

平成 22 年 5 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2008～2009

課題番号：20790680

研究課題名 (和文) 抗 CCR4 抗体の抗腫瘍効果増強を目的とした併用療法確立のための基礎的研究

研究課題名 (英文) Development of novel cancer immunotherapy using anti-CCR4 mAb combined with immunomodulatory agents

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・講師

研究者番号：80405183

研究成果の概要 (和文)：

ヒト体内での ADCC はヒト免疫担当細胞をエフェクターとしておこるが、マウス体内においてはマウス免疫担当細胞をエフェクターとしておこる。故に、抗 CCR4 抗体を含む免疫療法のマウス *in vivo* での抗腫瘍効果が、そのままヒトでの抗腫瘍効果を直接的に反映しないのが、これまでの限界であった。研究者は NOG マウス及び患者由来の ATL 腫瘍細胞を用いて、ヒト autologous 免疫担当細胞移入 ATL/NOG マウスモデルを確立し、低フコース ADCC 増強抗体であるキメラ型抗 CCR4 抗体の誘導するヒト ADCC を、マウス *in vivo* で再現するモデルを確立した。本モデルにおいて、ADCC の各エフェクター細胞分画を除去し、抗腫瘍効果を評価することで、各エフェクター細胞分画のヒト ADCC への寄与の程度を解析することが可能となった。ヒト autologous ADCC による抗腫瘍効果をマウス *in vivo* で評価するシステムは、今回申請者らが世界で初めて報告したものである。本モデルは抗 CCR4 抗体をはじめ ADCC を主たる作用機序とする抗体薬の併用療法を含む前臨床研究に重大な貢献をすると考えられる。

研究成果の概要 (英文)：

There is a lack of suitable small animal models to evaluate human ADCC *in vivo*, because of the species incompatibility between humans and animals or due to nonspecific allogeneic immune reactions. To overcome these problems, we established a human tumor-bearing mouse model, using NOG mice as recipients, in which autologous human immune cells are engrafted and mediate ADCC but in which endogenous murine cells are unable to mediate ADCC. We demonstrate significant antitumor activity *in vivo* associated with robust ADCC mediated by autologous effector cells from the same patients. The present study is the first to report a mouse model in which a potent antitumor effect of the therapeutic mAb against primary tumor cells is mediated by autologous human immune cells. This approach makes it possible to model the human immune system active in Ab-based cancer immunotherapy including combination treatment *in vivo*, and thus to perform more appropriate preclinical evaluations of novel therapeutic mAb.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2009 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

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, 抗体療法, lymphoma, ADCC

1. 研究開始当初の背景

抗体療法は悪性腫瘍に対する新しい治療として完全に定着していた。研究代表者らはケモカインレセプターCCR4を分子標的とする抗体療法開発研究に取り組んできた。結果、研究代表者らの研究成果を基盤として、CCR4陽性末梢性T細胞性腫瘍を対象とした抗CCR4抗体の臨床第I相試験が世界に先駆け本邦で行われていた(ClinicalTrials.gov Identifier: NCT00355472)。

2. 研究の目的

本CCR4抗体はADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity) が主たる作用機序である。故に本抗体の抗腫瘍効果は宿主エフェクター細胞機能に依存している。しかしながら本抗体の適応疾患であるT細胞性腫瘍をはじめとする担癌患者の多くは、免疫不全の状態にありNK細胞をはじめとするADCCのエフェクター細胞は質的量的に抑制されている。抗CCR4抗体が十分な抗腫瘍効果を示すためには、担癌患者においてADCCを担うエフェクター細胞の活性を増強させる必要がある。

本申請研究では、現在phase I 試験において単剤投与が行われている抗CCR4抗体の薬

効をさらに高めるための最適な併用療法を確立することを目的に、基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

抗CCR4抗体の併用療法を含む治療実験をin vitro 及び各種マウスモデルで実施した。

4. 研究成果

G-CSFを併用することにより、抗CCR4抗体の抗腫瘍効果が有意に増強することを、ATLL/SCIDマウスモデルで示した。そしてその作用機序はG-CSFによるマウスマクロファージの貪食能亢進であることを示した。エフェクター細胞の機能を亢進させる薬剤は抗CCR4抗体の併用薬として有望であることを証明した。抗CCR4抗体の主たる作用機序はADCCである。現在臨床現場で不可欠の薬剤であるリツキシマブを用いてADCCの作用機序を詳細に検討した。結果、ADCCの感受性規定因子として、リンパ腫細胞発現するNKG2DのリガンドであるULBPが重要であることを明らかにした。この事実は、ULBPの発現を増強させる薬剤との併用により、抗CCR4抗体など治療抗体のADCC誘導能を増強可能

であることを意味する。

ヒト体内での ADCC はヒト免疫担当細胞をエフェクターとしておこるが、マウス体内においてはマウス免疫担当細胞をエフェクターとしておこる。故に、抗 CCR4 抗体を含む免疫療法のマウス *in vivo* での抗腫瘍効果が、そのままヒトでの抗腫瘍効果を直接的に反映しないのが、これまでの限界であった。その壁を乗り越えるため、NOD/Shi-*scid*, IL-2Ry<sup>null</sup>(NOG)マウスを使用した。NOG マウスは、NOD-*scid* などの免疫不全マウスと比較して、多様なヒト細胞が分化、増殖することが可能である。NOG マウス及び患者由来の ATL 腫瘍細胞を用いて、NOG/ATL モデルマウスを作製した。本モデルマウスは臓器浸潤様式など、ヒト ATL 患者の臨床像をほぼ忠実に再現することを明らかにした。さらに、ヒト *autologous* 免疫担当細胞移入 ATL/NOG マウスモデルを確立し、低ブコース ADCC 増強抗体であるキメラ型抗 CCR4 抗体の誘導するヒト ADCC を、マウス *in vivo* で再現するモデルを確立した。本モデルにおいて、ADCC の各エフェクター細胞分画を除去し、抗腫瘍効果を評価することで、各エフェクター細胞分画のヒト ADCC への寄与の程度を解析することが可能となった。ヒト *autologous* ADCC による抗腫瘍効果をマウス *in vivo* で評価するシステムは、今回申請者らが世界で初めて報告したものである。

本モデルは抗 CCR4 抗体をはじめ ADCC を主たる作用機序とする抗体薬の併用療法を含む前臨床研究に重大な貢献をすると考えられる。

#### 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 7 件)

- ① Ito A, Ishida T, Utsunomiya A, Sato F, Mori F, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Takino H, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exerts potent ADCC against primary ATLL Cells mediated by autologous human immune cells in NOD/Shi-*scid*, IL-2Rgamma(null) mice *in vivo*. *J Immunol.* 2009;183: 4782-91. (*corresponding author*) 査読有
- ② Ding J, Komatsu H, Iida S, Yano H, Kusumoto S, Inagaki A, Mori F, Ri M, Ito A, Wakita A, Ishida T, Nitta M, Ueda R. The Asn505 mutation of c-MPL gene, which causes familial essential thrombocythemia, induces autonomous homodimerization of the c-Mpl protein due to strong amino acid polarity. *Blood.* 2009;114:3325-8. 査読有
- ③ Inagaki A, Ishida T, Yano H, Ishii T, Kusumoto S, Ito A, Ri M, Mori F, **Ding J**, Komatsu H, Iida S, Ueda R. Expression of the ULBP ligands for NKG2D by B-NHL cells plays an important role in determining their susceptibility to rituximab-induced ADCC. *Int J Cancer.* 2009;125:212-21. (*corresponding author*) 査読有
- ④ Ri M, Iida S, Ishida T, Ito A, Yano H, Inagaki A, Ding J, Kusumoto S, Komatsu H, Utsunomiya A, Ueda R. Bortezomib-induced apoptosis in mature T-cell lymphoma cells partially depends on upregulation of Noxa and functional repression of Mcl-1. *Cancer Sci.* 2009;100:341-8. 査読有
- ⑤ Ito A, Ishida T, Yano H, Inagaki A, Suzuki S, Sato F, Takino H, Mori F, Ri M, Kusumoto S, Komatsu H, Iida S, Inagaki H, Ueda R.

Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody exercises potent ADCC-mediated antitumor effect in the novel tumor-bearing humanized NOD/Shi-scid, IL-2Rgamma(null) mouse model. Cancer Immunol Immunother. 2009;58: 1195-206. (*corresponding author*)  
査読有

⑥ Yano H, Kayukawa S, Iida S, Nakagawa C, Oguri T, Sanda T, Ding J, Mori F, Ito A, Ri M, Inagaki A, Kusumoto S, Ishida T, Komatsu H, Inagaki H, Suzuki A, Ueda R. Overexpression of carboxylesterase-2 results in enhanced efficacy of topoisomerase I inhibitor, irinotecan (CPT-11), for multiple myeloma. Cancer Sci. 2008;99:2309-14. 査読有

⑦ Yano H, Ishida T, Imada K, Sakai T, Ishii T, Inagaki A, Iida S, Uchiyama T, Ueda R. Augmentation of antitumor activity of defucosylated chimeric anti-CCR4 monoclonal antibody in SCID mouse model of adult T-cell leukaemia/lymphoma using G-CSF. Br J Haematol. 2008;140:586-9. (*corresponding author*) 査読有

〔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・講師

研究者番号：80405183