

## 主 論 文 要 旨

論文提出者氏名：

山内 淳司

専攻分野：内科学

コース：腎臓・高血圧内科

指導教授：伊東 文生

主論文の題目：

Mogamulizumab, an Anti-CCR4 Antibody, Targets Human T-Lymphotropic Virus Type 1- infected CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup> T Cells to Treat Associated Myelopathy

(抗CCR4抗体モガムリズマブはCD4陽性およびCD8陽性HTLV-1感染T細胞を標的としてHTLV-1関連脊髄症治療薬になり得る)

共著者：

Ariella Coler-Reilly, Tomoo Sato, Natsumi Araya, Naoko Yagishita, Hitoshi Ando, Yasuo Kunitomo, Katsunori Takahashi, Yuetsu Tanaka, Yugo Shibagaki, Kusuki Nishioka, Toshihiro Nakajima, Yasuhiro Hasegawa, Atae Utsunomiya, Kenjiro Kimura, Yoshihisa Yamano

緒言

Human T-lymphotropic virus type I (HTLV-1) 関連脊髄症 (HTLV-1-associated myelopathy: HAM) において、HTLV-1感染細胞数は長期予後と正に相関するが、感染細胞を標的とした有効な治療法は未だ確立していない。当研究室では、HAM患者においてHTLV-1は主にCD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T細胞に感染し、その細胞機能は炎症促進的に変化していることを報告してきた。そこで本研究では、成人T細胞白血病 (adult T cell leukemia: ATL) の治療薬として既承認である抗CCR4抗体モガムリズマブのHAMにおける有用性について末梢血単核球 (peripheral blood mononuclear cells: PBMC) を用いて検討した。更に、抗CCR4抗体の標的となり得るCD8<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T細胞のHAM患者における特徴を解析した。

方法・対象

文書同意を得たうえで採取した HAM 患者 (n=11) および健常人 (n=8) の

PBMCを用いた。HAM患者のPBMCを無刺激または $10\mu\text{g/mL}$ から $10^{-6}\mu\text{g/mL}$ まで10倍希釈系列で濃度をふったモガムリズマブを添加して7日間培養し、real time PCRによりPBMCのプロウイルス量、 $^3\text{H}$ -thymidine uptakeにより自発的細胞増殖応答、cytometric bead array法により培養上清中サイトカイン(IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$ )濃度を測定した。モガムリズマブによる培養24時間後のCCR4 $^+$ 細胞およびHTLV-1感染(Tax $^+$ )細胞の減少効果を、フローサイトメーターを用いて測定した。

CD8 $^+$ CCR4 $^+$ T細胞の解析は、CD8 $^+$ T細胞およびHTLV-1 Tax特異的細胞傷害性CD8 $^+$ T細胞(HLA-A\*2402/Tax301-309)のCCR4陽性率、CD8 $^+$ CCR4 $^+$ /CD8 $^+$ CCR4 $^-$ T細胞のPMA/ionomycin刺激によるIFN- $\gamma$ およびIL-4陽性率をフローサイトメーターを用いて測定した。更にセルソーターを用いてCD8 $^+$ CCR4 $^+$ /CD8 $^+$ CCR4 $^-$ T細胞を分離し、各々のプロウイルス量および無刺激培養後の上清中IFN- $\gamma$ 濃度を測定した。

統計は、群内比較にはpaired *t*-testまたはWilcoxon signed-rank testを、群間比較にはMann-Whitney *U*-testを用いた。多群比較にはRepeated measures analysis of variance(事後検定Dunnett test)またはFriedman test(事後検定Dunn test)を用いた。

本研究は聖マリアンナ医科大学生命倫理委員会(承認1646号)の承認を得たものである。

## 結果

モガムリズマブは、プロウイルス量、自発的細胞増殖応答および各種サイトカイン産生を濃度依存的に抑制した。プロウイルス量と自発的細胞増殖応答は、ATL患者への投与量における血中濃度の1/1000の濃度( $0.01\mu\text{g/mL}$ )以上で有意に抑制され( $P < 0.01\sim 0.001$ )、サイトカイン産生は1/100の濃度( $0.1\mu\text{g/mL}$ )以上で有意に抑制された( $P < 0.05\sim 0.001$ )。

HAMではCD8 $^+$ T細胞のCCR4陽性率が健常人と比較して有意に高く( $P = 0.02$ )、CD8 $^+$ CCR4 $^+$ T細胞はCD8 $^+$ CCR4 $^-$ T細胞と比較して有意にプロウイルス量が高かった( $P = 0.0002$ )。またHAMのCD8 $^+$ CCR4 $^+$ T細胞では、IFN- $\gamma$ 陽性細胞が有意に増加し( $P = 0.02$ )、IL-4陽性細胞は有意に減少しており( $P = 0.01$ )、無刺激の培養により著明なIFN- $\gamma$ の産生を認めた。一方、CD8 $^+$ CCR4 $^-$ 細胞にはそのような変化は認めなかった。Tax特異的細胞傷害性T細胞の90%以上はCCR4 $^+$ であった。モガムリズマブはCD4 $^+$ T細胞同様、CD8 $^+$ T細胞においてもCCR4 $^+$ 細胞および感染細胞をコントロール抗体と比較して有意に減少させた( $P = 0.01$ 、 $P = 0.03$ )。

## 考察

今回の研究により、モガムリズマブはHTLV-1感染細胞を減少させ、

更に HAM における過剰な免疫応答(自発的細胞増殖応答および自発的サイトカイン産生)を抑制するという、病態に即した治療薬になり得ることが示された。

HAM では、CD8<sup>+</sup>T 細胞においても CCR4<sup>+</sup>細胞の感染率が高く、更に IFN- $\gamma$  を発現する炎症促進的な細胞に変化しており、CD8<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T 細胞も治療標的であることが示唆された。一方、感染細胞制御に重要な Tax 特異的細胞傷害性 T 細胞の多くは CCR4<sup>-</sup>であり、抗 CCR4 抗体の標的になり難いと考えられた。

#### 結論

HAM においては CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T 細胞に加えて CD8<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T 細胞も治療標的であり、モガムリズマブは感染細胞を標的とした HAM に対する新規治療薬になり得る。