

研究課題 成人 T 細胞白血病 (ATL) に対する同種幹細胞移植療法の開発とその
HTLV-1 排除機構の解明に関する研究
課題番号 H19 -がん臨床-一般-013
研究代表者 独立行政法人国立病院機構九州がんセンター 臨床研究部長
岡村 純

1. 本年度の研究成果

1) ATL に対する骨髄非破壊的前処置による同種移植術 (RIST) の安全性と有効性に関する検討:

①第3期臨床試験の実施: 本治療法の有効性と安全性を検討することを目的とした第II相試験を遂行した。対象は、50歳以上70歳未満の急性型とリンパ腫型ATL患者で、ドナーはHLA血清型一致血縁者、幹細胞源は末梢血。前処置はフルダラビンおよびブスルファン、目標症例数35例、主要評価項目は2年全生存率とした。【結果】20例が登録され、14例の移植が終了した。10例が移植後6ヶ月以上経過し移植関連死亡(TRM)を1例に認めた。

②第4期臨床試験の実施: 第3期臨床試験と同一条件で、血縁ドナーが存在しない患者を対象として、HLA一致非血縁ドナーの骨髄を利用するRISTの第I相臨床試験を実施した。主要評価項目は100日の生存と完全キメラ達成である。【結果】15施設の倫理委員会で実施計画書が承認され、現在までに13例の仮登録があり、うち6例が本登録され、7ヶ月間で5例の移植が終了した。(2009年11月30日現在)。

③長期生存例の追跡結果: 第1期/2期登録29例中10例(34%)がRIST後54-99ヶ月間長期生存中で、社会復帰が可能となり、PSも全員Karnovsky score>90%と良好であることを確認した。

④樹状細胞を用いた新規免疫療法第I相臨床試験の検討: RISTを受けた症例の中に移植片対ATL効果が観察される症例が認められたことから、免疫療法の可能性が示唆された。既治療例のATLに対してTax特異的細胞傷害性T細胞エピトープペプチドを添加した成熟自己樹状細胞を投与し、抗ウイルス免疫効果を誘導することで抗腫瘍効果を得ることを目的とした新規治療法開発のための予備研究を慎重に行い、それを反映させた臨床試験計画書を作成し、倫理委員会に申請した。

2) 移植療法に伴う基礎的解析

HTLV-1 プロウイルス動態の解析: Real-time PCR法により経時的に測定が可能であった45例中25例(56%)では、RIST後6か月以内にプロウイルス量が検出限界以下となり、in vivoでHTLV-1感染ATL細胞の排除を誘導する抗HTLV活性の存在が示唆された。長期生存例の解析では、プロウイルス量が再びキャリアレベルまで再上昇する例と検出限界以下で推移する例とに分かれることが判明した。

宿主抗腫瘍免疫応答解析: 慢性ATL症例の末梢血単核球(PBMC)から成熟DCの誘導を確認し、DC誘導方法の細部について検証した。DC誘導培養中の感染および混入するATL細胞の生存を阻止するための方策として、培養液へのAZT等の逆転写酵素阻害剤添加や、

DC成熟後のマイトマイシンC(MMC)処理およびγ線照射の影響を調べた。いずれの処理もDCの抗原提示能には大きく影響しなかったが、HTLV-I感染細胞はγ線にやや抵抗性であったことから、AZT添加とMMC処理を採用することとした。その他、成熟

条件や凍結保存の影響についても検討した。

分子生物学的解析：第1期/2期症例を解析し、プロウイルスのタイプと予後との相関は認めなかった。tax遺伝子の変異は非移植症例では11.9%、移植症例では1例(3.8%)に認めた。今年度は、腫瘍細胞中のプロウイルスの全塩基配列を決定しnonsense変異が多数存在することを明らかにした。HTLV-1 bZIP factor (HBZ) 遺伝子のみには検出されなかったことからATL発がん過程において HBZが必須のウイルス遺伝子であることが示された。

移植後の抗白血病効果効果を促進する形質細胞様樹状細胞 (pDC) 療法の開発：本研究班の研究によって移植後の白血病再発、移植関連合併症の克服が課題であることが明らかとなったため、抗白血病作用を有するIFN- α を大量に産生するpDC療法の検討を行い、pDCを高純度に分離する方法を確立した。pDCは高いIFN-a産生能を保持し、GVHD誘導能は認められなかった。一方、移植前処置後に輸注されたpDCは高いT細胞活性化能を獲得し、GVHDを誘導した。pDC細胞療法は移植前処置による影響をさけて移植後期に試みられるべきであると考えられた。

2. 前年度までの研究成果

第1期/2期試験から、本法が50歳以上のATLに対して実施可能であり、TRMの頻度が低いこと、1/3は長期生存が可能なこと、移植後にTax特異的CTLが出現することを明らかにした。

3. 研究成果の意義及び今後の発展

50才以上の患者を対象とした血縁者末梢血を幹細胞源とするRISTの第I相試験の結果、TRMは20%台へ減少し、34%が4年以上生存すること、過半数の症例では、プロウイルス量が検出限界以下まで減少することを証明した。これらは、in vivoでHTLV-1感染ATL細胞の排除を誘導する抗HTLV活性が作動し、RISTが有効な免疫療法および抗ウイルス療法としての意義を持つことを示唆する。現在、血縁者末梢血幹細胞による第II相試験と非血縁者骨髄による第I相試験を実施中であり、さらにHTLV-1taxを標的抗原とした樹状細胞を利用する免疫療法の実施計画書を作成した。これらの細胞療法によりATLの根治を目指す。本研究は、基礎研究者との共同作業によって、細胞療法後の免疫応答、移植片対宿主反応の制御さらにHTLV-1プロウイルスの分子生物学的解析を行っている。ATLに対する移植の臨床試験と治療開発の成果は、世界へ向けての貴重な情報発信に繋がると期待される。

4. 倫理面への配慮

患者およびドナーに対して研究計画を十分に説明し書類による同意書を得たのち臨床試験を実施する。研究結果は研究班で厳重に管理し個人のプライバシーに配慮する。

5. 発表論文

1. Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Harada M, Tomonaga M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J on behalf of the ATLL-RIC study group. Long-term outcomes after hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma: The results of prospective studies (*submitted*, 2009).
2. Shimizu Y, Utsunomiya A, Okamura J, Kannagi M et al. Impaired Tax-specific T-cell

- responses with insufficient control of HTLV-1 in a subgroup of individuals at asymptomatic and smoldering stages. Cancer Science 100: 481-9, 2009
3. Takatsuka N, Hasegawa A, Kannagi M et al. Induction of IL-10- and IFN-g-producing T-cell responses by autoreactive T-cells expressing human T-cell leukemia virus type I Tax. Int Immunol 21: 1089-1100, 2009
 4. Kinpara M, Utsunomiya A, Kannagi M et al. Stromal cell-mediated suppression of human T-cell leukemia virus type-1 expression in vitro and in vivo through type-I interferon. J Virol 83: 5101-08, 2009
 5. Koyama M, Hashimoto D, Teshima T et al: Plasmacytoid dendritic cells prime alloreactive T cells to mediate graft-versus-host disease as antigen-presenting cells. Blood 113: 2088-95, 2009
 6. Tsukasaki K, Hermine O, Utsunomiya A et al: Definition, prognostic factors, treatment, and response criteria of adult T-cell leukemia-lymphoma: A proposal from an international consensus meeting. J Clin Oncol 27: 453-9, 2009
 7. Matsuno N, Wake A, Taniguchi S et al. Impact of HLA disparity in the graft-versus-host direction on engraftment in adult patients receiving reduced-intensity cord blood transplantation. Blood 114:1689-95, 2009

6.研究組織

①研究者名	②分担する研究項目	③最終卒業学校・卒業年次・学位及び専攻科目	④所属研究機関及び現在の専門（研究実施場所）	⑤所属機関における職名
岡村 純	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法及び免疫療法の検討、キメラ解析による移植後の造血細胞動態の検討	九州大学医学部昭和 44 年卒、医学博士、小児血液腫瘍学	(独)国立病院機構九州がんセンター臨床研究部、造血幹細胞移植	部長
神奈木真理	骨髄非破壊的移植療法及び免疫療法における宿主抗腫瘍免疫応答解析	京都大学大学院昭和 63 修了、医学博士、免疫学、ウイルス学	東京医科歯科大学大学院研究科免疫治療学分野、ヒトレトロウイルスに対する細胞性免疫	教授
松岡 雅雄	ATL の分子生物学的解析	熊本大学医学部研究科昭和 63 年卒、医学博士免疫学・ウイルス学	京都大学ウイルス研究所ウイルス学、血液内科学	教授
谷 憲三朗	ATL に対する樹状細胞療法臨床研究の実施	東京大学大学院昭和 60 年卒、医学博士、血液腫瘍学	九州大学生体防御医学研究所(九州大学バイオメディカルリサーチセンター)血液腫瘍学	教授
豊嶋 崇徳	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法の実施、移植後の抗腫瘍効果増強に関する基礎的研究	九州大学医学部昭和 61 年卒、医学博士、血液内科	九州大学医学部遺伝子・細胞療法部、血液内科学	准教授
宇都宮 與	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法の実施	鹿児島大学医学部昭和 52 年卒、医学博士、造血器腫瘍の化学療法・造血幹細胞移植	財)慈愛会今村病院分院血液内科、血液腫瘍学、造血幹細胞移植	院長
谷口 修一	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法の実施	九州大学医学部昭和 59 年卒、医学博士、血液内科	虎の門病院血液内科、血液腫瘍学、造血幹細胞移植	部長
田野崎隆二	ATL に対して臍帯血を利用した骨髄非破壊的移植療法の基礎的検討	慶應義塾大学医学部昭和 60 年卒、医学博士、内科血液・腫瘍学	国立がんセンター中央病院臨床検査部 血液腫瘍学、造血幹細胞移植および腫瘍免疫学	医長

宮崎 泰司	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法の実施	長崎大学医学部・昭和 61 年卒・医学博士・血液内科学	長崎大学医学部・歯学部附属病院 血液内科学、造血器悪性腫瘍、造血幹細胞	講師
鶴池 直邦	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法および樹状細胞療法を検討	九州大学医学部昭和 49 年卒、医学博士、血液学	(独)国立病院機構九州がんセンター血液内科臨床血液腫瘍学	部長
今村 雅寛	ATL に対する骨髄非破壊的移植療法の実施	北海道大学医学部昭和 48 年卒、医学博士、血液内科	北海道大学大学院、医学研究科、血液内科学・腫瘍学・造血幹細胞移植、	教授
谷脇 雅史	ATL の分子細胞遺伝学的解析と治療効果の判定	京都府立医科大学医学部、昭和 51 年卒、医学博士、血液内科学、分子細胞遺伝学	京都府立医科大学、大学院分子病態検査医学、血液・腫瘍内科、がん化学療法	教授
山中 竹春	臨床試験の計画と解析、ATL レトロスペクティブデータ	早稲田大学大学院理工学研究科、平成 12 年 3 月修了、理学博士、生物統計学	(独)国立病院機構九州がんセンター臨床研究部腫瘍統計学研究室	研究員