

# 造血器悪性腫瘍における個別化・層別化治療確立に向けた 新規薬剤の作用機序解明とバイオマーカー探索

北 舘 明 宏

秋田大学大学院医学系研究科 血液・腎臓・膠原病内科学講座

(accepted 2 May 2024)

## Elucidation of the mechanism of action of new drugs and research for biomarkers to establish individualized and stratified treatment for hematopoietic malignancies

Akihiro Kitadate

Department of Hematology, Nephrology, and Rheumatology, Akita University Graduate School of Medicine, Akita, Japan

**Key words:** T-cell lymphoma, multiple myeloma, HDAC inhibitor, CD38, CCR4

### はじめに

悪性リンパ腫や多発性骨髄腫などの造血器腫瘍においては、新規分子標的薬が次々と登場し患者の予後は飛躍的に向上している。しかしながら、同じ疾患であっても薬剤への治療反応は患者毎に異なっている。また複数の治療選択肢がある中で、いかに最適な薬剤・併用薬を選択するか、あるいは治療シークエンスをどのように選択するかなど『個々の症例への治療戦略の最適化』は日常臨床で重要な課題である。研究レベルでは、遺伝子変異パネルなどを用いて最適な治療を選択する試みはされているものの、造血器腫瘍においてはそのような試みは今のところごく一部の academic institution に限られており、日常臨床への実装化にはまだ至っていない。また、特定の遺伝子変異を標的にした薬剤であれば、遺伝子変異パネルによる治療効果予測が有用であるが、造血器腫瘍領域では細胞表面抗原を標的にした抗体薬・抗体薬物複合体や、免疫調整作用を主とした薬剤など作用機序が多岐に渡る。細胞表面抗原の発現強度は遺伝子変異では予測できないし、免疫調整作用の治療予測としてはホストの免疫状態が治療反応に重要であり、免疫細胞解析が必要となってくる。従って、遺伝子変異パネルのみで、治療戦略の最適化に至ることは造血器腫瘍においてまだ困難である。また、抗体薬であっても、腫瘍自体ではなく腫瘍周囲の免疫細胞を標的とした免疫調整作用が有用であることなどが後に明らかになってくることもある。これらの点から、薬剤の作用機序探索と作用機序に基づく治療反応予測が治療戦略最適化において必要であろうと考えられる。

治療反応予測と同様に重要であるのが予後予測である。予後できるだけ正確に予測することで、予後良好な症例には治療の減

弱を、予後不良な症例には新規薬剤の導入または造血幹細胞移植などのより強力な治療を行うなど、個別化治療の発展においても重要である。

筆者は造血器悪性腫瘍における新規薬剤の作用機序探索及び日常臨床で有用なバイオマーカー探索について研究を行ってきた。本稿ではそれら研究結果について概説する。

### T 細胞リンパ腫における HDAC 阻害剤の作用機序と CCR4 への影響

T 細胞リンパ腫は B 細胞リンパ腫に比べ予後不良であり、新規薬剤の登場が待望されている疾患である。T 細胞リンパ腫に対して最初に登場した新規薬剤としてヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase, HDAC) 阻害剤が挙げられる。皮膚 T 細胞リンパ腫に対して汎 HDAC 阻害剤であるボリノスタットの登場が T 細胞リンパ腫における最初の新規薬剤の登場であるが、その奏功率は 20-30% と決して高いものではなかった。一方で、奏功を得た症例では比較的長期に奏功が持続することもしばしば認められた。そもそも HDAC は種々のがん種で活性化しており、悪性リンパ腫のみならず、肺癌・乳癌を始めとした多くの固形腫瘍においても HDAC 活性化が認められ、HDAC 阻害剤の臨床応用は様々ながん種で試みられてきた。しかしながら、これらの固形腫瘍、白血病などにおいては HDAC 阻害剤単剤での治療は臨床的な有効性を示すことができなかった。一方で悪性リンパ腫、特に T 細胞性リンパ腫において HDAC 阻害剤は他の疾患に先駆けてその臨床的な有効性が確認され保険承認に至った経緯がある。しかしながら、HDAC 阻害剤がどのような標的を介して薬効を発揮しているのかについては、これまで網羅的遺伝子発現解析による検討なども行われているが、いまだ十分明らかではなかった。

筆者らのグループではこれまで T 細胞性リンパ腫を中心として小分子機能的 RNA である microRNA (miRNA) の発現異常とその病態への関与を報告してきた<sup>12)</sup>。そしてこのうち miR-16 というがん抑制的 miRNA が T 細胞リンパ腫細胞にアポトーシス・細胞老化を誘導すること、さらに HDAC 阻害剤であるボ

Corresponding Author: Akihiro Kitadate  
Department of Hematology, Nephrology, and Rheumatology, Akita University Graduate School of Medicine, 1-1-1 Hondo, Akita 010-8543, Japan  
Tel: +81-18-884-6116  
Fax: +81-18-836-2613  
E-mail: kakihiro@doc.med.akita-u.ac.jp

\*令和 6 年 2 月 19 日 秋田医学会学術賞受賞記念講演

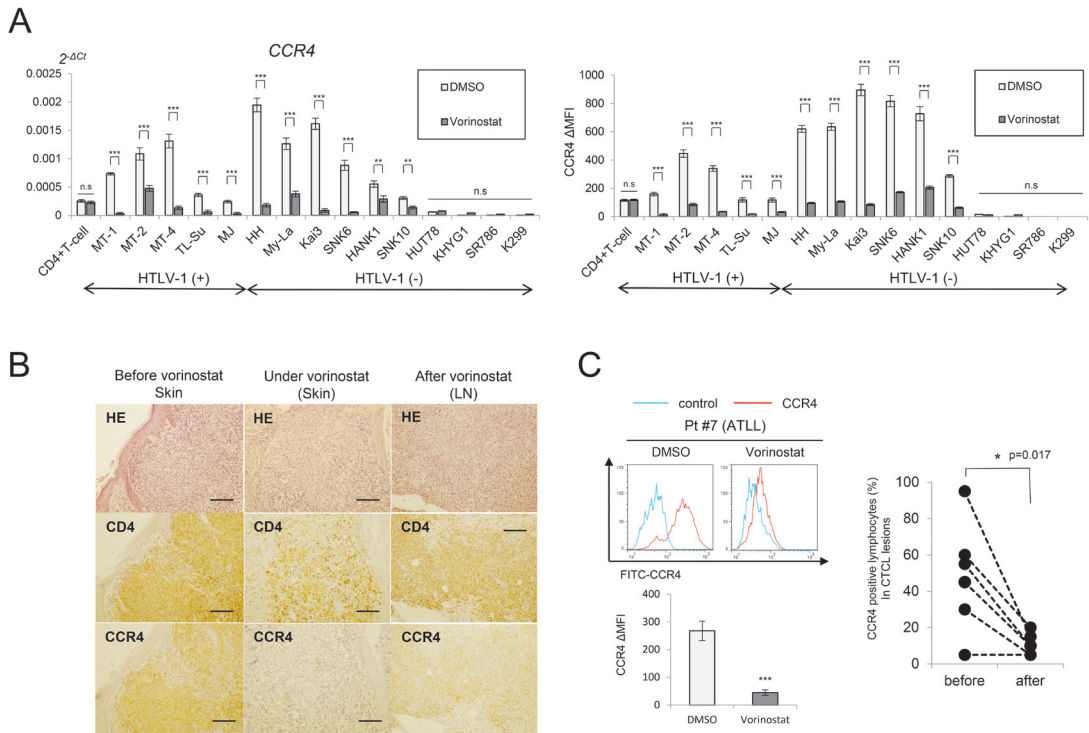


図1. T細胞リンパ腫においてHDAC阻害剤はCCR4を低下させる  
 A) T細胞リンパ腫細胞株にHDAC阻害剤ボリノスタットを暴露させてCCR4の発現をPCR、フローサイトメトリーで評価した。HTLV-1感染に関係なく、ボリノスタットはCCR4の発現を低下させた。  
 B) 皮膚T細胞リンパ腫患者における、ボリノスタット投与前後のCCR4発現評価。ボリノスタット投与によりCCR4の発現が低下している。  
 C) T細胞リンパ腫患者検体を用いたex vivo assay。ボリノスタット投与によるCCR4発現低下をフローサイトメトリー法で確認した。また、T細胞リンパ腫6症例において、ボリノスタット投与前後のCCR4発現を評価し、投与後の発現が有意に低下することを確認した。  
 (文献5より引用改変)

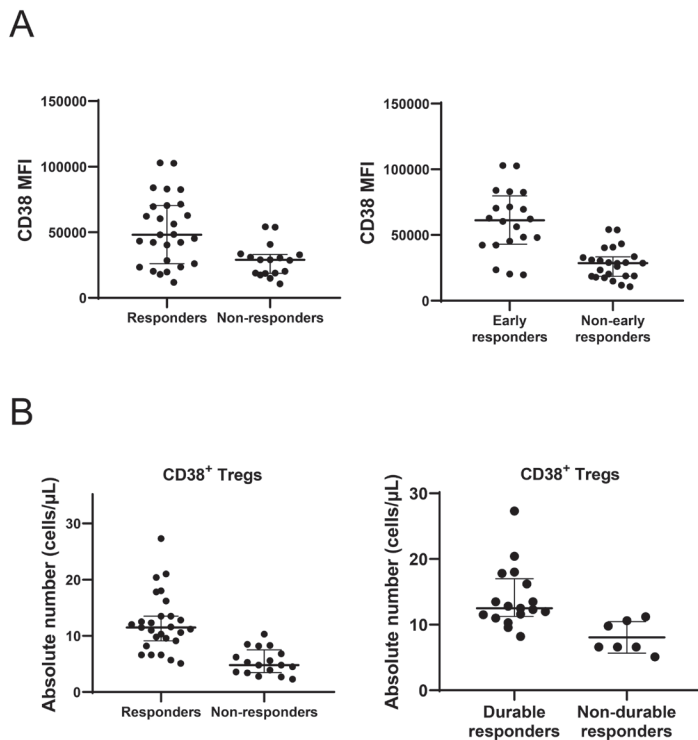


図2. 抗CD38抗体治療における骨髄腫CD38発現とCD38陽性Tregの奏功との関連  
 A) マルチカラーフローサイトメトリーにて測定した骨髄腫CD38発現(MFI:mean fluorescence intensity)と奏功との関連。特に治療後早期の奏功と関連する。  
 B) 末梢血に存在するCD38陽性Tregと奏功との関連。TregはCD4+CD25+CD127dimの集団として同定した。治療前のCD38陽性Tregは特に治療後後期も持続する奏功と関連する。  
 (文献6より引用改変)

リノスタットがT細胞リンパ腫細胞のmiR-16発現を回復させ、miR-16導入と同様にアポトーシス・細胞老化を誘導することを報告した<sup>3)</sup>。これらの知見は、悪性リンパ腫におけるHDACの本質的な作用が、がん抑制的miRNAの発現抑制にある可能性を示唆しているものと思われ、HDAC阻害剤によるmiRNAの発現変動について検討したところ、HDAC阻害剤は種々のがん抑制的miRNAの発現回復を誘導することを明らかにした<sup>4)</sup>。このうち、特にHDAC阻害剤はがん抑制的miRNAであるmiR-150の発現回復を介して、ケモカインレセプターであるCCR6を標的として転移浸潤抑制に関与することを明らかにした<sup>4)</sup>。T細胞リンパ腫においては、HDAC阻害剤以外にも新たな新規薬剤の登場が続いており、中でも抗CCR4抗体モガムリズマブは本邦で開発された薬剤である。HDAC阻害剤がCCR6を低下させることから、CCR4への影響を探索したところHDAC阻害剤はT細胞リンパ腫細胞株においてCCR4の発現を顕著に低下させ、モガムリズマブの作用を減弱することを見出した(図1A)<sup>5)</sup>。実際HDAC阻害剤投与中に再発した症例でもCCR4発現の低下を確認することができている(図1BC)。少なくともHDAC阻害剤と抗CCR4抗体の併用は推奨されず、HDAC阻害剤投与直後の抗CCR4抗体も、筆者らの知見からは推奨されないと考えられた。様々な治療選択肢がある中で、どの薬剤を先に用いるべきかは重要な臨床上の課題であるが、T細胞リンパ腫の治療シークエンスに影響を与える報告であったと考えている。

### 多発性骨髄腫における抗CD38抗体とCD38発現

多発性骨髄腫は形質細胞をカウンターパートとする造血器悪性腫瘍である。以前は治癒不能な予後不良疾患とされ、平均生存期間3年程度であったが、プロテアソーム阻害剤やサリドマイド・レナリドミドなどの免疫調節薬が登場しその予後は大幅に向上した。近年さらにその予後を飛躍的に向上させた薬剤として抗CD38抗体が挙げられる。2017年に再発難治性骨髄腫に対する治療薬として登場した抗CD38抗体ダラツムマブは、その治療効果から現在では初発例に対する推奨治療に位置づけられるようになってきた。抗CD38抗体登場時、多くの再発難治症例にダラツムマブを投与する中で、切れ味よく速やかに奏功した症例、ゆっくりと奏功した症例、速やかに奏功したのにすぐ再燃した症例、それほど難治の経過でもないのに全く奏功しない症例など多彩な奏功パターンを示すことに着目した。CD38は形質細胞に強発現するマーカーであり、当然ダラツムマブの作用機序として骨髄腫細胞に発現するCD38を標的とした抗体依存性の殺細胞作用が想定されていたが、一方でCD38陽性の免疫抑制細胞、特に制御性T細胞(Treg)を標的にして免疫調整作用を有することも知られていた。ダラツムマブ投与症例の骨髄腫CD38発現、末梢血に存在するCD38陽性Tregの絶対数と奏功との関連を比較したところ、いずれもresponseと有意な相関をとることを見出した。投与後の速やかな奏功(early response)は骨髄腫のCD38発現と、長期に持続する奏功(durable response)は免疫調整作用を反映して末梢血に存在するCD38陽性Tregの数とそれぞれ有意な相関を示すことを見出した(図2)<sup>6)</sup>。これらの知見はダラツムマブが、腫瘍細胞を直接標的とした殺細胞作用と、免疫抑制細胞を標的とした免疫調整作用を確かに臨床でも発動していることを支持するデータであると考えられる。次の疑問として、CD38発現の

不均一性は何によってもたらせるのかということであった。骨髄腫において、CD38発現は均一かつ強発現していることから、抗CD38抗体の開発が進んだわけであるが、CD38発現がresponse markerであることは、実際には強発現している症例と発現の弱い症例に分けられるということを示唆している。CD38発現と臨床背景との検討で最初に見出したのは腫瘍細胞の形態との関連であった。骨髄腫は形質細胞をカウンターパートとする腫瘍であり、当然多くの症例は形質細胞様の形態をとるが、一部の症例では成熟リンパ球あるいはリンパ形質細胞様の未熟な形態をとることが知られている。このような症例において、CD38発現が顕著に低いことを見出した(図3A)。古くから、このようなリンパ形質細胞様形態と(11;14)転座が関連することが知られており、確かにリンパ形質細胞様形態を呈する症例は(11;14)転座のみであることが確認でき、(11;14)転座例においてもCD38発現は有意に低いことを確認した(図3B)。形態的に未熟であることから、分化段階との関連を疑い、形質細胞分化マーカーであるCD138との関連を検討したところ、CD38とCD138は有意な正の相関をとることが確認でき(図3C)、これらの結果は骨髄腫におけるCD38発現が分化段階の影響を受けていることを強く示唆するものと考えられた<sup>7)</sup>。

BCL2阻害剤であるベネトクラクスは、種々の血液腫瘍で臨床応用が進んでおり、急性骨髄性白血病に対しては初発治療の推奨薬に位置づけられるようになった。骨髄腫においても臨床開発が進んでいたが、どういふわけかベネトクラクスが有効性を示すのは(11;14)転座を有する症例のみであることが臨床的に明らかになってきていた。(11;14)転座を有する症例でBCL2依存性が高いことがその理由であったが、我々の検討でCD38発現とBCL2依存性が負の相関関係にあることを見出した。特に、BCL2阻害剤の最も良好なresponse markerでありBCL2依存性を反映するBCL2/BCL2L1比がCD38発現と負の相関関係にあることを見出した(図3D)。さらに細胞株を用いた実験で、骨髄腫細胞を分化させる作用を有する全トランス型レチノイン酸(ATRA)を暴露させるとBCL2/BCL2L1比が低下しBCL2阻害剤の感受性が低下することを見出した(図3E)。多発性骨髄腫におけるprecision medicineの発展において有用な知見であると考えている。

### 悪性リンパ腫における予後予測因子としてのPETCT

悪性リンパ腫は多種多様なsubtypeに分類され、さらにsubtypeの中でも遺伝子変異などにより層別化される。近年の分子遺伝学的手法の進歩により、遺伝子変異の特徴により悪性リンパ腫の予後予測・層別化治療が進みつつある。Subtype毎に特徴的な染色体異常や遺伝子変異を呈するB細胞性リンパ腫でこのような試みが進歩する一方で、特徴的な染色体異常・遺伝子異常に乏しいT細胞性リンパ腫ではこのような分子生物学的手法によるアプローチが必ずしもうまくいってはいない。また、網羅的遺伝子変異解析を日常臨床で行うには現在も至っておらず、臨床現場での適応にはまだまだ時間を要すると思われる。

このような中で、筆者らは臨床的視点からPETCTによる予後予測に焦点をあて研究を進めてきた。PET-CTにおける半定量的指標としてStandardized uptake value (SUV)が広く知られているが、通常はその最大値maximal value of standardized

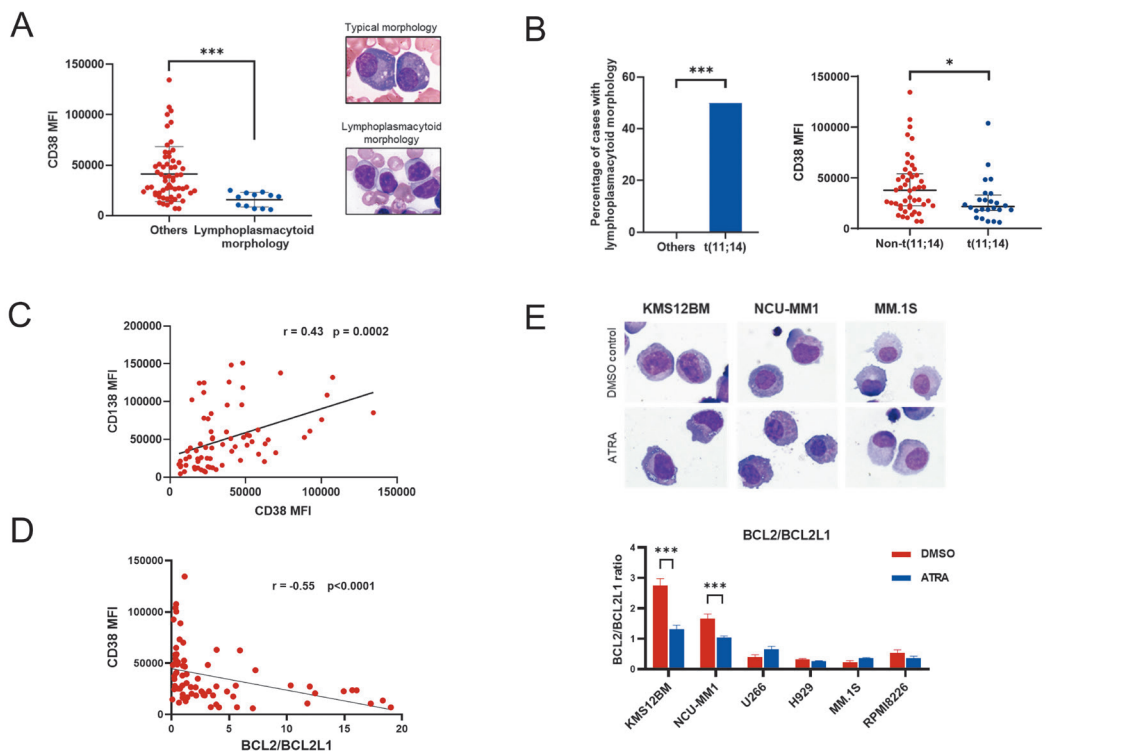


図3. 多発性骨髄腫において CD38 発現は分化段階の影響を受け BCL2 依存性と関連する  
 A) リンパ質細胞様の未熟な形態を呈する骨髄腫では CD38 発現が顕著に低下している。  
 B) リンパ質細胞様形態は (11;14) 転座例のみに認められ、(11;14) 転座例では CD38 発現が有意に低い。  
 C) 形質細胞分化マーカーである CD138 発現は CD38 発現と有意な正の相関を認める。  
 D) BCL2 依存性の指標である BCL2/BCL2L1 比は CD38 発現と有意な負の相関を認める。  
 E) 骨髄腫細胞株 (KMS12BM, NCU-MM1, MM.1S) に ATRA を暴露させると分化が誘導される。分化した骨髄腫細胞株は BCL2 依存性が低下する。  
 (文献 7 より引用改変)

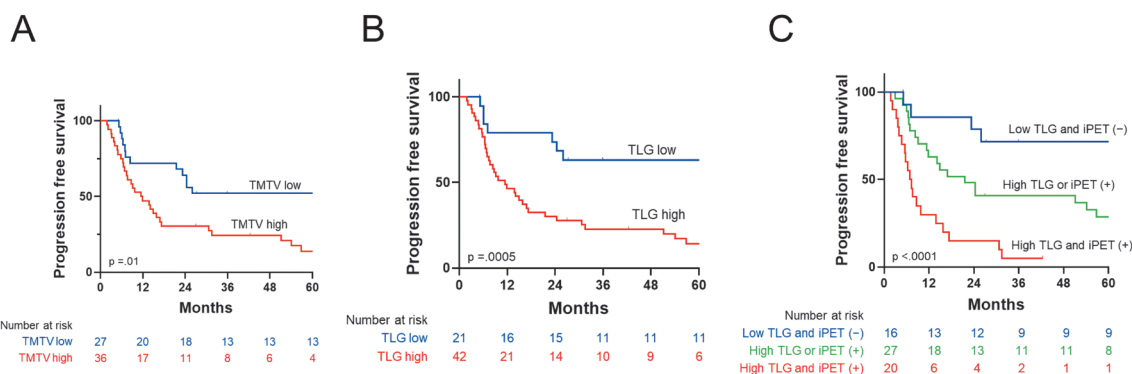


図4. T細胞リンパ腫において TMTV・TLG は予後予測因子となる  
 A) T細胞リンパ腫患者において治療前の TMTV・TLG は予後予測因子となる。  
 B) 化学療法中間時点の PETCT (interim PET : iPET) による評価と治療前の TLG を組み合わせることで、T細胞リンパ腫患者の予後をより正確に予測できる。  
 (文献 8 より引用改変)

uptake value (SUVmax) がしばしば臨床で用いられている。しかし、SUVmax は、その値をとる領域の多寡を反映していないため、SUVmax のみで悪性腫瘍における活動性病変の広がりや治療後の残存病変の程度を正確に反映することは困難であった。そこで、腫瘍の大きさ・広がりを反映する容積の指標である

metabolic tumor volume (MTV), total lesion glycolysis (TLG) など PETCT を用いて腫瘍体積を評価する指標に着目し予後との関連を検討した。

T細胞リンパ腫において診断時の SUVmax は予後に相関を認めない一方で、TMTV・TLG はいずれも予後との相関を認め特

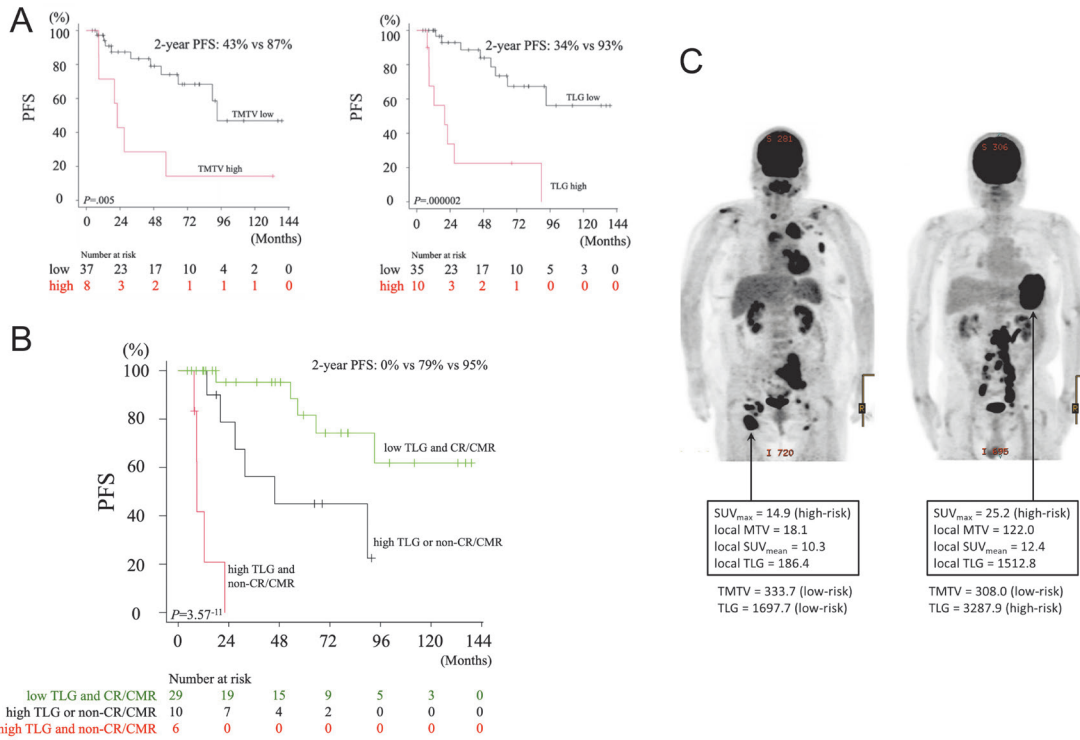


図5. 濾胞性リンパ腫において治療前の TLG は予後予測因子となる。  
 A) 濾胞性リンパ腫において、治療前の TMTV・TLG は予後予測因子となる。  
 B) 治療終了時の評価と治療前 TLG を組み合わせることで、濾胞性リンパ腫患者の予後をより正確に予測できる。  
 C) MTV・TLG 測定例。TMTV に大きな差がない一方で、SUV に差があるため TLG で大きな差が出る。TMTV より TLG がより有用な予後予測マーカーとなる一因であると考えられる。  
 (文献9より引用改変)

に TLG が強く予後と相関することを見出した (図 4AB)。これに治療効果を反映する化学療法中間時点での PETCT (interim PET) を組み合わせることで、標準的化学療法である CHOP 療法を行った際の予後を正確に予測できることを報告した (図 4C)<sup>8)</sup>。診断時の TLG が高値で治療効果も十分でなく中間 PET 陽性になる症例は、通常の化学療法での生存率が極めて低く、より強度の高い治療や新規薬剤を用いた治療に移行することを考慮する必要がある。また、濾胞性リンパ腫においても TLG が予後と相関することを見出し (図 5A)、治療効果と組み合わせた予後予測を提唱した (図 5B)<sup>9)</sup>。MTV が単に腫瘍体積を表すマーカーである一方で、TLG は MTX に SUVmean を乗じた値であり、これにより代謝活性を示す腫瘍体積を定量化できているため、より予後の層別化に有用であるものと考えられる (図 5C)。

おわりに

造血器腫瘍領域においては新規薬剤が次々と登場してくるが、その作用機序が十分明らかでないものもある。また開発段階で想定した作用機序とは異なる作用機序が実臨床において重要であることもあるだろう。新規薬剤を我々臨床医が最大限活用し正しく用いるためには、その作用機序を明らかにすることが必要だと考える。さらに、全ての症例に新規薬剤導入が必要なわけではなく、リスクベネフィットを考慮した上で治療戦略を考慮する必要がある。現在の標準治療で治療可能な症例に新規治療戦略が必要な訳

ではなく、現在の治療で予後不良な集団を同定する必要があり、この点において予後予測因子の探索は今後も必要であろう。真に実臨床で有用な新規知見を見出すことを目標に、今後も薬剤の作用機序解明・バイオマーカー探索に尽力していきたい。

謝 辞

これらの研究を遂行するにあたり、基礎研究をご指導いただきました秋田大学第三内科 田川博之先生、臨床研究をご指導いただいた亀田総合病院 血液腫瘍内科 末永孝生先生に深く感謝いたします。そして、日頃よりお世話になっております第三内科高橋直人教授はじめ医局の先生方、多くの実験のサポートを頂きました技術系補佐員の皆さま、本研究にご協力を頂きました全ての方々に深く感謝いたします。

文 献

- 1) Ito M, Teshima K, Ikeda S, Kitadate A, Watanabe A, Nara M, Yamashita J, Ohshima K, Sawada K, Tagawa H. MicroRNA-150 inhibits tumor invasion and metastasis by targeting the chemokine receptor CCR6 in advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* **123**:1499-1511, 2014.
- 2) Watanabe A, Tagawa H, Yamashita J, Teshima K, Nara M, Iwamoto K, Kume M, Kameoka Y, Takahashi N, Nakagawa T, Shimizu N, Sawada K. The role of microRNA-150

- as a tumor suppressor in malignant lymphoma. *Leukemia* **25**:1324-1334, 2011.
- 3) Kitadate A, Ikeda S, Teshima K, Ito M, Toyota I, Hasunuma N, Takahashi N, Miyagaki T, Sugaya M, Tagawa H. MicroRNA-16 mediates the regulation of a senescence-apoptosis switch in cutaneous T-cell and other non-Hodgkin lymphomas. *Oncogene* **35**:3692-3704, 2016.
  - 4) Abe F, Kitadate A, Ikeda S, *et al.* Histone deacetylase inhibitors inhibit metastasis by restoring a tumor suppressive microRNA-150 in advanced cutaneous T-cell lymphoma. *Oncotarget* **8**:7572-7585, 2017.
  - 5) Kitadate A, Ikeda S, Abe F, Takahashi N, Shimizu N, Matsue K, Tagawa H. Histone deacetylase inhibitors down-regulate CCR4 expression and decrease mogamulizumab efficacy in CCR4-positive mature T-cell lymphomas. *Haematologica* **103**:126-135, 2018.
  - 6) Kitadate A, Kobayashi H, Abe Y, Narita K, Miura D, Takeuchi M, Matsue K. Pre-treatment CD38-positive regulatory T cells affect the durable response to daratumumab in relapsed/refractory multiple myeloma patients. *Haematologica* **105**:e37-e40, 2020.
  - 7) Kitadate A, Terao T, Narita K, Ikeda S, Takahashi Y, Tsushima T, Miura D, Takeuchi M, Takahashi N, Matsue K. Multiple myeloma with t (11;14)-associated immature phenotype has lower CD38 expression and higher BCL2 dependence. *Cancer Sci* **112**:3645-3654, 2021.
  - 8) Kitadate A, Narita K, Fukumoto K, *et al.* Baseline total lesion glycolysis combined with interim positron emission tomography-computed tomography is a robust predictor of outcome in patients with peripheral T-cell lymphoma. *Cancer Med* **9**:5509-5518, 2020.
  - 9) Kuroki W, Kitadate A, Ishiyama K, Kameoka Y, Takahashi N. High baseline total lesion glycolysis predicts early progression of disease within 24 months in patients with high-tumor-burden follicular lymphoma. *Int J Hematol* **116**:712-722, 2022.