

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 4 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究（A）

研究期間：2010 年 ～ 2012 年

課題番号：22689029

研究課題名（和文）難治性造血器腫瘍に対する CCR4 抗体を軸とした新規包括的治療法の確立、臨床応用

研究課題名（英文）The development of a comprehensive immunotherapy based on anti-CCR4 antibody for hematological malignancies

研究代表者

石田 高司（ISHIDA TAKASHI）

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：80405183

研究成果の概要（和文）：

1. HTLV-1 Tax はATLに対する有望な免疫療法の標的分子である。
2. がん・精巣抗原 はATLに対する有望な免疫療法の標的分子である。
3. 同種造血細胞移植療法は前処置法の種類によらずATLに長期生存をもたらし得る治療法である。
4. モガムリズマブはATLに対する有効な治療薬である。
5. モガムリズマブによる Treg の除去はがん患者に対し、抗腫瘍免疫を増強する利点がある反面、自己免疫疾患を惹起しうるリスクを有する。

研究成果の概要（英文）：

1. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL)
2. Cancer Testis antigens are potential molecular targets for immunotherapy of ATL.
3. Allogeneic HSCT not only with MAC but also with RIC is an effective treatment resulting in long-term survival in selected patients with ATL.
4. KW-0761 demonstrated clinically meaningful antitumor activity in patients with relapsed ATL, with an acceptable toxicity profile.
5. The reduction of Treg cells by mogamulizumab in cancer patients would have both potential benefits leading to enhanced antitumor immunity, but also pose risks of autoimmune disease.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	6,900,000	2,070,000	8,970,000
2011 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
2012 年度	5,000,000	1,500,000	6,500,000
年度			
年度			
総計	16,900,000	5,070,000	21,970,000

研究分野：血液内科学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・血液内科学

キーワード：CCR4、CCR4 抗体、制御性 T 細胞、CTL、ATL、NOG マウス

1. 研究開始当初の背景

造血器腫瘍領域において、CD20 に対する治療抗体 rituximab の登場は B 細胞性リンパ腫治

療に劇的な進歩をもたらした。一方、T 細胞性リンパ腫は rituximab の登場以前から B 細胞性リンパ腫に比較し予後不良であることが知られていたが、加えてこの数年で治療に目立った進歩はない。B、T リンパ腫の両者は著しい対照をなしている。T 細胞性リンパ腫に対する標準的な治療法はいまだ確立していない。CCR4 は Th2 細胞、制御性 T 細胞(Treg) に発現するケモカインレセプターである。研究者らは CCR4 が難治性 T 細胞性リンパ腫に選択的に発現することを世界に先駆けて見出した。この所見から CCR4 を難治性 T 細胞性リンパ腫に対する新規分子標的と位置づけ、低フコース化し ADCC を増強させた次世代型治療抗体の基盤研究を進めてきた。これらの成果に基づき、申請者らは協和発酵キリン(株)と共同で欧米諸国に先駆け、日本で 2006 年 7 月から低フコース型ヒト化抗 CCR4 抗体(KW-0761、モガムリズマブ)による再発性/難治性 CCR4 陽性 T 細胞性リンパ腫に対する臨床第 I 相試験(治験)を開始するに至った(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00355472)。悪性腫瘍に対する抗体薬の臨床応用が欧米諸国に先駆け、日本で開始されたのは本 CCR4 抗体が初めてのことであり、その後も現在に至るまで例がない。さらに本臨床試験は、次世代型低フコース抗体が悪性腫瘍の治療に使用された世界発の臨床試験という点でも世界中の注目を集めた。結果、0.01 mg/kg という低用量の投与で血液学的寛解に到達した難治性成人 T 細胞性白血病/リンパ腫(ATL)症例を経験した。この 0.01 mg/kg という投与量は、同じく IgG1 型抗体薬の rituximab の臨床使用量の約 1/1,000 に相当する。本ケースでは特記すべき有害事象は認めなかった。この CCR4 陽性 ATL 細胞特異的に、低濃度で強い抗腫瘍効果を示した臨床での事実は、まさしく研究段階でのフコース除去による ADCC 増強効果の概念の実証(POC; proof of concept)であった。2008 年 8 月に本第 I 相臨床試験の全患者登録が終了し、第 II 相臨床試験の推奨用量を 1.0 mg/kg に決定した。第 II 相試験(治験)は 2009 年 6 月より開始となった(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00920790)。これらの成果が基盤となり、2009 年 5 月からは CCR4 抗体の難治性 T 細胞性腫瘍に対する臨床第 I/II 相試験(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00888927)が米国で開始となった。

## 2. 研究の目的

T 細胞性リンパ腫は造血器腫瘍の中でも最も

予後が悪い腫瘍に属しており、有効な新規薬剤が切望されている。申請者等は難治性 T 細胞性リンパ腫に対する新規分子標的として CCR4 を位置づけ、基盤研究、臨床開発を進めてきた。本研究では、難治性 T 細胞性リンパ腫に対し、CCR4 抗体を軸とした最適な治療法確立の基盤を構築する。

## 3. 研究の方法

CCR4 抗体の抗腫瘍効果はヒト免疫担当細胞をエフェクターとする ADCC のみであるため、併用効果を前臨床の段階で適切に評価するためには、申請者等が確立したヒト autologous 免疫担当細胞移入 T 細胞性リンパ腫/NOG マウスモデルを使用する必然性がある。

それら基盤的実験データに加え、mogamulizumab 治療を受けた ATL あるいは PTCL 患者から得られた sample、臨床データを統合的に解析し、再発難治性 ATL/PTCL に対し、科学的根拠に基づく mogamulizumab を軸とした新規包括的治療法の確立を目指した。

## 4. 研究成果

### (1) ヒト化 CCR4 抗体(モガムリズマブ)の前臨床研究

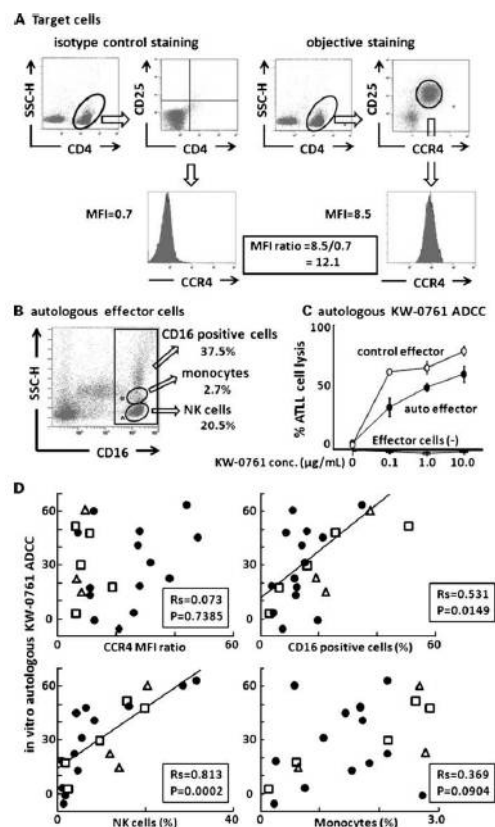


図1 (文献19から引用)

ヒト化 CCR4 抗体(モガムリズマブ)の抗腫瘍効果を *in vitro* で検討した。モガムリズマブの抗腫瘍効果は ADCC のみに依存する。従来からの健常人 PBMC をエフェクターとして ADCC 活性を測定する方法(51Cr release assay)では、標的となる腫瘍細胞とエフェクター細胞間の HLA の違いが、結果として得られる ADCC 活性の大きな規定因子となる。また担癌状態の患者のエフェクター細胞は、一般に ADCC 誘導能が低下しており、健常人の PBMC を用いた assay では、患者体内での ADCC を反映しない。よって研究者らは複数の ATL 患者で autologous setting で ADCC assay を実施し、ATL 患者でのモガムリズマブの ADCC は CCR4 の発現量には依存せず、NK 細胞の存在比率に依存することを明らかにした(図 1)。

次に、SCID マウスを用いた *in vivo* ATL マウスでモガムリズマブの抗腫瘍効果を評価した。モガムリズマブは therapeutic setting において腹腔内腫瘍モデルにおいても、皮下腫瘍モデルにおいても強い抗腫瘍効果を示した(図 2)。

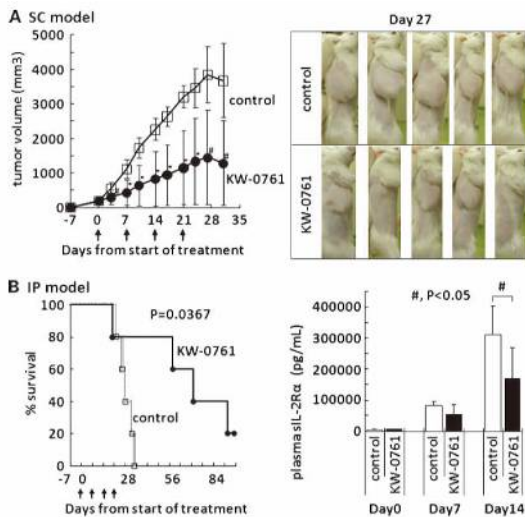


図 2 (文献 19 から引用)

(2) NOG マウスを用いたヒト化マウスでの免疫療法の評価、リンパ腫の病態評価

腫瘍はその増殖、腫瘍としての形質維持に微小環境を必要とする。高度免疫不全マウス、NOG マウスを用いることで、フラスコ内の細胞株で得る情報よりも、より臨床に即した情報を得ることが可能である。

血管免疫芽球性リンパ腫は follicular helper T 細胞 (Tfh) がその起源と考えられ

る腫瘍であるが、NOG マウス内において Tfh のマスター遺伝子である bcl-6 の発現を認め、さらに B 細胞のヒト免疫グロブリン産生が促進していた。さらに、腫瘍細胞での VEGF の産生亢進および腫瘍組織での血管増生を認めた。これらの所見は、NOG マウスを用い、微小環境も含め、ヒトの病態を大いに再現したモデルが構築されたことを意味する。(図 3)。

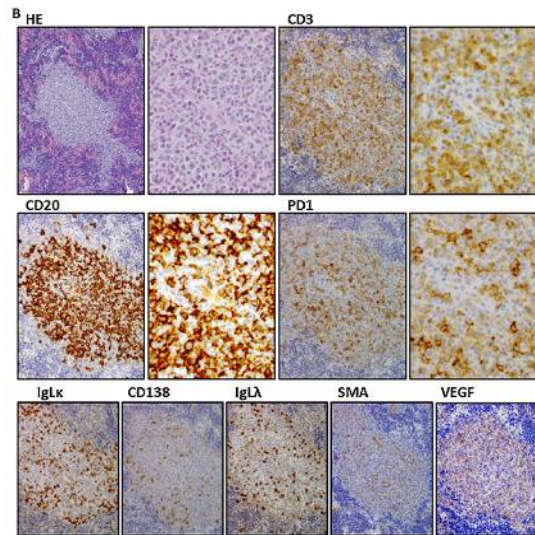


図 3 (文献 10 から引用)

抗体薬の重要な作用機序の一つに補体依存性細胞傷害活性(CDC)がある。Fc 部位をヒト化した治療抗体のヒト CDC をマウス *in vivo* で評価するのは困難であった。我々は、NOG マウスにヒトの血清を移入することにより、マウス *in vivo* でヒト CDC を再現する系を確立した(図 4)。

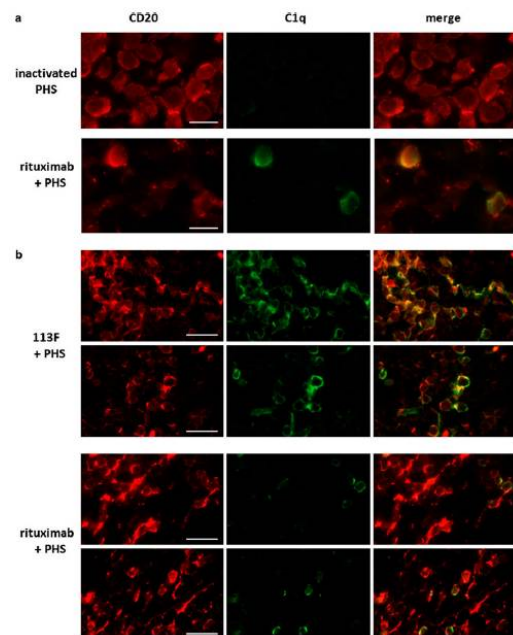


図 4 (文献 16 から引用)

ATLに対する免疫療法の標的として、HTLV-Taxは否定的な見解が大多数であった。我々はポテリジオ治療前後で詳細な免疫モニタリングを実施する中で、ポテリジオ治療後にTax特異的細胞性免疫が増強するケースを複数に認めた。上記の現象はATLにおいてTaxが発現していることを示唆すると考えた。このことを検証する目的で、患者由来のATL腫瘍細胞を分離し、NOGマウスATLモデルマウスを作製した。結果マウス末梢血中のATL細胞ではTaxの発現を認めないか極めて低値、リンパ組織に局在するATL細胞では高レベルのTax発現を認めた(図5)。詳細な解析の結果、ATL細胞でのTaxの発現は微小環境との相互作用が重要な役割を果たしていることが明らかになった。過去にATLにおいてTaxの発現がないとした報告は、末梢血のATL細胞を解析した上でのものがほとんどであった。この結果からCCR4抗体を軸とした包括的治療法を確立する上で、Taxは重要な標的分子になることが明らかになった。

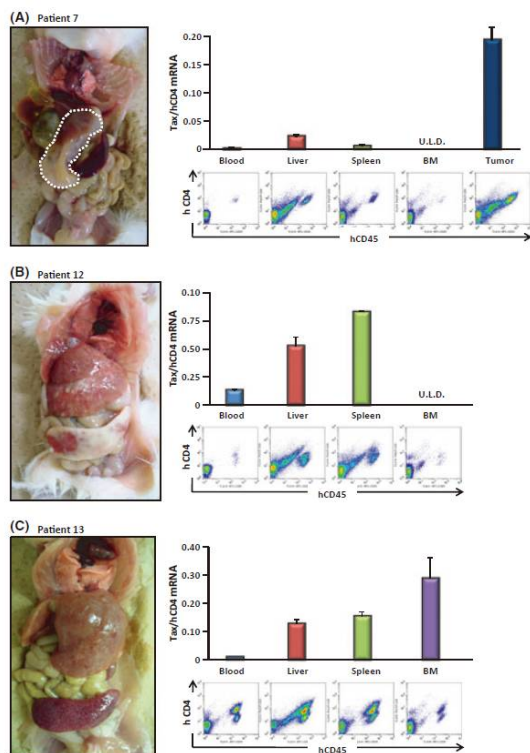


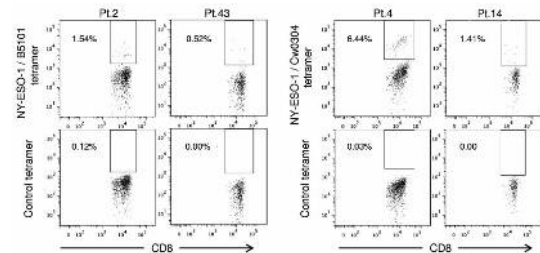
図5 (文献2から引用)

### (3) ATLにおけるがん・精巣抗原発現の意義

モガムリズマブ投与を受けたATL患者でがん・精巣抗原、特にNY-ESO-1, MAGE family proteinに対する液性免疫反応を検出した。このことはATL腫瘍細胞に、がん・精巣抗原

が発現していることを示唆する。実際にATL腫瘍細胞でのがん・精巣抗原の発現をRT-PCRで解析したところ、NY-ESO-1 (61.4%)、MAGE-A3 (31.6%)、MAGE-A4 (61.4%)であり、このうちいずれかを発現しているATL患者は87.7%であった。がん・精巣抗原の血液腫瘍での発現報告は限られており、これまでにATLでの発現解析の報告はなかった。がん・精巣抗原はその名の通り、各種がんを選択的に発現しているため、欧米では各種の固形がんに対する免疫療法の標的抗原として臨床試験が進んでいる。そこで9名のATL患者においてNY-ESO-1特異的CD8およびCD4+T細胞の同定を試みた。CD8+T細胞誘導は、HLA/ペプチドテトラマー(テトラマーが使用可能なHLAを持っている患者)とNY-ESO-1抗原刺激に対する細胞内サイトカイン染色法により検討した。9症例中5症例でNY-ESO-1特異的CD8+T細胞応答が同定された(図6)。すなわちATL患者では、がん・精巣抗原に対する特異的CTLが、その発症や治療後寛解維持に重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

図6 (文献8から引用)



### (4) ATLに対する同種造血細胞移植療法

ATLに対する同種造血細胞移植療法は骨髄破壊の前処置と骨髄非破壊の前処置では、同等の生存が得られることを明らかにした(文献1)。

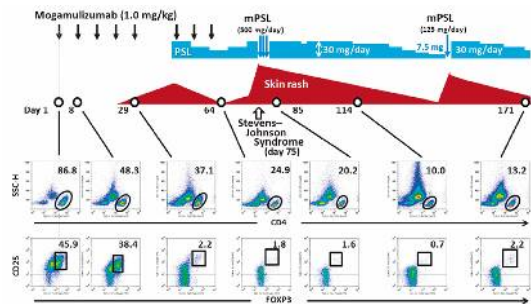
### (5) モガムリズマブの臨床試験

第I相試験、第II相試験を推し進め、結果2012年3月30日にモガムリズマブは「ポテリジオ®点滴静注20mg」(以下「ポテリジオ®」)の商品名で国内医薬品製造販売承認を取得し、5月末に発売開始となった。加えて同薬剤のコンパニオン診断薬としてポテリジオテストの発売もあわせて開始された。

### (6) モガムリズマブのリバーストランスレーショナルリサーチ

モガムリズマブ投与によりTregが著しく減少し、Stevens-Johnson 症候群など重篤な皮膚の有害事象につながることを示した(図6)。  
図6 (文献4から引用)

まとめ：以上の研究から、難治性造血器腫瘍に対するCCR4抗体を軸とした新規包括的治療法の確立、臨床応用の基盤となるデータを得た。現在 我々は、多施設共同前向き臨床試験「成人T細胞白血病リンパ腫に対するモガム



リズマブ治療中の免疫モニタリング」(UMIN0000869)を実施している。本臨床研究および付随研究により、モガムリズマブのヒト免疫に及ぼす影響を明らかにし、「難治性造血器腫瘍に対するCCR4抗体を軸とした新規包括的治療法の確立」を目指す。さらに造血器腫瘍にとどまらず、モガムリズマブのTreg除去による抗腫瘍免疫賦活作用に期待して「進行又は再発固形がん患者に対するMogamulizumabの第Ia/Ib相多施設共同医師主導治験」(UMIN00001005)を実施している。モガムリズマブを基軸に据えた、がんに対する新たな概念の治療法確立を目指す。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 20 件)

- ① 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. in press.*
- ② Suzuki T, Kusumoto S, Yoshida T, Mori F, Ito A, Ri M, Ishida T, Komatsu H, Niimi A, Iida S. Successful salvage therapy using lenalidomide in a patient with relapsed multiple myeloma after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

Int J Hematol. 2013 Mar 2. [Epub ahead of print]

- ③ Ishida T, Ito A, Sato F, Kusumoto S, Iida S, Inagaki H, Morita A, Akinaga S, Ueda R. Stevens-Johnson Syndrome associated with mogamulizumab treatment of Adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci.* 2013 Jan 30. doi: 10.1111/cas.12116. [Epub ahead of print] (*corresponding author*)
- ④ Sato F, Ishida T, Ito A, Mori F, Masaki A, Takino H, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Suzuki S, Komatsu H, Niimi A, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma mice model. *Leuk Res.* 2013;37:21-7. (*corresponding author*)
- ⑤ Kato H, Saito C, Ito E, Furuhashi T, Nishida E, Ishida T, Ueda R, Inagaki H, Morita A. Bath-PUVA Therapy Decreases Infiltrating CCR4-Expressing Tumor Cells and Regulatory T Cells in Patients With Mycosis Fungoides. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2013 Jan 15. doi:p11: S2152-2650(12)00288-1. 10.1016/j.clml.2012.12.002.
- ⑥ Suzuki S, Masaki A, Ishida T, Ito A, Mori F, Sato F, Narita T, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Fukumori Y, Nishikawa H, Tanaka Y, Niimi A, Inagaki H, Iida S, Ueda R. Tax is a potential molecular target for immunotherapy of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Cancer Sci.* 2012;103:1764-73. (*corresponding author*)
- ⑦ Ishida T, Joh T, Uike N, Yamamoto K, Utsunomiya A, Yoshida S, Saburi Y, Miyamoto T, Takemoto S, Suzushima H, Tsukasaki K, Nosaka K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Inagaki H, Ogura M, Akinaga S, Tomonaga M, Tobinai K, Ueda R. Defucosylated Anti-CCR4 Monoclonal Antibody (KW-0761) for Relapsed Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma: A Multicenter Phase II Study. *J Clin Oncol.* 2012; 30:837-42. (*corresponding author*)
- ⑧ \*Nishikawa H, \*Maeda Y, \*Ishida T, Gnjjatic S, Sato E, Mori F, Sugiyama D, Ito A, Fukumori Y, Utsunomiya A, Inagaki H, Old LJ, Ueda R, Sakaguchi S. Cancer/testis antigens are novel targets of immunotherapy for adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 2012;119:3097-104. (*\*equally contributed*)
- ⑨ Ishida T, Hishizawa M, Kato K, Tanosaki R, Fukuda T, Taniguchi S, Eto T, Takatsuka Y, Miyazaki Y, Moriuchi Y, Hidaka M, Akashi K, Uike N, Sakamaki H, Morishima Y, Kato K, Suzuki R, Nishiyama T, Utsunomiya A. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia-lymphoma with special emphasis on preconditioning regimen: a nationwide retrospective study. *Blood.* 2012 Aug 23;120(8):1734-41. (*corresponding author*)

- ⑩ Ri M, Tashiro E, Oikawa D, Shinjo S, Tokuda M, Yokouchi Y, Narita T, Masaki A, Ito A, Ding J, Kusumoto S, Ishida T, Komatsu H, Shiotsu Y, Ueda R, Iwawaki T, Imoto M, Iida S. Identification of Toyocamycin, an agent cytotoxic for multiple myeloma cells, as a potent inhibitor of ER stress-induced XBP1 mRNA splicing. *Blood Cancer J.* 2012 Jul;2(7):e79.
- ⑪ Mori F, Ishida T, Ito A, Sato F, Masaki A, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Ueda R, Inagaki H, Iida S. Potent antitumor effects of bevacizumab in a microenvironment-dependent human lymphoma mouse model. *Blood Cancer J.* 2012 Apr;2(4):e67. (corresponding author)
- ⑫ Yamada S, Sato F, Xia H, Takino H, Kominato S, Ri M, Ishida T, Iida S, Inagaki H, Yamada K. Forkhead box P1 overexpression and its clinicopathologic significance in peripheral T-cell lymphoma, not otherwise specified. *Hum Pathol.* 2012;43:1322-7.
- ⑬ Ishida T, Ueda R. Immunopathogenesis of lymphoma: Focus on CCR4. *Cancer Sci.* 2011;102:44-50. (corresponding author)
- ⑭ Ishida T, Ueda R. Antibody therapy for Adult T-cell leukemia-lymphoma. *Int J Hematol*, 2011;94(5):443-452. (corresponding author)
- ⑮ Shimizu K, Murakami H, Sawamura M, Hattori Y, Okamoto S, Miwa A, Sugiura I, Shimazaki C, Taniwaki M, Ishida T, Hayashi T, Kosugi H, Yuge M, Iida S, Ishida T, Sunami K, Asaoku H, Sakai A, Abe M, Takagi T. Efficacy of Long-Term Treatment with Low-Dose Thalidomide for Patients with Relapsed/Refractory Multiple Myeloma. *International Journal of Clinical Medicine* 2011;2:570-575.
- ⑯ Sato F, Ito A, Ishida T, Mori F, Takino H, Inagaki A, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Okada N, Inagaki H, Ueda R. A complement-dependent cytotoxicity-enhancing anti-CD20 antibody mediating potent antitumor activity in the humanized NOD/Shi-scid, IL-2R $\gamma$  (null) mouse lymphoma model. *Cancer Immunol Immunother.* 2010;59:1791-800. (corresponding author)
- ⑰ Ri M, Iida S, Nakashima T, Miyazaki H, Mori F, Ito A, Inagaki A, Kusumoto S, Ishida T, Komatsu H, Shiotsu Y, Ueda R. Bortezomib-resistant myeloma cell lines: a role for mutated PSMB5 in preventing the accumulation of unfolded proteins and fatal ER stress. *Leukemia.* 2010;24:1506-12.
- ⑱ Yoshida T, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ito A, Ri M, Ishida T, Komatsu H, Iida S, Sugauchi F, Tanaka Y, Mizokami M, Ueda R. Reactivation of hepatitis B virus in HBsAg-negative

patients with multiple myeloma: two case reports. *Int J Hematol.* 2010;91:844-9.

- ⑲ Ishii T, Ishida T, Utsunomiya A, Inagaki A, Yano H, Komatsu H, Iida S, Imada K, Uchiyama T, Akinaga S, Shitara K, Ueda R. Defucosylated humanized anti-CCR4 monoclonal antibody KW-0761 as a novel immunotherapeutic agent for adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL). *Clin Cancer Res.* 2010;16:1520-1531. (corresponding author)
- ⑳ Yamamoto K, Utsunomiya A, Tobinai K, Tsukasaki K, Uike N, Uozumi K, Yamaguchi K, Yamada Y, Hanada S, Tamura K, Nakamura S, Inagaki H, Ohshima K, Kiyoi H, Ishida T, Matsushima K, Akinaga S, Ogura M, Tomonaga M, Ueda R. Phase I Study of KW-0761, a Defucosylated Humanized Anti-CCR4 Antibody, in Relapsed Patients with Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma and Peripheral T-Cell Lymphoma. *J Clin Oncol.* 2010;28:1591-8.
- [学会発表] (計2件)
- ① Ishida T, Ogura M, MD, Hatake K, et al. Multicenter Phase II Study of Mogamulizumab (KW-0761), a Defucosylated Anti-CCR4 Antibody, in Patients with Relapsed Peripheral and Cutaneous T-Cell Lymphoma (oral presentation) 54<sup>th</sup> ASH Annual Meeting and Exposition December 8-11, 2012, Atlanta, GA, USA
- ② Ishida T, Joh T, Uike N, et al. Multicenter Phase II Study of KW-0761, a Defucosylated Anti-CCR4 Antibody, in Relapsed Patients with Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma (ATL) (oral presentation) 52<sup>th</sup> ASH Annual Meeting And Exposition December 6, 2010, ORLAND, FL, USA

[産業財産権]

- 出願状況 (計0件)  
該当なし
- 取得状況 (計0件)  
該当なし

[その他]

- ホームページ等  
該当なし

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石田 高司 (ISHIDA TAKASHI)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授  
研究者番号：80405183