

厚生労働科学研究委託費
がん対策推進総合研究事業

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

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 池田 裕明

平成27(2015)年 3月

本報告書は、厚生労働省の厚生労働科学研究委託費がん対策推進総合研究事業による委託業務として、国立大学法人三重大学が実施した平成26年度「同種移植後再発の成人T細胞白血病リンパ腫に対する次世代型レトロウイルスベクターによるT細胞レセプター伝子導入ドナーリンパ球輸注療法」の成果を取りまとめたものです。

目 次

I . 委託業務成果報告（総括）	
同種移植後再発の成人T細胞白血病リンパ腫に対する次世代型レトロウイルスベクターによるT細胞レセプター遺伝子導入ドナーリンパ球輸注療法	----- 1
池田 裕明	
II . 委託業務成果報告（業務項目）	
1 . 薬理薬効、毒性、安全性に関する非臨床試験	----- 7
池田 裕明、俵 功	
2 . 治験プロトコルの作製	----- 11
池田 裕明、珠玖 洋	
3 . 薬事戦略相談、治験準備	----- 15
池田 裕明	
III . 学会等発表実績	----- 19
IV . 研究成果の刊行物・別刷	----- 21

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

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

業務主任者 池田 裕明 三重大学 大学院医学系研究科 教授

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

1. 薬理薬効、毒性、安全性に関する非臨床試験

池田 裕明

三重大学 大学院医学系研究科 教授

俵 功

三重大学医学部附属病院 助教

2. 治験プロトコルの作製

池田 裕明

三重大学 大学院医学系研究科 教授

珠玖 洋

三重大学 大学院医学系研究科 教授

3. 薬事戦略相談、治験準備

池田 裕明

三重大学 大学院医学系研究科 教授

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

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

A. 研究目的

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

B. 研究方法

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

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

(倫理面への配慮)

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

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

実験動物を用いたT細胞輸注療法、遺

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

C. 研究結果

「TCR 遺伝子導入T細胞の薬理活性と安全性に関する非臨床試験」 -1. NY-ES0-1 陽性腫瘍細胞に対する *in vitro* の細胞傷害性試験を実施した。TCR 遺伝子を導入したヒトT細胞は NY-ES0-1 抗原と HLA-A*24:02 を発現する腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することを確認した。 -2. 免疫不全マウスを用いた、TCR 遺伝子改変ヒトT細胞によるドナーリンパ球輸注療法の評価系を作製した。本評価系を用いて、ドナーリンパ球中の CD4、CD8 陽性両 T 細胞サブセットが GVHD と抗腫瘍効果に果たす役割を検討した。その結果、GVHD 発症には CD4、CD8 陽性両 T 細胞が関わるが、siTCR ベクターを用いて TCR 遺伝子改変することで CD4、CD8 陽性 T 細胞は共に GVHD を起こさなくなることが示された。一方、抗腫瘍効果は主に TCR 改変された CD8 陽性 T 細胞が担うことが示された。また、本評価系における GVHD 病態の解析を行い、GVHD により顕著な骨髄破壊が起こるが、siTCR ベクターを用いて TCR 遺伝子改変することで骨髄破壊を起こさなくなることが示された。 -3. 近交系マウスを用いた、白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法の *in vivo* 評価系の作製を行った。 -4. TCR の認識する抗原ペプチドについ

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

D. 考察

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

E. 結論

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

F. 健康危険情報

該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

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

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

product. 第20回日本遺伝子治療学会
学術集会 東京 2014.

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

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

H. 知的所有権の出願・取得状況

該当無し

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

A. 研究目的

成人T細胞白血病リンパ腫（ATLL）に対し同種造血幹細胞移植は有効だが3年非再発生存は30%前後である。再発例にドナーリンパ球輸注療法が試みられるが、深刻な合併症としてのGVHD克服と有効性の向上が課題である。

本研究では同種造血幹細胞移植後の再発ATLLの治療として、ATLLに高発現するNY-ESO-1抗原特異的なT細胞レセプター（TCR）遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法の医師主導治験実施を目指し実用化研究を行う。独自開発の内因性TCR発現を抑制するレトウイルスベクターを用いてTCR遺伝子導入し、腫瘍特異的反応性(GVL)を強めGVHDを低減し、有効かつ安全性の高いドナーリンパ球輸注療法を開発する。本業務項目ではin vitroにおける薬理薬効試験、毒性試験とin vivo評価系の樹立を行い、治験申請に必要とされる、薬理薬効、毒性、安全性に関する非臨床試験を実施する。

B. 研究方法

In vitroにおけるヒトATLL細胞への特異的反応性、正常細胞への低反応性を確認する。免疫不全マウスを用いATLLの造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法のin vivo評価系樹立する。近交系マウスを用い白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法のin vivo評価系樹立する。これらのin vivo評価系を用いて薬効薬理、薬物動態、安全性薬理、毒性データ獲得する。

（倫理面への配慮）

本研究に用いるヒト末梢血等の検体の採集、解析はヘルシンキ宣言にのっとり行なわれ、全て三重大学医学部研究倫理委員会にて承認されたプロトコールに従い、被験者本人の書面による同意書を得て実施される。採取した検体は本人特定不可能な暗号化がなされ盗難防止処置を施した冷蔵庫、液体窒素タンクに保存する。被験者個人情報に関

しては匿名化され、個人のプライバシー、遺伝子解析の結果が外部に漏洩されないよう厳重な注意、処置が施行される。

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

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

C. 研究結果

1. NY-ESO-1 陽性腫瘍細胞に対する *in vitro* の細胞傷害性試験を実施した。TCR 遺伝子を導入したヒト T 細胞は NY-ESO-1 抗原と HLA-A*24:02 を発現する腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することを確認した。2. 免疫不全マウスを用いた、TCR 遺伝子改変ヒト T 細胞によるドナーリンパ球輸注療法の評価系を作製した。本評価系を用いて、ドナーリンパ球中の CD4、CD8 陽性両 T 細胞サブセットが GVHD と抗腫瘍効果に果たす役割を検討した。その結果、GVHD 発症には CD4、CD8 陽性両 T 細胞が関わるが、siTCR ベクターを用いて TCR 遺伝子改変することで CD4、CD8 陽性 T 細胞は共に GVHD を起こさなくなることが示された。一方、抗腫瘍効果は主に TCR 改変された CD8 陽性

T 細胞が担うことが示された。また、本評価系における GVHD 病態の解析を行い、GVHD により顕著な骨髄破壊が起こるが、siTCR ベクターを用いて TCR 遺伝子改変することで骨髄破壊を起こさなくなることが示された。3. 近交系マウスを用いた、白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法の *in vivo* 評価系の作製を行った。4. TCR の認識する抗原ペプチドについてアラニン置換による交差反応性を検討し、正常タンパク質由来のペプチドに対する予期せぬ交差反応性の可能性が極めて低い事を確認した。

D. 考察

TCR 遺伝子導入 T 細胞の薬理活性と安全性に関する非臨床試験を行い、TCR 遺伝子を導入したヒト T 細胞は NY-ESO-1 抗原と HLA-A*24:02 を発現する腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することを確認した。また、免疫不全マウスに TCR 遺伝子導入ヒト T 細胞を輸注する *in vivo* 評価系を樹立した。また、用いる TCR が正常タンパク質由来のペプチドに対する予期せぬ交差反応性の可能性が極めて低い事が確認できた。

E. 結論

平成 26 年度は TCR 遺伝子を導入したヒト T 細胞は NY-ESO-1 抗原と HLA-A*24:02 を発現する腫瘍細胞を抗原特異的に傷害することを確認した。また、免疫不全マウスに TCR 遺伝子導入ヒト T 細胞を輸注する *in vivo* 評価系を樹立した。また、用いる TCR が正常タンパク質由来のペプチドに対する予期せぬ交差反応性の可能性が極めて

低い事が確認され、治験開始に向けて順調に準備が進んだ。平成27年度にさらに近交系マウスの評価系を用いた検討を含む追加非臨床試験の実施し、平成28年度の治験開始を目指す。

F. 健康危険情報
該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sung Won Choi, Erin Gatza, Guoqing Hou, Yaping Sun, Joel Whitfield, Yeohan Song, Katherine Oravec-Wilson, Isao Tawara, Charles A. Dinarello, Pavan Reddy. Histone deacetylase inhibition regulates inflammation and enhances Tregs after allogeneic hematopoietic cell transplantation in humans. *Blood* 125(5), 815-819, 2015.
- 2) Kenichiro Nishikawa, Naohiro Seo, Mie Torii, Nei Ma, Daisuke Muraoka, Isao Tawara, Masahiro Masuya, Kyosuke Tanaka, Yoshiyuki Takei, Hiroshi Shiku, Naoyuki Katayama, Takuma Kato. Interleukin-17 Induces an Atypical M2-Like Macrophage Subpopulation That Regulates Intestinal Inflammation. *PLoS One*, 9(9) e108494, 2014.
- 3) Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, Imai N, Ishihara M, Saito K, Sugino S, Ueda S, Ishikawa T, Kokura S, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T,

Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T, Yoshioka H, Tomura D, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Katayama N, Shiku H. Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2015 in press.

- 4) Ishihara M, Seo N, Mitsui J, Muraoka D, Tanaka M, Mineno J, Ikeda H, Shiku H. Systemic CD8+ T Cell-Mediated Tumorcidal Effects by Intratumoral Treatment of Oncolytic Herpes Simplex Virus with the Agonistic Monoclonal Antibody for Murine Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor. *PLoS One*, 9(8):e104669. 2014.
- 5) Asai H, Fujiwara H, Kitazawa S, Kobayashi N, Ochi T, Miyazaki Y, Ochi F, Akatsuka Y, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Ikeda H, Shiku H, Yasukawa M. Adoptive transfer of genetically engineered WT1-specific cytotoxic T lymphocytes does not induce renal injury. *J Hematol Oncol.* 7:3, 2014.
- 6) O'Sullivan T, Saddawi-Konefka R, Gross E, Tran M, Mayfield SP, Ikeda H, Bui JD. Interleukin-17D mediates tumor rejection through recruitment of natural killer cells. *Cell Rep.*, 7(4):989-998, 2014.
- 7) Hosoi H, Ikeda H, Imai N, Amaike C, Wang L, Orito Y, Yamane M, Ueno H,

Ideno M, Nukaya I, Enoki T, Mineno J, Takesako K, Hirano S, Shiku H. Stimulation through very late antigen-4 and -5 improves the multifunctionality and memory formation of CD8⁺ T cells. Eur J. Immunol., 44:1727-1758, 2014.

2.学会発表

- 1) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Isao Tawara, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Naoyuki Katayama, Hiroshi Shiku. Tumor-specific TCR-engineered donor lymphocyte infusion therapy with reduced GVHD induction utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. American Society of Hematology 56th annual meeting, SF, USA, 2014.
- 2) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Tumor-specific donor Lymphocyte infusion therapy with allogeneic T cells utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. Society for immunotherapy of Cancer 29th Annual Meeting. National Harbor, MD, USA, 2014.
- 3) 池田裕明 TCR遺伝子改変T細胞輸注による新しいがん免疫療法の臨床開発 2014第63回日本輸血・細胞治療学会東海支部例会 名古屋 2014.

- 4) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. TCR gene therapy with allogeneic T cells. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.
- 5) Yasushi Akahori, Motohiro Yoneyama, Hiroaki Ikeda, Yuki Orito, Yoshihiro Miyahara, Yasunori Amaishi, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Development of chimeric antigen receptor immunotherapy targeting intracellular WT1 gene product. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.
- 6) Hiroaki Ueno, Hiroaki Ikeda, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Development of TCR gene therapy with allogeneic T cells. 第18回日本がん免疫学会総会 松山 2014.
- 7) 赤堀泰 米山元裕 池田裕明 宮原慶裕 織戸由貴 天石泰典 岡本幸子 峰野純一 竹迫一任 珠玖洋 WT1ペプチド-HLA-A24複合体を認識するヒト抗体の単離とそれを用いたCAR治療法の開発 第18回日本がん免疫学会総会 松山 2014.

H.知的所有権の出願・取得状況

- 1.特許取得
該当無し

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

治験プロトコルの作製

業務主任者 珠玖 洋 三重大学 大学院医学系研究科 教授

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

A. 研究目的

成人T細胞白血病リンパ腫（ATLL）に対し同種造血幹細胞移植は有効だが3年非再発生存は30%前後である。再発例にドナーリンパ球輸注療法が試みられるが、深刻な合併症としてのGVHD克服と有効性の向上が課題である。

本研究では同種造血幹細胞移植後の再発ATLLの治療として、ATLLに高発現するNY-ESO-1抗原特異的なT細胞レセプター（TCR）遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法の医師主導治験実施を目指し実用化研究を行う。独自開発の内因性TCR発現を抑制するレトウイルスベクターを用いてTCR遺伝子導入し、腫瘍特異的反応性(GVL)を強めGVHDを低減し、有効かつ安全性の高いドナーリンパ球輸注療法を開発する。本業務項目ではin vivo評価系における検討から得られるデータを基に、治験プロトコルを検討し、治験申請に必要とされるプロトコル作成を行う。また、プロジェクトの総合推進を合わせて行う。

B. 研究方法

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

（倫理面への配慮）

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

遺伝子解析の結果が外部に漏洩されないよう厳重な注意、処置が施行される。

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

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

C. 研究結果

免疫不全マウスを用いたTCR遺伝子改変ヒトT細胞によるドナーリンパ球輸注療法の評価系を作製した。本評価系において、本研究で用いるTCR遺伝子改変T細胞は 2×10^7 個/マウスの輸注を行ってもGVHDを起こさず、また、NY-ESO-1陽性HLA-A0201陽性腫瘍細胞の完全退縮を誘導することが示された。近交系マウスを用いた、白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法のin vivo評価系の作製を行った。また、いくつかのATLL患者の治療を積極的に行う施設と今後の臨床試験について協議を行った。

D. 考察

免疫不全マウスを用いたTCR遺伝子改変ヒトT細胞によるドナーリンパ球輸注療法の

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

E. 結論

樹立された免疫不全マウスを用いたTCR遺伝子改変ヒトT細胞によるドナーリンパ球輸注療法の評価系は治験プロトコル検討に役立つことが示唆された。平成27年度に樹立を目指す近交系マウスを用いた、白血病の造血幹細胞移植後ドナーリンパ球輸注療法のin vivo評価系において、さらに詳細な検討が可能になると考えられる。今後、臨床試験実施施設と治験プロトコル詳細な協議が可能になると考えられる。

F. 健康危険情報 該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kenichiro Nishikawa, Naohiro Seo, Mie Torii, Nei Ma, Daisuke Muraoka, Isao Tawara, Masahiro Masuya, Kyosuke Tanaka, Yoshiyuki Takei, Hiroshi Shiku, Naoyuki Katayama, Takuma Kato. Interleukin-17 Induces an Atypical M2-Like Macrophage Subpopulation That Regulates Intestinal Inflammation. PLOS One, 9(9) e108494, 2014.
- 2) Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, Imai N, Ishihara M, Saito K, Sugino S, Ueda S, Ishikawa T, Kokura S, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T, Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T,

- Yoshioka H, Tomura D, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Katayama N, Shiku H. Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer. Clin. Cancer Res., 2015 in press.
- 3) Ishihara M, Seo N, Mitsui J, Muraoka D, Tanaka M, Mineno J, Ikeda H, Shiku H. Systemic CD8+ T Cell-Mediated Tumorcidal Effects by Intratumoral Treatment of Oncolytic Herpes Simplex Virus with the Agonistic Monoclonal Antibody for Murine Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor. PLoS One, 9(8):e104669. 2014.
- 4) Asai H, Fujiwara H, Kitazawa S, Kobayashi N, Ochi T, Miyazaki Y, Ochi F, Akatsuka Y, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Ikeda H, Shiku H, Yasukawa M. Adoptive transfer of genetically engineered WT1-specific cytotoxic T lymphocytes does not induce renal injury. J Hematol Oncol. 7:3, 2014.
- 5) O'Sullivan T, Saddawi-Konefka R, Gross E, Tran M, Mayfield SP, Ikeda H, Bui JD. Interleukin-17D mediates tumor rejection through recruitment of natural killer cells. Cell Rep., 7(4):989-998, 2014.
- 6) Hosoi H, Ikeda H, Imai N, Amaike C, Wang L, Orito Y, Yamane M, Ueno H, Ideno M, Nukaya I, Enoki T, Mineno J, Takesako K, Hirano S, Shiku H. Stimulation through very late antigen-4 and -5 improves the multifunctionality and memory formation of CD8⁺ T cells. Eur J. Immunol., 44:1727-1758, 2014.
- 2.学会発表
- 1) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Isao Tawara, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Naoyuki Katayama², Hiroshi Shiku. Tumor-specific TCR-engineered donor lymphocyte infusion therapy with reduced GVHD induction utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. American Society of Hematology 56th annual meeting, SF, USA, 2014.
- 2) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Tumor-specific donor Lymphocyte infusion therapy with allogeneic T cells utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. Society for immunotherapy of Cancer 29th Annual Meeting. National Harbor, MD, USA, 2014.
- 3) 池田裕明 TCR遺伝子改変T細胞輸注による新しいがん免疫療法の臨床開発 2014第63回日本輸血・細胞治療学会 東海支部例会 名古屋 2014.

4) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. TCR gene therapy with allogeneic T cells. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.

5) Yasushi Akahori, Motohiro Yoneyama, Hiroaki Ikeda, Yuki Orito, Yoshihiro Miyahara, Yasunori Amaishi, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Development of chimeric antigen receptor immunotherapy targeting intracellular WT1 gene product. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.

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

7) 赤堀泰 米山元裕 池田裕明 宮原慶裕 織戸由貴 天石泰典 岡本幸子 峰野純一 竹迫一任 珠玖洋 WT1ペプチ

ド-HLA-A24複合体を認識するヒト抗体の単離とそれを用いたCAR治療法の開発 第18回日本がん免疫学会総会 松山 2014.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

該当無し

2. 実用新案登録

該当無し

3. その他

該当無し

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

A. 研究目的

成人T細胞白血病リンパ腫（ATLL）に対し同種造血幹細胞移植は有効だが3年非再発生存は30%前後である。再発例にドナーリンパ球輸注療法が試みられるが、深刻な合併症としてのGVHD克服と有効性の向上が課題である。

本研究では同種造血幹細胞移植後の再発ATLLの治療として、ATLLに高発現するNY-ESO-1抗原特異的なT細胞レセプター（TCR）遺伝子を導入したドナーリンパ球輸注療法の医師主導治験実施を目指し実用化研究を行う。独自開発の内因性TCR発現を抑制するレトウイルスベクターを用いてTCR遺伝子導入し、腫瘍特異的反応性(GVL)を強めGVHDを低減し、有効かつ安全性の高いドナーリンパ球輸注療法を開発する。本業務項目では品質データ(治験薬提供者作成)と合わせ、薬事戦略相談、治験準備を実施する。具体的には、同種リンパ球を用いた治験製品概要書の作製、治験プロトコルの検討、治験実施施設の選定、参加施設

の組織化と実施体制ネットワーク作成、規制当局との相談、を行う。

B. 研究方法

本研究で実施する薬理薬効、毒性、安全性に関する非臨床試験と、治験薬提供者が作成する品質データとを合わせ、薬事戦略相談、治験準備を実施する。具体的には、同種リンパ球を用いた治験製品概要書の作製、治験プロトコルの検討、治験実施施設の選定、参加施設の組織化と実施体制ネットワーク作成、規制当局との相談、を行う。（倫理面への配慮）

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

遺伝子解析の結果が外部に漏洩されないよう厳重な注意、処置が施行される。

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

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

C. 研究結果

1. NY-ESO-1 特異的 TCR 遺伝子導入ヒトリンパ球に関して、自家細胞を用いた治験製品概要書(2014年12月2日第1版完成)を作製した。2. NY-ESO-1-TCR 遺伝子導入自家Tリンパ球を用いた場合の輸注療法プロトコルについて、9月30日にPMDAと薬事戦略相談の事前面談を行った。

D. 考察

自家細胞を用いた治験製品概要書を作成し、自家細胞を持ちいた場合の輸注療法プロトコルについて薬事戦略相談の事前面談を行った。今後は非自己細胞を用いた場合についてPMDAと相談していく予定である。

E. 結論

平成26年度は自家細胞を用いた治験製

品概要書を作成し、自家細胞を持ちいた場合の輸注療法プロトコルについて薬事戦略相談の事前面談を行った。平成27年度には非自己細胞を用いた場合についてPMDAと相談していく予定であり、平成28年度の治験開始を目指す。

F. 健康危険情報 該当無し。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, Imai N, Ishihara M, Saito K, Sugino S, Ueda S, Ishikawa T, Kokura S, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T, Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T, Yoshioka H, Tomura D, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Katayama N, Shiku H. Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene-transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer. Clin. Cancer Res., 2015 in press.
- 2) Ishihara M, Seo N, Mitsui J, Muraoka D, Tanaka M, Mineno J, Ikeda H, Shiku H. Systemic CD8+ T Cell-Mediated Tumorcidal Effects by Intratumoral Treatment of Oncolytic Herpes Simplex Virus with the Agonistic Monoclonal Antibody for Murine Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor. PLoS One, 9(8):e104669. 2014.

- 3) Asai H, Fujiwara H, Kitazawa S, Kobayashi N, Ochi T, Miyazaki Y, Ochi F, Akatsuka Y, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Ikeda H, Shiku H, Yasukawa M. Adoptive transfer of genetically engineered WT1-specific cytotoxic T lymphocytes does not induce renal injury. *J Hematol Oncol.* 7:3, 2014.
- 4) O'Sullivan T, Saddawi-Konefka R, Gross E, Tran M, Mayfield SP, Ikeda H, Bui JD. Interleukin-17D mediates tumor rejection through recruitment of natural killer cells. *Cell Rep.*, 7(4):989-998, 2014.
- 5) Hosoi H, Ikeda H, Imai N, Amaike C, Wang L, Orito Y, Yamane M, Ueno H, Ideno M, Nukaya I, Enoki T, Mineno J, Takesako K, Hirano S, Shiku H. Stimulation through very late antigen-4 and -5 improves the multifunctionality and memory formation of CD8⁺ T cells. *Eur J. Immunol.*, 44:1727-1758, 2014.
2. 学会発表
- 1) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Isao Tawara, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Naoyuki Katayama², Hiroshi Shiku. Tumor-specific TCR-engineered donor lymphocyte infusion therapy with reduced GVHD induction utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. American Society of Hematology 56th annual meeting, SF, USA, 2014.
- 2) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Tumor-specific donor Lymphocyte infusion therapy with allogeneic T cells utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression. Society for immunotherapy of Cancer 29th Annual Meeting. National Harbor, MD, USA, 2014.
- 3) 池田裕明 TCR遺伝子改変T細胞輸注による新しいがん免疫療法の臨床開発 2014第63回日本輸血・細胞治療学会東海支部例会 名古屋 2014.
- 4) Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. TCR gene therapy with allogeneic T cells. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.
- 5) Yasushi Akahori, Motohiro Yoneyama, Hiroaki Ikeda, Yuki Orito, Yoshihiro Miyahara, Yasunori Amaishi, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Development of chimeric antigen receptor immunotherapy targeting intracellular WT1 gene product. 第20回日本遺伝子治療学会学術集会 東京 2014.

- 6) Hiroaki Uneno, Hiroaki Ikeda, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku. Development of TCR gene therapy with allogeneic T cells. 第18回日本がん免疫学会総会 松山 2014.
- 7) 赤堀泰 米山元裕 池田裕明 宮原慶裕 織戸由貴 天石泰典 岡本幸子 峰野純一 竹迫一任 珠玖洋 WT1ペプチド-HLA-A24複合体を認識するヒト抗体の単離とそれを用いたCAR治療法の開発 第18回日本がん免疫学会総会 松山 2014.

H. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
該当無し
2. 実用新案登録
該当無し
3. その他
該当無し

学会等発表実績

委託業務題目「同種移植後再発の成人T細胞白血病リンパ腫に対する次世代型レトロウイルスベクターによるT細胞L
機関名 国立大学法人 三重大学

1. 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果（発表題目、口頭・ポスター発表の別）	発表者氏名	発表した場所（学会等名）	発表した時期	国内・外の別
Tumor-specific TCR-engineered donor lymphocyte infusion therapy with reduced GVHD induction utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression.	Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Isao Tawara, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Naoyuki Katayama, Hiroshi Shiku.	American Society of Hematology 56th annual meeting	December, 2014	国外
Tumor-specific donor Lymphocyte infusion therapy with allogeneic T cells utilizing novel retrovirus vector silencing endogenous TCR expression.	Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku.	Society for immunotherapy of Cancer 29th Annual Meeting	November, 2014	国外
TCR遺伝子改変T細胞輸注による新しいがん免疫療法の臨床開発	池田裕明	第63回日本輸血・細胞治療学会東海支部例会	2014年9月	国内
TCR gene therapy with allogeneic T cells.	Hiroaki Ikeda, Hiroaki Ueno, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku.	第20回日本遺伝子治療学会学術集会	2014年8月	国内
Development of chimeric antigen receptor targeting intracellular WT1 gene product.	Yasushi Akahori, Motohiro Yoneyama, Hiroaki Ikeda, Yuki Orito, Yoshihiro Miyahara, Yasunori Amaishi, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku.	第20回日本遺伝子治療学会学術集会	2014年8月	国内
Development of TCR gene therapy with allogeneic T cells.	Hiroaki Ueno, Hiroaki Ikeda, Ayumi Kawamura, Makiko Yamane, Naoko Imai, Sachiko Okamoto, Junichi Mineno, Kazutoh Takesako, Hiroshi Shiku.	第18回日本がん免疫学会総会	2014年7月	国内
WT1ペプチド-HLA-A24複合体を認識するヒト抗体の単離とそれを用いたCAR治療法の開発	赤堀泰 米山元裕 池田裕明 宮原慶裕 織岡 戸由貴 天石泰典 岡本幸子 峰野純一 迫一任 珠玖洋	第18回日本がん免疫学会総会	2014年7月	国内

2. 学会誌・雑誌等における論文掲載				
掲載した論文（発表題目）	発表者氏名	発表した場所 (学会誌・雑誌等名)	発表した時期	国内・外の別
Adoptive transfer of MAGE-A4 T-cell receptor gene -transduced lymphocytes in patients with recurrent esophageal cancer.	Kageyama S, Ikeda H, Miyahara Y, Imai N, Ishihara M, Saito K, Sugino S, Ueda S, Ishikawa T, Kokura S, Naota H, Ohishi K, Shiraishi T, Inoue N, Tanabe M, Kidokoro T, Yoshioka H, Tomura D, Nukaya I, Mineno J.	Clin. Cancer Res., in press	2015	国外
Histone deacetylase inhibition regulates inflammation and enhances Tregs after allogeneic hematopoietic cell transplantation in humans.	Sung Won Choi, Erin Gatza, Guoqing Hou, Yaping Sun, Joel Whitfield, Yeohan Song, Katherine Oravec-Wilson, Isao Tawara, Charles A. Dinarello, Pavan Reddy.	Blood, 125(5), 815-819	2015	国外
Interleukin-17 Induces an Atypical M2-Like Macrophage Subpopulation That Regulates Intestinal Inflammation.	Kenichiro Nishikawa, Naohiro Seo, Mie Torii, Nei Ma, Daisuke Muraoka, Isao Tawara, Masahiro Masuya, Kyosuke Tanaka, Yoshiyuki Takei, Hiroshi Shiku, Naoyuki Katayama, Takuma Kato.	PLoS One, 9(9) e108494	2014	国外
Systemic CD8+ T Cell-Mediated Tumoricidal Effects of Oncolytic Herpes Simplex Virus with the Agonistic Monoclonal Antibody for Murine Glucocorticoid-Induced Tumor Necrosis Factor Receptor.	Ishihara M, Seo N, Mitsui J, Muraoka D, Tanaka M, Mineno J, Ikeda H, Shiku H.	PLoS One, 9(8) e104669	2014	国外
Stimulation through very late antigen-4 and -5 mediates tumor rejection through	Hosoi H, Ikeda H, Imai N, Amaike C, U Sullivan I, Saddawi-Konefka R	Eur J. Immunol., 44:1727-1758 Cell Rep., 7(4):989-998	2014	国外
Adoptive transfer of genetically engineered WT1-specific cytotoxic T lymphocytes does not induce renal injury.	Asai H, Fujiwara H, Kitazawa S, Kobayashi N, Ochi T, Miyazaki Y, Ochi F, Akatsuka Y, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Ikeda H, Shiku H, Yasukawa M.	J Hematol Oncol. 7:3	2014	国外
(注1) 発表者氏名は、連名による発表の場合には、筆頭者を先頭にして全員を記載すること。				
(注2) 本様式はexcel形式にて作成し、甲が求める場合は別途電子データを納入すること。				