパ節転移巣22症例22検体におけるXAGE1bとNY ESO-1の発現と予後の相関を検討した。以下図3にKaplan-Meier法により解析した結果を示す。有意差検定は一般化Wilcoxon検定を用いている。XAGE1bを発現している症例において予後が不良な傾向があることが示唆された。

図3 悪性黒色腫リンパ節転移症例におけるXAGE1bの染色態度と患者予後の関係

XAGE-1b



D. 考察

上述の知見よりXAGE1bとNY ESO-1は悪性黒色腫において腫瘍の進展に伴って発現が増強する傾向があるほか、XAGE1bが転移巣において発現している症例においては、不良な予後を予測するマーカーとなる可能性が示唆された。これらの結果は本来抗腫瘍免疫において標的抗原となり、免疫を活性化させる機能を有している筈のCTAとしては一見逆の結果になっているように見える。しかし、腫瘍が進展してもなお発現している症例は既にこれらのCTAをターゲットとした抗腫瘍免疫を克服してより悪性度の高いphenotypeへと進化を遂げているとも解釈できる。また、

CTA自身に腫瘍の進展を促進する分子生物学的な機能が備わっている可能性も考えられ、今後の解析が必要である。

E. 結論

本研究から得られている知見より、XAGE1bおよびNY ESO-1が悪性黒色腫の進展を予測するバイオマーカーとなる可能性が示唆される。また、Stage3のリンパ節転移検体においては、XAGE1bの発現が不良な予後予測のバイオマーカーとなる可能性も示唆された。今後より有意な結果が得られることが予想され、更なる症例の蓄積と検討を重ねるべく研究継続を行っていく。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題：**臨床治験 抗体療法モニタリング**

研究分担者 石田 高司 公立大学法人名古屋市立大学 准教授

研究要旨

進行再発固形がん患者を対象とした、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第Ia/Ib相治験のIb相では、安全性とTreg除去効果を主要評価項目として、0.1mg/kgと1.0mg/kgのランダム化試験が行われた。名古屋市立大学病院では、肺小細胞がん患者1名、食道がん患者2名、悪性黒色腫患者2名、卵巣がん患者1名、の計6名にプロトコル治療を実施し、effector Treg除去作用を認めた。このMogamulizumabの、effector Treg除去作用は、効果と有害事象の、諸刃の剣である。このことを十分に認識した上で、mogamulizumabの最適な使用方法確立に努める必要がある。

A. 研究目的

本研究全体の目的は、日本発の抗体薬Mogamulizumabを用いて、Treg除去による抗腫瘍免疫応答の増強、という新たな概念の治療法を創出し、標準治療抵抗性の進行・再発固形がん患者に有効な治療法を提供することである。そのため、進行再発固形がん患者を対象に、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第Ia/Ib相治験を実施する。

併せて、研究分担者はATLでのmogamulizumab投与例における免疫応答の変化を詳細に検討し、固形がんに対する最適な使用方法確立に寄与するデータ取得を目指した。

B. 研究方法

進行再発固形がん患者を対象とした、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第Ia/Ib相治験の腫瘍評価項目は下記の如くである。

- 1) 第Ia相
 - ① 安全性：最大耐用量(MTD)、用量制限毒性(DLT)、有害事象の種類・頻度・程度、
 - ②薬物動態の検討
- 2) 第Ib相
 - ①安全性：有害事象の種類・頻度・程度、
 - ②制御性T細胞除去効果

治験デザイン：

第Ia相部は、各コホート3～6名づつ、0.1mg/kgから開始し、忍容性が確認されれば0.5mg/kg及び1.0mg/kgへ増量を行う。第Ib相部では、忍容性が確認された投与群のうち高用量群及び0.1mg/kgの2群(第Ia相部で0.5mg/kgがMTDの場合、0.1mg/kg 1群)で実施。がん種を割り付け因子として各群20例となるように登録する。

併せて、ATL患者で、Mogamulizumab投与前後で下記の項目を解析した。

- ・ HTLV-1 特異的液性免疫反応

- i) HTLV-1 感染細胞株培養上清から精製された、不活化 HTLV-1 抗原に対する抗体反応
(ルミパルスプレスト®HTLV-1 で解析)
- ii) Recombinant-HTLV-1Tax に対する抗体反応

- ・ HTLV-1 Tax 特異的細胞性免疫 (Tax 特異的 tetramer で解析)

- ・ 血液中の B、T、NK 細胞の比率

- ・ サイトメガロウイルスに対する免疫 (血漿中のサイトメガロウイルス量、サイトメガロウイルスアンチゲネミア法、サイトメガロウイルス特異的 CTL 反応、サイトメガロウイルスに対する抗体反応)

- ・ 血液中の effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi})、naïve Treg (CD45RA^{hi}FOXP3^{lo})の存在比率。

- ・ 上記検査データの動きと治療効果、有害事象との関連。

(倫理面への配慮)

進行再発固形がん患者を対象とした、(Mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第Ia/Ib相治験は、「ヘルシンキ宣言」ならびに、治験実施計画書、薬事法第14条第3項及び第80条の2に規定する基準及び「医薬品の臨床試験実施の基準に関する省令(GCP)」(厚生省令 第28号)に則り実施する。本治験の実施に先立ち、名古屋市立大学病院、医薬品臨床試験審査委員会において、審査、承認を得た上で患者登録を開始した。

また、Mogamulizumab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。本試験の実施に先立ち、名古屋市立大学病院、医薬品臨床試験審査委員会において、審査、承認を得た上で患者登録を開始した。

C. 研究結果

平成 25 年 10 月 21 日から第 Ib 相での患者登録が開始された。KW-0761 の投与量は、癌種を割

り付け因子として 0.1mg/kg と 1.0mg/kg のランダム化が開始された。名古屋市立大学病院では、肺小細胞がん患者 1 名、食道がん患者 2 名、悪性黒色腫患者 2 名、卵巣がん患者 1 名、の計 6 名にプロトコル治療を実施した。末梢血中の effector Treg については、投与前後での比較が出来なかった 1 名を除く全例で減少を示した。しかし、6 名全例で臨床効果は認められず、維持投与への移行は行われなかった。皮疹は 3 名に認めたが、最悪グレードは 2 であり保存的治療で対応可能であった。また皮疹以外の自己免疫性有害事象は認められなかった。

“ATL に対するモガムリズマブ治療中の免疫モニタリング”に平成 27 年 3 月までに登録された ATL 49 症例の内訳は急性型 32 例、リンパ腫型 8 例、慢性型 7 例、くすぶり型 2 例であった。

Mogamulizumab の治療を受けた ATL 患者では、effector Treg の存在比率は著しく低下する一方、naïve Treg の存在比率は上昇することが明らかになった。Grade 3 以上の皮膚障害は 6 名(12.2%)に認めたが、その 6 名は有意に無増悪生存期間(PFS)が延長しており (median PFS, not reached vs 6.0 months, P=0.034)、全生存(OS)期間の延長傾向を認めた (median OS, not reached vs 13.2 months, P=0.090)。

ATL 細胞は CD45RA、FOXP3 の発現レベルから i)effector Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{hi}) タイプ、ii) non-Treg (CD45RA^{lo}FOXP3^{lo}) タイプ、iii)others に分類可能であり、このうち i) はポテリジオ治療への反応性が良好であり、i) vs ii) & iii) の全生存期間の比較では median OS, not reached vs 11.1 months (P=0.041) と生存期間の延長を認めた。

また、本試験登録時の 血液中 HTLV-1 特異的 CTL の存在比率は、末梢血単核球中 HTLV-1 感染細胞数比率(HTLV-1 load)と負の相関を示した (rs=-0.440, P=0.002)。HTLV-1 あるいは CMV 特異的細胞性免疫反応の動きと、モガムリズマブへの奏効、生存期間との有意な相関を見出すには至っておらず、更なる症例集積および解析が望まれる。

D. 考察

Mogamulizumab は日本において ATL、PTCL/CTCL に対し、承認を獲得しているが、我々が実施中の治験より、進行再発固形がん患者に対しても安全に投与可能であることが示された。進行再発固形がん患者に対し、mogamulizumab は血液中 effector Treg を激的に減少せしめるものの、臨床効果については限定的であり、より有効な投与方法、併用薬の確立は今後の課題である。

ATLに対する前向き臨床試験で得られた、Grade 3以上の皮膚障害が生命予後に寄与するdata は、Mogamulizumab の有する、effector Treg 除去作用が、効果と有害事象の、諸刃の剣であることを示す。このことを十分に理解し、mogamulizumab の最適な使用方法確立に努める必要がある。

E. 結論

Mogamulizumab は進行再発固形がん患者に対して、安全に投与可能である。臨床効果を得るために最適な投与方法確立は今後の重要な課題である。

G. 研究発表

論文発表 英文 (2014 年以降)

1. Masaki A, Ishida T, Maeda Y, Suzuki S, Ito A, Takino H, Ogura H, Totani H, Yoshida T, Kinoshita S, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Inagaki A, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Utsunomiya A, Inagaki H, Iida S. Prognostic Significance of Tryptophan Catabolism in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma. Clin Cancer Res. 2015 Mar 18. [Epub ahead of print] (corresponding author).
2. 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)

3. Ifuku H, Kusumoto S, Tanaka Y, Totani H, Ishida T, Okada M, Murakami S, Mizokami M, Ueda R, Iida S, Fatal reactivation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab. Hepatol Res. In press.
4. Masaki A, Ishida T, Maeda Y, Suzuki S, Ito A, Takino H, Ogura H, Totani H, Yoshida T, Kinoshita S, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Inagaki A, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Utsunomiya A, Inagaki H, Iida S. Prognostic significance of tryptophan catabolism in adult T-cell leukemia/lymphoma. Clin Cancer Res. in press. (corresponding author)
5. 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 Apr;101(4):398-404.
6. 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.
7. 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)
8. 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)
9. 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.
10. 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)
11. 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.

和文

該当なし

2. 学会発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

該当なし

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題: 抗CCR4抗体投与と制御性T細胞の関連の解析

研究分担者 名前 西川 博嘉 所属 大阪大学 職名 特任准教授

研究要旨

ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体(Mogamulizumab/KW-0761)は、脱フコシル化技術によりADCC活性を飛躍的に高めた抗体で、CCR4を発現する成人T細胞白血病・リンパ腫(ATL)に対する治療薬として承認されている。一方、これまで様々ながん抗原分子を標的とした臨床研究が行われ、がんワクチン療法が宿主に抗原特異的免疫を誘導することが明らかになっているが、臨床効果は限定的である。この原因としてがん組織に浸潤しているリンパ球中の制御性T細胞(Tregs)に注目が集まっている。つまり、がんワクチン療法によって誘導されたがん抗原特異的T細胞の抗腫瘍活性が、Tregsによって抑制されるため、十分な臨床効果をあげられないと考えられており、Tregsのコントロールはがん免疫療法が克服すべき大きな課題である。

がん組織に浸潤するTregsにCCR4が強発現していることから、本事業ではヒト化抗CCR4モノクローナル抗体を投与することにより、これらのTregsが減少しエフェクターT細胞の活性化といった抗腫瘍免疫応答の活性化が誘導されるか、またそれらが臨床効果につながるかを検討する。

今年度は本分担研究により、ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与による活性化型Tregs除去を、標準化されたアッセイ方法により解析した。ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与により末梢血および腫瘍局所から活性化型Tregsの減少が認められた。

A. 研究目的

現在進行中の種々のがん免疫療法は、一部の患者で臨床効果を示すものの、大多数の患者では満足すべき臨床効果をあげていない。その原因としてがん組織中に多数の制御性T細胞(Tregs)が浸潤し、抗腫瘍免疫応答を抑制していることがあげられる。

ヒトCD4+Tregsは遺伝子発現およびマーカーの上でも多様であることが明らかとなってきたが、CD4、FOXP3およびCD45RA(もしくはCD45RO)発現を組み合わせることにより、CD4+TregsをCD4+CD45RA+FOXP3^{low}Tregs(ナイーブ型)とCD4+CD45RA-FOXP3^{high}Tregs(エフェクター型)に分けられることが明らかになっている(Miyara et al. Immunity 30:899-911 2009)。本分類によりエフ

エクター型Tregsに分画される部分にCCR4が高発現していることが明らかになっている。よってヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与によりこれらのTregsの動態を末梢血およびがん組織で解析することが本治験において抗体の効果判定の一つとして必須である。加えて、このTregアッセイ方法を標準化することが抗CCR4抗体の実用化を進める上では重要である。

一方でヒト化抗CCR4モノクローナル抗体投与により、がん抗原に加えて広範な免疫応答の誘導・活性化が期待される。よって特定のがん抗原への免疫応答を検討することに加えて網羅的な免疫反応への影響を解析する必要がある。

本分担研究では上記のうち制御性T細胞の動態の免疫学的検討を行うことを目的とする。

B. 研究方法

書面にて同意が得られたヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与を受けた患者の末梢血および腫瘍浸潤細胞より単核球を比重遠心法により単離し、解析に用いた。

単核球を CD4、CD25、CD45RA、FOXP3 抗体を用いて Tregs を同定し、さらに抗 CCR4 抗体投与による変動を時系列でフローサイトメトリーにて検討した。

(倫理面への配慮)

本研究は大阪大学研究倫理審査会にて審査され、承認されたプロトコールに準拠して行った。また、すべての検体は本治験参加施設において書面での同意が得られたのち採取されたものを研究に用いた。

C. 研究結果

ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与による活性化型 Tregs 除去

a. ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与により末梢血活性化型 Tregs が除去される

ヒト Tregs の分類法を用いて、ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体を投与された患者 (Ia 層 10 名、Ib 層 7 名) の末梢血検体を解析した。全症例において投与 5 週目では活性化型 Tregs の有意な減少が認められた。この活性化型 Tregs の減少は、がん腫に関わらず認められるとともに、いずれの抗体の投与量 (0.1 mg/kg、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg) でも認められた (図 1)。

一方で病態の安定により投与を継続された患者では、再発前に活性化型 Tregs の頻度の上昇が認められた (図 2)。

活性化Tregs除去効果 疾患別経過 活性化Tregs除去効果 投与量別経過

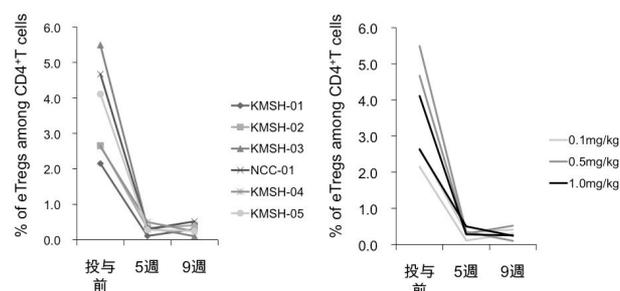


図 1 活性化型 Tregs 除去効果のまとめ

KMSH-02 0.1mg/kg投与群 肺癌

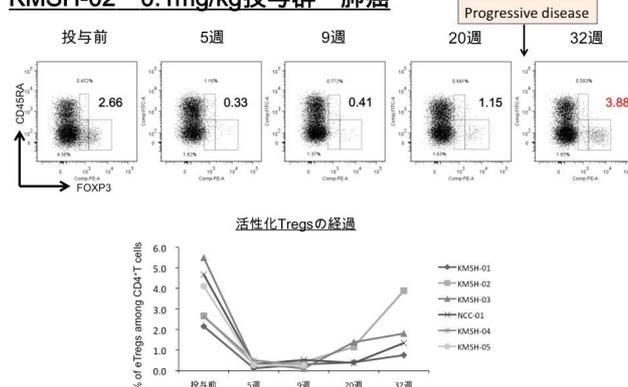


図 2 長期のヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与による活性化型 Tregs の動態

b ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与により腫瘍局所の活性化型 Tregs が減少する

ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体を投与された患者のなかで、Ib 層登録 OUH-10 において、投与前後で腫瘍局所の生検検体が得られた。ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与前では末梢血 (4.27%) および腫瘍局所 (11.3%) と高頻度の活性化型 Tregs が認められた。投与終了後には末梢血では活性化型 Tregs が 0.23% に除去されるとともに、腫瘍局所においても 3.96% に減少が認められた (図 3)。

OUH-10 Tregs除去効果

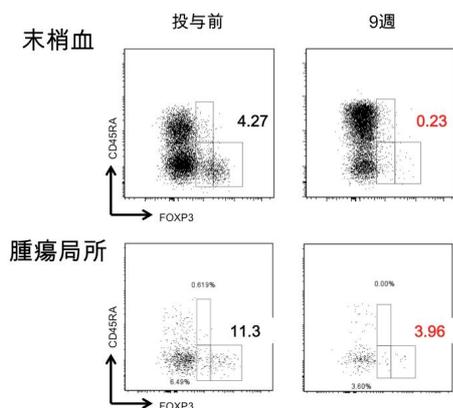


図 3 ト化抗 CCR4 モノクローナル抗体投与による腫瘍局所活性化型 Tregs の減少

D. 考察

ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体の投与により末梢血の活性化型 Tregs が十分に除去されることが明らかになった。また腫瘍局所においても活性化型 Tregs の著大な減少が認められた。しかしながら腫瘍局所では末梢血に比較して活性化型 Tregs の除去効率も低く、今後 CCR4 発現レベルの違い、CCR4 分子の変異の可能性および腫瘍局所への ADCC 活性に関わる細胞 (NK 細胞や単球など) 浸潤なども含めた検討が必要であると考えられた。

また、本治療では病態が安定した患者ではヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体の継続投与がなされたが、1回/4週の治療になると活性化型 Tregs の頻度が上昇し、それに伴い病態の進行が認められた。これはヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体による活性化型 Tregs 減少により、がん細胞と免疫系とで保たれていた平衡状態が活性化型 Tregs の増加とともに崩れ、がん細胞の免疫系からの逃避、がん細胞増殖に至った可能性が考えられ、今後の検討課題と考えられた。

E. 結論

ヒト化抗 CCR4 モノクローナル抗体 (0.1 mg/kg-1.0 mg/kg) 投与によりがん腫に関わらず活性化型 Tregs が末梢血から除去された。また1例ではあるが、腫瘍局所でも活性化型 Tregs が著名に減少することが示された。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

1. Maeda Y, Nishikawa H, Sugiyama D, Ha D, Hamaguchi M, Saito T, Nishioka M, Wing JB, Adeegbe D, Katayama I and Shakaguchi S; Regulatory T cells drive autoimmune T cells into a distinct T-cell subpopulation functionally anergic and expressing CTLA-4. **Science**. 346(6216):1536-1540 2014 (Corresponding Author). doi: 10.1126/science.aaa1292.
2. Matsumoto M, Baba A, Yokota T, Nishikawa H, Ohkawa Y, Kayama H, Kallies A, Nutt SL, Sakaguchi S, Takeda K, Kurosaki T and Baba Y.; "Interleukin-10-Producing Plasmablasts Exert Regulatory Function in Autoimmune Inflammation. **Immunity**. 41(6):1040-1051 2014 doi: 10.1016/j.immuni.2014.10.016.
3. Nishikawa H, Sakaguchi S; Regulatory T cells in cancer immunotherapy. **Curr Opin Immunol**. Jan 9;27:1-7 2014.
4. Ito Y, Hashimoto M, Hirota K, Ohkura N, Morikawa H, Nishikawa H, Tanaka A, Furu M, Ito H, Fujii T, Nomura T, Yamazaki S, Morita A, Vignali DAA, Kappler JW, Matsuda S, Mimori T, Sakaguchi N and Sakaguchi S.; Detection of T-cell responses to a ubiquitous cellular protein in autoimmune disease. **Science**. 346(6207):363-368 2014 doi: 10.1126/science.1259077.
5. Saito T, Wada H, Yamasaki M, Miyata H, Nishikawa H, Sato E, Kageyama S, Shiku H, Mori M, Doki Y.; High expression of MAGE-A4 and MHC class I antigens in tumor cells and induction of MAGE-A4 immune responses are prognostic markers of CHP-MAGE-A4 cancer vaccine. **Vaccine**. 32(45):5901-5907 2014

6. Wada H, Isobe M, Kakimi K, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Udono H, Seto Y, Yamada K, Nishikawa H, Pan L, Venhaus R, Oka M, Doki Y, Nakayama E.; Vaccination With NY-ESO-1 Overlapping Peptides Mixed With Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in Patients With Cancers Expressing the NY-ESO-1 Antigen. **J Immunother.** Feb-Mar;37(2):84-92 2014. doi: 10.1097/CJI.000000000000017.

和文

- (1) 杉山 大介、西川博嘉
制御性 T 細胞および免疫チェックポイント分子の解除による抗腫瘍免疫応答増強の可能性
がん分子標的治療 2014;12:84-88.
- (2) 島津 裕、西川博嘉
制御性 T 細胞によるがん抗原特異的 T 細胞の抑制
癌と化学療法 2014;41:1057-1061
- (3) 長瀬博次、西塔拓郎、和田 尚、西川博嘉
抑制性 T 細胞の同定と機能評価
Surgery Frontier 2014;21:70-75
- (4) 杉山 大介、西川博嘉
成人 T 細胞白血病に対する免疫療法
血液フロンティア 2014;63-69
- (5) 西川博嘉
制御性 T 細胞とがん免疫療法
臨床血液 2014;55:475-481
- (6) 西川博嘉、坂口志文
ヒト制御性 T 細胞の解析
医学のあゆみ 2015.252.69-74
- (7) 西川博嘉

2. 学会発表

海外

- (1) Nishikawa H.: Regulatory T cells in anti-tumor immunity: Can they be controlled? 22nd Annual Cancer Immunotherapy Symposium. October 7th, 2014, New York (*Symposium*)
- (2) Adeegbe D, Sugiyama D, Maeda Y, Ha D, Matsutani T, Nishikawa H and Sakaguchi S: TCR repertoire reshaping emanating from therapeutic modalities involving Treg depletion and/or immune checkpoint blockade. 22nd Annual Cancer Immunotherapy Symposium. October 6th, 2014, New York
- (3) Saito T, Nishikawa H., Wada H, Mori M, Doki Y and Sakaguchi S: Association between FoxP3+ T cells and regulatory T cells in colorectal cancer 22nd Annual Cancer Immunotherapy Symposium. October 6th, 2014, New York

国内

シンポジウム

- (1) 西川博嘉: 制御性 T 細胞を標的としたがん免疫療法 第 18 回日本がん分子標的治療学会シンポジウム 2014 年 6 月 27 日 宮城県仙台市
- (2) Hiroyoshi Nishikawa: Importance of controlling regulatory T cells for successful cancer immunotherapy 第 18 回日本がん免疫学会シンポジウム 2014 年 7 月 30 日 愛媛県松山市
- (3) 西川博嘉: Regulatory T cell を介したがん免疫応答制御の克服の可能性、第 34 回日本分子腫瘍マーカー研究会シンポジウム 2014 年 9 月 24 日 神奈川県横浜市
- (4) 西川博嘉: 網羅的抗体反応測定法を用いた抗腫瘍免疫応答のモニタリング、第 42 回日本臨床免疫学会 6 学会合同シンポジウム 2014 年 9 月 25 日 東京都
- (5) Nishikawa H: Tregs in Cancer Immunotherapy、第 73 回日本癌学会 Core Symposium 2014 年 9 月 27 日 神奈川県横浜市

(6) 西川博嘉:制御性 T 細胞とがん免疫療法
第 63 回日本血液学会 教育講演 2014 年 11 月 1
日 大阪市

(7) 西川博嘉: がん免疫療法における制御性 T
細胞 第 27 回日本バイオセラピー学会 シンポジ
ウム 2014 年 12 月 4 日 大阪市

(8) 西川博嘉: がん免疫療法と制御性 T 細胞
第 10 回日本がん分子標的治療学会 トランス
レーショナルリサーチワークショップ 2015 年
1 月 20 日 東京都

一般講演

(1) 前田優香、西川博嘉、杉山大介、西塔拓
郎、西岡めぐみ、Danbee H、坂口志文: 制御性
T 細胞は腫瘍抗原特異的 CD8+T 細胞に特徴的な
アネルギー状態を誘導する 第 18 回日本がん免
疫学会 2014 年 8 月 1 日 愛媛県松山市

(2) Adeegbe D, Sugiyama D, Maeda Y, Ha D,
Matsutani T, Nishikawa H and Sakaguchi S:
Promotion of T cell dysfunction by regulatory T

cells in tumor; mechanisms and insights 第 18
回日本がん免疫学会 2014 年 8 月 1 日 愛媛県
松山市

(3) 杉山大介、前田優香、西塔拓郎、西岡め
ぐみ、Danbee H、西川博嘉、坂口志文: 制御性
T 細胞は腫瘍抗原特異的 CD8+T 細胞に特徴的な
アネルギー状態を誘導する 第 73 回日本癌学会
2014 年 9 月 25 日 神奈川県横浜市 (口頭発表)

(4) 岸裕幸、小林英治、杉山大介、西川博嘉、
坂口志文、村口篤: メラノーマ患者および健常
人 PBMC 中の CD4+T 細胞の単一細胞レベルでの
レパトリー解析、第 73 回日本癌学会 2014
年 9 月 25 日 神奈川県横浜市 (口頭発表)

(5) 西塔拓郎、西川博嘉、和田 尚、坂口志
文、森正樹、土岐裕一郎: 大腸癌での制御性 T 細
胞の予後への影響、第 73 回日本癌学会 2014
年 9 月 27 日 神奈川県横浜市 (ポスター発表)

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題: 液性免疫・細胞性免疫モニタリング

研究分担者 鶴殿 平一郎 所属 岡山大学 職名 教授

研究要旨

固形がん患者を対象に、ヒト化抗CCR4モノクローナル抗体(mogamulizumab/KW-0761)の医師主導第I/II相臨床治験を多施設で実施する。第I相では、各症例につきmogamulizumabの安全性を検討し、制御性T細胞(Treg)の除去(減少)を確認した後に、岡山大学では細胞性免疫増強効果を検討した。

A. 研究目的

固形がん患者の抗CCR4抗体投与前後におけるCD8、CD4T細胞機能について解析を行い、mogamulizumab投与によるT細胞応答の変化を観察する。

B. 研究方法

抗CCR4抗体投与前後の患者(KMSH-01、02、03、04、05)末梢血単核球(PBMC)をPMAおよびionomycinにより刺激し、細胞内染色法によりCD8T細胞における免疫疲弊分子(PD-1、Tim-3)およびサイトカイン(IL-2、TNF、IFN)産生を検出し、多機能性評価を行った。

(倫理面への配慮)

C. 研究結果

PMA/ionomycin刺激後の末梢血単核球中のCD8T細胞(KMSH-01、02、03、04、05)における疲弊分子PD-1、Tim-3の発現は、PD-1+Tim-3細胞については大きな変化は観察されなかった。PD-1-Tim-3+細胞については5例中3例(KMSH01、02、04)が減少傾向にあった。PD-1+Tim-3+細胞は投与経過中、増減はほぼ観察されなかったが、維持投与時には上昇する例(KMSH-01、KMSH-03)があった。サイトカイン産生の検出では、抗体投与後サイトカインの上

昇が観察された例は5例中4例(KMSH-01、02、03、05)で、そのうち多機能性(サイトカイン同時産生)上昇例は3例(KMSH-01、03、05)で、IFN産生のみ上昇したのは1例(KMSH-02)であった。

D. 考察

抗CCR4抗体投与後の患者CD8T細胞のTim-3陽性細胞の減少と多機能性(サイトカイン同時産生)上昇から、mogamulizumabによる制御性T細胞の除去により、末梢血CD8T細胞は活性化していると予想される。

E. 結論

Mogamulizumab投与により末梢血CD8T細胞において、Tim-3陽性細胞は減少傾向にあり、サイトカイン産生も上昇している。本項目では、非特異的なCD8T細胞応答についての検討を行ったが、がん抗原特異的なCD8T細胞の応答も同様に活性化しているかどうかを検討する必要がある。また抗体投与により変動したこれらCD8T細胞応答および疲弊マーカーが臨床効果と相関するかを検討する必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

英文

- (1) Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E and Udono H. Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 10; 112(6):1809-14, 2015.
- (2) Uehara T, Fujiwara T, Takeda K, Kunisada T, Ozaki T, Udono H. Immunotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcomas. BioMed Research International, Article ID 820813, 2014.
- (3) Ichiyanagi T, Ichiyanagi K, Ogawa A, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chuma S, Sasaki H, Udono H. HSP90 α plays an important role in piRNA biogenesis and retrotransposon repression in mouse. Nucleic Acids Res. 42(19): 11903-11, 2014.
- (4) Eikawa S, Udono H. Monitoring multifunctionality of immune-exhausted CD8 T cells in cancer bearing patients. Methods in Mol Biol., 1142: 11-7, 2014.
- (5) Wada H, Isobe M, Kakimi K, Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Udono H, Seto Y, Yamada K, Nishikawa H, Pan L, Venhaus R, Doki Y, Oka M, Nakayama E. Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in patients with cancers expressing NY-ESO-1 antigen. Journal of Immunotherapy, 37(2): 84-92, 2014.

和文

- (6) 榮川伸吾、鵜殿平一郎、T細胞の免疫疲弊と免疫チェックポイント分子、最新医学 70 巻 3号: 62-68, 2014.

2. 学会発表

- (7) 鵜殿平一郎：メトホルミンによる腫瘍局所の免疫疲弊解除. 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会（教育講演）東京、2015, 2月.
- (8) Eikawa S, Negawa M, Kunisada Y, Uehara T, Nishida M, Ichiyanagi T, Yamazaki C, Udono H. Metformin induced tumor infiltrating CD8 T effector memory cells with multiple cytokine producing ability. The 43rd Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (oral presentation), Kyoto, 2014.
- (9) 鵜殿平一郎、榮川伸吾：メトホルミンによる腫瘍局所の免疫疲弊解除. 第 87 回日本生化学会大会（シンポジウム）京都、2014.
- (10) 鵜殿平一郎：エネルギーセンサーを介したストレス応答と腫瘍免疫の関わり. 第 9 回臨床ストレス応答学会（シンポジウム）岡山、2014 年.
- (11) 榮川伸吾：2 型糖尿病薬メトホルミンの腫瘍局所における CD8 T 細胞疲弊解除. 第 9 回臨床ストレス応答学会（口演）岡山、2014 年.
- (12) Eikawa S, Negawa M, Kunisada Y, Uehara T, Ichiyanagi T, Yamazaki C, Udono H. Activated AMPK induced tumor infiltrating CD8 T-cells with effector memory phenotype and functional reversion. The 73rd Annual Meeting of the Japanese Cancer Association (poster presentation), Yokohama, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

特願 2014-166593「免疫評価方法とその評価された免疫活性化剤」

出願日：平成 26 年 8 月 19 日

鵜殿平一郎、榮川伸吾、豊岡伸一

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

固形がんに対する抗CCR4抗体療法第Ia/Ib相医師主導治験

分担研究課題:免疫担当細胞の癌組織内浸潤様式の臓器別特性

研究分担者 佐藤 永一 東京医科大学 医学総合研究所 准教授

研究要旨

諸臓器の固形癌で、原発巣に浸潤する免疫担当細胞の浸潤を評価した。臓器ごとに浸潤する免疫担当細胞の構成には著しい相違があり、また同種の癌でも先行する化学療法によって同所の免疫反応に変化が生じることが明らかにされた。卵巣癌を用いた解析によって、抗腫瘍免疫は抗原特異的な免疫反応によって担われており、癌細胞によるHLA class Iや抗原の発現、樹状細胞の局所への浸潤が必要となることを明らかにした。

免疫治療の治療適応決定には標的とする臓器、組織型に固有の免疫学的な環境を評価する基準が必要であり、標的とする癌腫ごとの細分化された基準を今後確定する必要がある。

A. 研究目的

種々の固形癌で細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)浸潤の多寡が、患者の生命予後や化学療法等の効果に影響を与えることが報告されている。

CTLによる免疫反応は抗原特異的であり、全身免疫の成立によって発揮されるものと考えられるが、諸臓器の癌ではそれぞれ固有の組織構造が作られており、局所での免疫学的な環境が異なっているものと想定される。

本分担研究では、代表的な臓器の癌組織で免疫担当細胞の浸潤様式の差異を検討した。

また卵巣癌を用いて、癌精巣抗原やHLA class Iの発現、未熟樹状細胞の浸潤数によって症例を層別化し、免疫学的な環境の差がCTL浸潤と予後の相関に影響を与えるか否かを検討した。

B. 研究方法

1) 臓器別の免疫担当細胞浸潤様式の解析

東京医科大学病院にて切除され、ホルマリン固定・パラフィン包埋標本として保存されている肺腺癌(粘液非産生性)20例、肺扁平上皮癌20例、悪性黒色腫16例、食道扁平上皮癌19例(うち術前化学療法施行例が10例)を用いて、免疫組織化学を行い、CD8陽性リンパ球(CTL)、

CCR4陽性リンパ球、PD1陽性リンパ球の高倍率3視野あたりの浸潤数を計測した。また癌細胞でのPDL-1の発現率も同時に評価した。

2) 卵巣癌の層別化解析

188例の卵巣癌組織を用いて腫瘍精巣抗原NY-ESO-1、HLA class Iのがん細胞での発現、CD8陽性CTLの浸潤、CD1a陽性未熟樹状細胞の浸潤を免疫組織化学によって評価した。

C. 研究結果

癌組織内の免疫担当細胞の分布について、下記

1)~5)が明らかになった。

1) CD8陽性CTLの浸潤数は、悪性黒色腫では他臓器の癌と比較して著しく少なかった。

2) CCR4陽性細胞の浸潤数は、間質では肺扁平上皮癌で他臓器の癌腫よりも多かった。

3) 術前化学療法を施行した食道癌では、非施行群に比較して、CCR4陽性細胞の浸潤数が明らかに少なかった。

4) PD-1陽性細胞の浸潤数は、悪性黒色腫では他の癌腫に比較して著しく低かった。

5) 腫瘍細胞によるPD-L1の発現は悪性黒色腫で明らかに発現率が低かった。

卵巣癌の層別化解析で下記6)~8)が見出された。

6) 漿液性腺癌では、CD8陽性CTLの浸潤が多いほど予後が良いが、他の組織型ではCTL浸潤の多寡と予後は相関しない。

7) 癌細胞によるHLA class IやNY-ESO-1 の発現率が高いとCTL の浸潤が多いほど予後が良いが、HLA class IやNY-ESO-1の発現率が低い群ではCTL 浸潤数は予後と相関しない。

8) 未熟樹状細胞の浸潤数が多い群では、CTL浸潤が多いほど予後が良いが、未熟樹状細胞の浸潤に乏しい群では、CTL 浸潤数と予後は相関しない。

D. 考察

癌腫ごとに特有の免疫学的な環境が形成されていることが明らかにされた。食道扁平上皮癌で見出されたように、術前の化学療法によって、原発巣に浸潤する免疫担当細胞の構成が異なることも見出された。

興味深いことに抗PD-1 治療が奏功するとされる悪性黒色腫では、局所に浸潤するPD-1陽性リンパ球は他臓器の癌腫よりも少なく、また腫瘍細胞によるPD-L1 の発現も低かった。抗PD-1治療の奏功群と非奏功群の比較や、所属リンパ節の環境を考慮した解析を今後進めることが必要である。

卵巣癌の層別化解析の結果からは、抗腫瘍性の免疫反応は、樹状細胞やHLA class I, 腫瘍抗原を介した、抗原特異的な免疫反応であることが追認された。免疫治療の適応に直結する、重要な基礎情報といえる。

E. 結論

固形癌では臓器別、組織型別に固有の免疫環境が形成されている。CTL による細胞傷害性反応が抗腫瘍免疫反応の中心にあることは確かであるが、免疫治療を前提として、固形癌の免疫環境を組織学的な手法を用いて的確に評価するには、付随・修飾する免疫担当細胞の浸潤や、臓器固有の環境を考慮した細分化された基準が必要となる。

G. 研究発表

該当なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

研究成果の刊行に関する一覧表

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Masaki A, Ishida T , Maeda Y, Suzuki S, Ito A, Takino H, Ogura H, Totani H, Yoshida T, Kinoshita S, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Inagaki A, Komatsu H, Niimi A, Ueda R , Utsunomiya A, Inagaki H, Iida S .	Prognostic Significance of Tryptophan Catabolism in Adult T-cell Leukemia/Lymphoma.	Clin Cancer Res.		Epub ahead of print	2015
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.		672-82	2015
Ifuku H, Kusumoto S, Tanaka Y, Totani H, Ishida T , Okada M, Murakami S, Mizokami M, Ueda R , Iida S .	Fatal reactivation of hepatitis B virus infection in a patient with adult T-cell leukemia-lymphoma receiving the anti-CC chemokine receptor 4 antibody mogamulizumab.	Hepatol Res.		Epub ahead of print	2015
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.	101	398-404	2015
Suzuki T, Kusumoto S, Masaki A, Ishida T , Inagaki H, Iida S , Morif.	CD30-positive primary bone marrow lymphoma mimicking Hodgkin lymphoma.	Int J Hematol.	101	109-11	2015
Eikawa S, Nishida M, Mizukami S, Yamazaki C, Nakayama E and Udono H .	Immune-mediated anti-tumor effect by type 2 diabetes drug, metformin.	Pros Natl Acad Sci USA	112	1809-14	2015

Matsushita H, Hosoi A, Ueha S, Abe J, Fujieda N, Tomura M, Maekawa R, Matsushima K, Ohara O, <u>Kakimi K</u> .	Cytotoxic T lymphocytes block tumor growth both by lytic activity and IFN- γ -dependent cell cycle arrest.	Cancer Immunol Res.	3	26-36	2015
Ueha S, Yokochi S, Ishiwata Y, Ogiwara H, Chand K, Nakajima T, Hachiga K, Shichino S, Terashima Y, Toda E, Shand FH, <u>Kakimi K</u> , Ito S, Matshushima K.	Robust anti-tumor effects of combined anti-CD4 depleting antibody and anti-PD-1/PD-L1 immune checkpoint antibody treatment in mice.	Cancer Immunol Res.	20	Epub ahead of print	2015
Suzuki S, <u>Ishida T</u> , Yoshikawa K, <u>Ueda R</u> .	Progress in clinical use of CCR4 antibody for regulatory T cell suppression.	Inflammation and Immunity in Cancer.		207-27	2015
<u>Ueda R</u> , Suzuki S, Yoshikawa K, <u>Ishida T</u> ;	Clinical application of anti-CCR4 monoclonal antibody. Recent advances in cancer immunotherapy.	Recent advances in cancer immunotherapy		82-7	2014
Kurose K, Ohue Y, Sato E, Yamauchi A, Eikawa S, Isobe M, Nishio Y, Uenaka A, <u>Oka M</u> and <u>Nakayama E</u>	Increase in activated Treg in TIL in lung cancer and in vitro depletion of Treg by ADCC using an anti-human CCR4 mAb (KM2760)	J. Thor. Oncol.	10	74-83	2014
Ohue Y, Kurose K, Mizote Y, Matsumoto H, Nishio Y, Isobe M, Fukuda M, Uenaka A, <u>Oka M</u> and <u>Nakayama E</u> .	Prolongation of overall survival in advanced lung adenocarcinoma patients with the XAGE1 (GAGED2a) antibody.	Clin. Cancer Res	20	5052-63	2014
Ohue Y, <u>Wada H</u> , <u>Oka M</u> and <u>Nakayama E</u>	Antibody response to cancer/testis (CT) antigens: A prognostic marker in cancer patients.	OncoImmunology	3	e970032	2014
Pandey, J, Namboodiri, A, Ohue, Y, <u>Oka, M</u> , <u>Nakayama, E</u> .	Genetic variants of immunoglobulin and chains influence humoral immunity to the cancer-testis antigen XAGE-1b (GAGED2a) in patients with non-small cell lung cancer.	Clin Exp Immunol	176	78-83	2014

Uehara T, Fujiwara T, Takeda K, Kunisada T, Ozaki T, <u>Udono H</u>	Immunotherapy for Bone and Soft Tissue Sarcomas.	BioMed Research International		Article ID 820813	2014
Ichiyanagi T, Ichiyanagi K, Ogawa A, Kuramochi-Miyagawa S, Nakano T, Chuma S, Sasaki H, <u>Udono H</u>	HSP90 plays an important role in piRNA biogenesis and retrotransposon repression in mouse.	Nucleic Acids Res.	42	11903-11	2014
Eikawa S, <u>Udono H</u>	Monitoring multifunctionality of immune-exhausted CD8 T cells in cancer bearing patients.	Methods in Mol Biol.	1142	11-7	2014
<u>Wada H</u> , Isobe M, <u>Kakimi K</u> , Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, <u>Udono H</u> , Seto Y, Yamada K, <u>Nishikawa H</u> , Pan L, Venhaus R, <u>Doki Y</u> , <u>Oka M</u> , <u>Nakayama E</u>	Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and Montanide ISA-51 in patients with cancers expressing NY-ESO-1 antigen.	J. of Immunotherapy.	37	84-92	2014
Maeda Y, <u>Nishikawa H</u> , Sugiyama D, Hamaguchi M, Saito T, Nishioka M, Wing JB, Adeegbe D, Katayama I and Shakaguchi S.	Regulatory T cells drive autoimmune T cells into a distinct T-cell subpopulation functionally anergic and expressing CTLA-4.	Science.	346	1536-40	2014
Matsumoto M, Baba A, Yokota T, <u>Nishikawa H</u> , Ohkawa Y, Kayama H, Kallies A, Nutt SL, Sakaguchi S, Takeda K, Kurosaki T and Baba Y.	Interleukin-10-Producing Plasmablasts Exert Regulatory Function in Autoimmune Inflammation.	Immunity	41	1040-51	2014
<u>Nishikawa H</u> , Sakaguchi S	Regulatory T cells in cancer immunotherapy	Curr Opin Immunol.	27	1-7	2014

Ito Y, Hashimoto M, Hirota K, Ohkura N, Morikawa H, <u>Nishikawa H</u> , Tanaka A, Furu M, Ito H, Fujii T, Nomura T, Yamazaki S, Morita A, Vignali DAA, Kappler JW, Matsuda S, Mimori T, Sakaguchi N and Sakaguchi S.	Detection of T-cell responses to a ubiquitous cellular protein in autoimmune disease.	Science.	346	363-8	2014
Saito T, Wada H, Yamasaki M, Miyata H, <u>Nishikawa H</u> , Sato E, Kageyama S, Shiku H, Mori M, <u>Doki Y</u> .	High expression of MAGE-A4 and MHC class I antigens in tumor cells and induction of MAGE-A4 immune responses are prognostic markers of CHP-MAGE-A4 cancer vaccine	Vaccine	32	5901-7	2014
Mizote Y, Uenaka A, Isono M, <u>Wada H</u> , <u>Kakimi K</u> , Saika T, Kita S, Koide Y, <u>Oka M</u> , <u>Nakayama E</u>	Production of NY-ESO-1 peptide/DRB1*08:03 tetramers and ex vivo detection of CD4 T-cell responses in vaccinated cancer patients.	Vaccine	32	957-64	2014
Ichimura T, Morikawa T, Kawai T, Nakagawa T, Matsushita H, <u>Kakimi K</u> , Kume H, Ishikawa S, Homma Y, Fukayama M.	Prognostic Significance of CD204-Positive Macrophages in Upper Urinary Tract Cancer	Ann Surg Oncol.	21	2105-12	2014
Wada I, Matsushita H, Noji S, Mori K, Yamasaki H, Nomura S, Shimizu N, Seto Y, <u>Kakimi K</u> .	Intraperitoneal injection of in vitro expanded V γ 9V δ 2 T cells together with zoledronate for the treatment of malignant ascites due to gastric cancer.	Cancer Med.	3	362-75	2014
Hosoi A, Matsushita H, Shimizu K, Fujii S, Ueha S, Abe J, Kurachi M, Maekawa R, Matsushima K, <u>Kakimi K</u> .	Adoptive cytotoxic T lymphocyte therapy triggers a counter-regulatory immunosuppressive mechanism via recruitment of myeloid-derived suppressor cells.	Int J Cancer.	134	1810-22.	2014
Yamada D, Matsushita H, Azuma T, Nakagawa T, Nagata M, Yamada Y, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Kume H, Homma Y, <u>Kakimi K</u> .	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor as a predictor of the response of metastatic renal cell carcinoma to tyrosine kinase inhibitor therapy.	Mol Clin Oncol.	2	1023-27	2014

Matsushita H, Enomoto H, Kume H, Nakagawa T, Fukuhara H, Suzuki M, Fujimura T, Homma Y and <u>Kakimi K.</u>	A pilot study of autologous tumor lysate-loaded dendritic cell vaccination combined with sunitinib for metastatic renal cell carcinoma.	J Immunother Cancer.	2	30	2014
Futami J, Fujiyama H, Kinoshita R, Nonomura H, Honjo T, Tada H, Matsushita H, Abe Y, <u>Kakimi K.</u>	Denatured mammalian proteins in mixtures exhibit unusually high solubility in nucleic acid-free pure water.	PLoS One.	9	e113295	2014
Kobayashi T, <u>Kakimi K.</u> , <u>Nakayama E.</u> , Jimbow K.	Antitumor immunity by magnetic nanoparticle-mediated hyperthermia.	Nanomedicine (Lond)	9	1715-26	2014
Ogura M, <u>Ishida T.</u> , 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, <u>Ueda R.</u>	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.	32	1157-63	2014
Narita T, <u>Ishida T.</u> , Masaki A, Suzuki S, Ito A, Mori F, Yamada T, Masaki R, Kusumoto S, Komatsu H, Miyazaki Y, Takatsuka Y, Utsunomiya A, Niimi A, <u>Iida S.</u> , <u>Ueda R.</u>	HTLV-1 bZIP factor specific CD4 T cell responses in ATL patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.	J Immunol.	192	940-7	2014
Mizote Y, Wakamatsu K, Ito S, Uenaka A, Ohue Y, Kurose K, Isobe M, Ito A, Tamura Y, Honda H, Yamashita T, Nohara S, <u>Oka M.</u> , Jimbow K, and <u>Nakayama E.</u>	TLR4 and NLRP3 inflammasome activation in monocytes by N-propionyl cysteamine-phenol-maleimide-dextran (NPCMD).	J Dermatol Sci,	73	209-15	2014
Mizote Y, Uenaka A, Isobe M, Wada H, <u>Kakimi K.</u> , Saika T, Kita S, Koide Y, <u>Oka M.</u> , and <u>Nakayama E.</u>	Production of NY-ESO-1 peptide/DRB1*08:03 tetramers and ex vivo detection of CD4 T-cell responses in vaccinated cancer patients.	Vaccine	32	957-64	2014

Wada H, Isobe M, Kakimi K , Mizote Y, Eikawa S, Sato E, Takigawa N, Kiura K, Tsuji K, Iwatsuki K, Yamasaki M, Miyata H, Matsushita H, Udono H , Seto Y, Yamada K, Nishikawa H , Pan L, Venhaus R, Oka M , Doki Y , Nakayama E .	Vaccination with NY-ESO-1 overlapping peptides mixed with Picibanil OK-432 and montanide ISA-51 in patients with cancers expressing the NY-ESO-1 antigen.	J Immunother	37	84-92	2014
Nakano N, Kusumoto S, Tanaka Y, Ishida T , Takeda S, Takatsuka Y, Akinaga S, Mizokami M, Ueda R , Utsunomiya A.	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.	44	354-7	2014
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.	92	219-28	2014
Zwick C, Held G, Auth M, Bernal-Mizrachi L, Roback JD, Sunay S, Iida S , Kuroda Y, Sakai A, Ziepert M, Ueda R , Pfreundschuh M, Preuss K-D.	Over one third of African-American MGUS and multiple myeloma patients are carriers of hyperphosphorylated paratarg-7, an autosomal-dominantly inherited risk factor for MGUS/MM.	Int J Cancer		Epub ahead of print.	2014
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.	Human Pathol	45	1192-8	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
河上 裕、 上田龍三	新たな時代を迎えたがん免疫療法	Immuno-Oncology Frontier,	1	1	2015
西川博喜 、坂口志文	ヒト制御性T細胞の解析	医学のあゆみ	252	69-74	2015

黒瀬浩史, <u>岡 三喜男</u> , <u>中山書一</u>	抗CCR4抗体の制御性T細胞への影響と臨床応用の可能性	最新医学	70	393-8	2015
<u>西川博嘉</u>	Visual View がん免疫療法のメカニズム	Immuno-Oncology Frontier	1	10-3	2015
<u>和田 尚</u>	抗PD-1抗体の泌尿器科疾患, 消化器疾患への応用	最新医学	70	421-7	2015
鈴木 進, <u>石田 高司</u> , 吉川 和宏, <u>上田 龍三</u> :	モガムリズマブ	The Frontiers in Life Sciences. 生命科学から創薬へのイノベーション		183-95	2014
<u>上田龍三</u>	第6回モガムリズマブサミライたちのクスリ(PAR T II)	Medical AS AHI	12	78-81	2014
黒瀬浩史, <u>岡 三喜男</u> , <u>中山書一</u>	基礎: 抗CCR4抗体の制御性T細胞への影響と臨床応用の可能性	最新医学	70	393-8	2014
<u>岡 三喜男</u> , 大植祥弘, 黒瀬浩史, <u>中山書一</u>	特集: これから期待される肺癌診断と治療: 抗体免疫療法	呼吸器内科	26	431-7	2014
<u>岡 三喜男</u> , 大植祥弘, 黒瀬浩史, <u>中山書一</u>	がん精巢抗原に対する免疫応答とその臨床的意義	BIO Clinica	30	31-5	2014
杉山大介, <u>西川博嘉</u>	制御性T細胞および免疫チェックポイント分子の解除による抗腫瘍免疫応答増強の可能性	がん分子標的治療	12	84-8	2014
<u>西川博嘉</u>	制御性T細胞とがん免疫療法	臨床血液	55	475-81	2014
榮川伸吾, <u>鶴殿平一郎</u>	T細胞の免疫疲弊と免疫チェックポイント分子	最新医学	70	62-68	2014