

200615002A

別紙1

厚生労働科学研究研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進研究事業

WT1癌抗原ペプチドを用いた癌の免疫療法の開発に関する研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 杉山 治夫

平成19 (2007) 年 4月

目 次

I. 総括研究報告		
WT1癌抗原ペプチドを用いた癌の免疫療法の開発	-----	1
杉山 治夫		
II. 分担研究報告		
1. 肺癌に対する免疫療法	-----	4
川瀬 一郎		
2. 乳癌に対する免疫療法	-----	5
野口 眞三郎		
3. 肺癌に対する免疫療法	-----	7
奥村 明之進		
4. 消化器癌に対する免疫療法	-----	8
門田 守人		
5. 婦人科癌に対する免疫療法	-----	9
木村 正		
6. 泌尿器癌に対する免疫療法	-----	10
奥山 明彦		
7. 骨・軟部腫瘍に対する免疫療法	-----	11
吉川 秀樹		
8. 脳腫瘍に対する免疫療法	-----	14
吉峰 俊樹		
9. 眼科領域腫瘍に対する免疫療法	-----	15
田野 保雄		
10. 咽頭喉頭癌に対する免疫療法	-----	17
久保 武		
11. 皮膚癌に対する免疫療法	-----	18
片山 一朗		
12. 神経芽細胞腫に対する免疫療法	-----	19
福澤 正洋		
13. 小児造血器腫瘍および小児悪性固形腫瘍	-----	20
大藪 恵一		
14. 画像診断による免疫療法の効果判定	-----	21
中村 仁信		
15. PETを用いた免疫療法の効果判定	-----	22
畑澤 順		
16. 三次元画像診断を用いた免疫療法の効果判定	-----	23
上甲 剛		
17. WT1発現の病理診断	-----	25
青笹 克之		
18. 研究者主導型臨床試験におけるPhaseI, PhaseII研究の企画、運営、管理	---	26
坂本 純一		
19. 統計解析	-----	27
森田 智視		
20. 泌尿器癌に対する免疫療法	-----	28
藤岡 知昭		
21. 固形癌でのWT1発現解析	-----	29
一迫 玲		

22. 造血器悪性腫瘍に対する免疫療法	30
高橋 益廣	
23. 婦人科癌に対する免疫療法	31
井上 正樹	
24. 消化器癌に対する免疫療法	32
本間 定	
25. 造血器悪性腫瘍に対する免疫療法	33
恵美 宣彦	
26. 悪性リンパ腫、白血病、難治性消化器腫瘍に対する免疫療法	34
木藤 克之	
27. 乳癌に対する免疫療法	35
塚本 文音	
28. 乳癌に対する免疫療法	36
増田 慎三	
29. 泌尿器癌に対する免疫療法	37
三木 恒治	
30. WT1エピトープの同定	38
安川 正貴	
31. 脳腫瘍に対する免疫療法	41
大西 丘倫	
32. 悪性腫瘍に対する免疫療法	42
宇高 恵子	
33. 血液腫瘍に対する免疫療法	43
塚田 順一	
34. 泌尿器癌に対する免疫療法	44
内藤 誠二	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	45

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

総括研究報告書

WT1 癌抗原ペプチドを用いた癌の免疫療法の開発に関する研究

主任研究者 杉山 治夫 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨: 改変型 WT1 ペプチド 3.0mg/body をモンタナイドアジュバントとともに毎週 1 回、計 12 回投与するという WT1 ペプチドワクチン療法の安全性と有効性を評価するための第 I / II 相臨床研究を行った。現在まで、白血病や固形癌患者計 144 名に本免疫療法を施行した。第 I 相部分の安全性については、すでに安全であることが確認されている(JJCR,2006)。臨床効果については、再発グリオブラストーマ 19 例中、PR2 例、SD9 例、PD8 例で、病勢コントロール率は 57.9%であった。また多発性骨髄腫 4 例中 3 例で臨床効果が見られ、本免疫療法が十分なポテンシャルを持つことが明確になってきた。

分担研究者
川瀬 一郎
大阪大学
野口 眞三郎
大阪大学
奥村 明之進
大阪大学
門田 守人
大阪大学
木村 正
大阪大学
奥山 明彦
大阪大学
吉川 秀樹
大阪大学
吉峰 俊樹
大阪大学
田野 保雄
大阪大学
久保 武
大阪大学
片山 一朗
大阪大学
福澤 正洋
大阪大学
大藪 恵一
大阪大学
中村 仁信
大阪大学
畑澤 順
大阪大学
上甲 剛
大阪大学
青笹 克之
大阪大学
坂本 純一
名古屋大学

岩手医科大学
藤岡 知昭
名古屋大学
一迫 玲
東北大学
高橋 益廣
新潟大学
井上 正樹
金沢大学
本間 定
東京慈恵医科大学
恵美 宣彦
藤田保健衛生大学
木藤 克之
滋賀医科大学
塚本 文音
厚生年金病院
増田 慎三
大阪医療センター
三木 恒治
京都府立医科大学
安川 正貴
愛媛大学
大西 丘倫
愛媛大学
宇高 恵子
高知大学
塚田 順一
産業医科大学
内藤 誠二
九州大学

A. 研究目的
改変型 WT1 ペプチド(CYTWNQMNL) 3.0 mg / body、毎週 1 回、計 12 回の投与の安

全性(第 I 相)と有効性(第 II 相)を明らかにすること

B. 研究方法

- (1) WT1 を発現している白血病及び固形癌
- (2) HLA-A*2402
- (3) 年齢 16-80 才
- (4) PS 0-1
- (5) 他に治療法がないか、本人が希望した患者に対して改変型 WT1 ペプチドを Montanide ISA51 アジュバントとともに 3.0 mg / body、週 1 回、計 12 回、皮内注射した。

(倫理面への配慮)

本臨床試験は、各実施施設の医学倫理委員会の承認のもとで行なわれ、原則的には、他に治療法がない末期癌の患者を対象にして、かつ十分なインフォームドコンセントのもとに行なわれた。

C. 研究結果

WT1 ペプチドを用いた癌の免疫療法の第 I / II 相臨床研究

最初に行った第 I 相臨床研究では、WT1 ペプチドを 2 週間毎に投与していたが、本臨床研究では WT1 免疫能を高めるため、改変型 WT1 ペプチド(天然型よりも免疫誘導能が強い)を、3 mg / body、毎週 1 回、計 12 回投与し、安全性(第 I 相部分)と臨床効果(第 II 相部分)を評価した。現在までのところ計 144 名の癌患者(白血病 8 人、多発性骨髄腫 5 人、悪性リンパ腫 1 人、肺癌 9 人、胸腺癌 1 人、悪性中皮腫 2 人、中継隔悪性腫瘍 1 人、大腸癌 16 人、膀胱癌 2 人、食道癌 1 人、胃癌 4 人、肝癌 1 人、小腸癌 1 人、胆のう癌 2 人、軟部腫瘍・肉腫 11 人、乳癌 13 人、甲状腺癌 2 人、脳腫瘍 36 人、子宮癌 3 人、子宮平滑筋肉腫 1 人、卵巣癌 4 人、卵管癌肉腫 2 人、腎癌 5 人、前立腺癌 3 人、腎盂尿管癌 1 人、悪性黒色腫 2 人、口腔底癌 2 人、舌癌 1 人、咽頭癌 2 人、顎下腺癌 1 人、脊椎腫瘍 1 人)に WT1 ワクチンを投与し、副作用及び有効性を解析した。最初の 10 例の適格症例について、第 I 相部分の治療開始 4 週間以内の毒性について解析したところ、重篤な毒性は見られず、本プロトコールの安全性が確認された(JJOC, 2006)。また 10 例中、PR が 1 例、SD が 5 例観察され、末期の癌患者に対する WT1 免疫療法の有効性が示された。この結果にもとづき、本プロトコールによる第 I 相臨床研究を終了し、個別の癌腫に対する有効性を評価する第 II 相臨床研究に移行し、現在に至っている。

癌種毎の臨床効果について、症例数が最多の悪性脳腫瘍について解析したところ、再発グリオブラストーマ 19 例中 PR 2 例、SD 9

例(このうち 2 例はその後腫瘍が縮小)、PD 8 例(このうち 3 例はその後 SD)であり、病勢コントロール率は 57.9%であった。現在の治療の modality はまだ最適化されておらず、そのため WT1 特異的免疫応答はまだ不十分で、CR が出なかったと考えられる。その他の癌腫では、まだ症例数がたらず統計的解析はできないが、食道癌の一例では著明な臨床的効果が見られた。また、多発性骨髄腫 4 例に WT1 免疫療法を施行したところ、4 例とも重大な副作用がなく、3 例に臨床効果(MR 1 例、NC 2 例)が見られた。

D. 考察

①より強力なアジュバントを使う(現在使用中のモンタナイドアジュバントは Freund Incomplete Adjuvant であり、そのためアジュバント効果は非常に弱い)②癌に対する免疫応答を抑制している Treg などを除去する能力のある薬剤(ゲムシタピンなど)を併用する③WT1 特異的ヘルパー T 細胞を増加させるために、HLA クラス II 拘束性 WT1 ペプチド(すでに同定済み)を併用するなどにより、WT1 免疫能を高め、臨床効果を高めた新しい WT1 免疫療法の臨床研究を同一プロトコールを用いた大規模な全国共同臨床研究として行ない、癌種毎の有用性を明確にするとともに、本免疫療法の長所と弱点を明らかにすることで、さらに有用な WT1 免疫療法の開発につなげる。

E. 結論

改変型 WT1 ペプチドを用いた癌の免疫療法の安全性と有効性を明らかにするために、第 I / II 相臨床試験を行った。その結果、本治療法の安全性(第 I 相臨床試験)は確認された。現在までに、白血病や固形癌患者、計 144 名に WT1 ペプチドワクチンが投与された。臨床的有効性については、進行癌に対する臨床効果としては、十分なものであると考えられた。特にグリオブラストーマに対する臨床効果が顕著であった。多発性骨髄腫では、4 例中 3 例に臨床効果が見られた。免疫学的効果については、CD45RA⁺ CD27⁺ CCR7⁺ phenotype をもった WT1 特異的 CTL の増加と臨床効果の発現に相関が見られた。

F. 健康危険情報

1 年以上にわたり、WT1 ペプチドワクチンを継続投与していた AML の 1 例が、34 回目の WT1 ワクチン投与後、間質性肺炎を起こしたが、ステロイドの投与で軽快した。本患者は Sweet 病をもっており、重度のアレルギー患者には、免疫能の上昇とともに本件のような有害事象が出現する可能性を念頭におく必要がある。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Morita S, Oka Y., Tsuboi A, Kawakami M, Maruno M, Izumoto S, Osaki T, Taguchi T, Ueda T, Myoui A, Nishida S, Shirakata T, Ohno S, Oji Y, Aozasa K, Hatazawa J, Udaka K, Yoshikawa H, Yoshimine T, Noguchi S, Kawase I, Nakatsuka S, Sugiyama H, Sakamoto J. A Phase I/II Trial of a WT1 (Wilms' Tumor Gene) Peptide Vaccine in Patients with Solid Malignancy: Safety Assessment Based on the Phase I Data. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 36: 231-236, 2006.
2. Fujiki F, Oka Y, Tsuboi A, Kawakami M, Nakajima H, Elisseeva OA, Harada Y, Ito K, Li Z, Tatsumi N, Sakaguchi N, Fujioka T, Masuda T, Yasukawa M, Udaka K, Oji Y, Sugiyama H. Identification and characterization of a WT1 (Wilms' tumor gene) protein-derived HLA-DRB1*0405 - restricted 16-mer helper peptide that promotes the induction and activation of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Immunother*, in press.

2. 学会発表

1. 杉山治夫:「ペプチドが拓く健康科学の新しい世界 抗ガンペプチド」、第60回日本栄養食糧学会、静岡、2006年5月20日
2. 泉本修一、香川尚己、橋本直哉、丸野元彦、川上学、尾路祐介、坪井昭博、岡芳弘、森田智視、坂本純一、杉山治夫、吉峰俊樹: WT1 ペプチドを用いた再発・難治性膠芽腫に対する免疫療法、第65回日本癌学会学術総会、横浜、2006年9月28日
3. 岡芳弘、Olga Elisseeva、長谷浩志、川上学、西田純幸、白方俊章、原田ゆきえ、中島博子、李哲雨、藤木文博、尾路祐介、川瀬一郎、坪井昭博、杉山治夫: WT1 ペプチド癌ワクチン投与患者末梢血中の WT1 特異的 CTL の解析、第68回日本血液学会総会・第48回日本臨床血液学会総会合同総会、福岡、2006年10月7日
4. 川上学、坪井昭博、西田純幸、白方俊章、原田ゆきえ、中島博子、藤木文博、李哲雨、Olga Elisseeva、尾路祐介、古川佳央、林孝昌、岡芳弘、杉山治夫: 骨髄異形成症候群 (MDS) に対する少量 WT1 ペプチド療法、第68回日本血液学会総会・第48回日本臨床血液学会総会合同総会、福岡、2006年10月7日
5. 坪井昭博、岡芳弘、中島博子、福

田陽子、川上学、OLGA ELISSEEVA、安川正貴、宇高恵子、木藤克之、杉山治夫: 多発性骨髄腫を対象とした WT1 ワクチン療法、第68回日本血液学会総会・第48回日本臨床血液学会総会合同総会、福岡、2006年10月8日

6. 岡芳弘、泉本修一、坪井昭博、香川尚己、鈴木強、橋本直哉、丸野元彦、川上学、西田純幸、白方俊章、中島博子、エリセーバオリガ、原田ゆきえ、藤木文博、李哲雨、尾路祐介、森田智視、坂本純一、吉峰俊樹、杉山治夫: WT1 ペプチドワクチンによる膠芽腫に対する癌免疫療法、第19回日本バイオセラピー学会、福岡、2006年11月30日
7. 米田光宏、奈良啓悟、尾路祐介、杉山治夫: 神経芽腫における WT1 免疫療法の可能性と問題、第19回日本バイオセラピー学会、福岡、2006年11月30日

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

肺癌に対する免疫療法

分担研究者 川瀬 一郎 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:WT1 ワクチン治療の対象となった胸部悪性腫瘍において免疫学的な解析を行った。検討症例数が少ないため、臨床効果と末梢血におけるWT1 特異的な CTL の頻度に一定の相関は明らかでなかった。

A. 研究目的

WT1 遺伝子ワクチン療法の臨床第 I, II 相試験における呼吸器悪性腫瘍症例について免疫学的な解析をおこなった。

B. 研究方法

HLA-A2402 でかつ癌細胞に WT1 発現が陽性を示した 10 例について、WT1 特異的な CTL の頻度を測定した (倫理面への配慮)
大阪大学倫理委員会の承認のもとにインフォームドコンセントを十分に行なわれている。

C. 研究結果 Stable Disease や腫瘍マーカーの低下を示した症例において、tetramer assay を用いて末梢血における WT1 特異的な CTL の頻度を測定したが、その頻度は低く、また、一定の傾向は明らかでなかった。

D. 考察

末梢血における WT1 特異的 CTL の頻度は WT1 ペプチドワクチンのサロゲートマーカーとはならない可能性が示唆された。腫瘍部位に浸潤しているリンパ球の解析でないことがその原因である可能性がある。肺癌は癌組織を繰り返し採取することはできないため、臨床効果と相関するよいサロゲートマーカーの開発が今後の課題である。

E. 結論

WT1 ワクチン治療の対象となった胸部悪性腫瘍において免疫学的な解析を行ったが、臨床効果と末梢血における WT1 特異的な CTL の頻度に一定の相関を認めなかった。

F. 健康危険情報
特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

Development of WT1 peptide cancer vaccine against hematopoietic malignancies and solid cancers. Curr Med Chem. 2006; 13 (20): 2345-52.

A phase I/II trial of a WT1 (Wilms' tumor gene) peptide vaccine in patients with solid malignancy: safety assessment based on the phase I data. Jpn J Clin Oncol. 2006 Apr;36 (4):231-6.

Immunohistochemical detection of WT1 protein in a variety of cancer cells. Mod Pathol. 2006 Jun;19(6):804-14.

学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 無
2. 実用新案登録 無
3. その他

厚生労働科学研究費補助金（基礎研究成果の臨床応用推進研究事業）

分研究報告書

乳癌に対する免疫療法

分担研究者 野口 眞三郎 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨： これまでにWT1癌抗原ペプチドによる乳癌の免疫療法を進行再発乳癌11例と再発甲状腺未分化癌3例に施行した。13例が再発後に化学療法抵抗性となった乳癌あるいは甲状腺癌で、1例は原発進行乳癌に対しておこなった。結果：乳癌では1例でPartial Response、2例で6ヶ月以上のLong Stable Disease (LSD) が認められ、奏効率は9.1% (1/11)、Clinical Benefit Rate (CBR) は27.3% (3/11) であった。2例はStable Disease (SD)、6例はProgressive Disease (PD) であった。甲状腺未分化癌では、治療中の1例を除き、1例で17週間のSDとPerformance Status (PS) の著明な改善が認められ、もう1例は10週間のSDであった。全例にGrade3/4の治療関連有害事象を認めなかった。化学療法抵抗性の進行再発乳癌患者に対して本治療は安全で、治療活性を有すると考えられる。また、再発甲状腺未分化癌に対しても治療活性を有する可能性が示唆された。

A. 研究目的

WT1癌抗原ペプチドを用いた乳癌と甲状腺癌の免疫療法の安全性と有効性を確認することを目的とした。

B. 研究方法

腫瘍自体にWT1遺伝子の発現が認められ、かつ、HLA型がHLA-A*2402である標準治療に適応がない乳癌あるいは甲状腺癌患者において、WT1ペプチドを投与し、その安全性をCTCAE JCOG版、抗腫瘍効果をRECIST基準に基づき判定する。

(倫理面への配慮)

本臨床試験は大阪大学倫理審査委員会の承認を得て行われている。被験者の研究への参加は自由意思に基づき、被験者のプライバシーを保護すること等はプロトコールに明記されている。

C. 研究結果

Phase I study (PI)として2例、Phase I/II study (PI/II)として11例が登録された。PIでは治療関連のGrade3/4の有害事象はなく、乳癌の1例で肺転移の縮小(PR)、乳癌の1例で腸閉塞の改善とPSの著明改善(PS2から0へ)を認める6ヶ月以上の病状安定(Long SD)を

認めた。この結果、PI/IIに移行し、進行再発乳癌11例中2例でLong SDを認めた。3例の甲状腺未分化癌が登録され、治療中の1例を除く1例で頸部腫瘍の軽度縮小、17週間のSD、PSの著しい改善(PS=2が0に低下し、入院から外来治療に移行)を認めた。また、もう1例の甲状腺未分化癌症例では10週間のSDが得られた。治療に関連するGrade3/4の有害事象は認めなかった。投与期間の中央値は9週で最長107週間であった。

D. 考察

WT1癌抗原ペプチドを用いた乳癌の免疫療法は安全で、種々の標準的抗癌剤療法に抵抗性の転移再発乳癌にactiveな治療法と思われるが、検討症例数が未だ少なく、さらに症例を重ね安全性、有効性(有効率)、免疫反応の状況、病勢悪化までの期間、有効例と無効例のそれぞれの特徴などについて検討する必要があると考える。これらの検討が将来のPhase III studyや多剤併用療法の重要な参考資料になると思われる。甲状腺未分化癌では、本剤の投与経験が始まったばかりではあるが、従

来の治療では難治性できわめて進行速度の速い癌腫であることを考慮すると17週間と10週間の病状安定が得られたことは、今後症例を追加して検討する必要があると思われる。

E. 結論

WT1癌抗原ペプチドを用いた乳癌の免疫療法は安全で、種々の標準的抗癌剤療法に抵抗性の進行再発乳癌にも治療活性を有すると思われる。甲状腺未分化癌における臨床的有用性が存在する可能性を認めた。今後、症例を追加して検討を続ける必要がある。

F. 健康危険情報
特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

肺癌に対する免疫療法

分担研究者 奥村 明之進 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:末梢小型非小細胞肺癌における WT-1 の発現と臨床病理学的悪性度の検討

A. 研究目的

腫瘍径 2cm 以下の末梢小型非小細胞肺癌における WT1 の発現を明確にし、その発現と臨床病理学的なパラメーターとの相関を明らかにする。

予後因子となる可能性がある。

E. 結論

小型肺癌のほとんどすべてが WT1 を標的とした癌免疫療法の対象になりうる。

B. 研究方法

腫瘍径 2cm 以下の末梢小型非小細胞肺癌切除組織を用いて WT1 の発現を免疫組織化学または real-time RT-PCR 法により解析する。さらにこれらの発現と組織型、リンパ節転移の有無、予後との相関を調べる。

(倫理面への配慮)

患者プライバシーに十分配慮し、個人情報管理を厳格に行う。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

未

2. 学会発表

未

C. 研究結果

免疫組織化学で解析した小型肺癌の 90% 以上で、WT1 の発現を認めた。また、WT1 mRNA 発現レベルの高い症例で予後不良な傾向がみられた。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無

2. 実用新案登録

無

3. その他

D. 考察

小型肺癌のほとんどすべてが WT1 を標的とした癌免疫療法の対象になりうる事が明らかになった。また、WT1 mRNA 発現レベルが

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

消化器癌に対する免疫療法

分担研究者 門田 守人 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:18年度は消化器癌症例1例(大腸癌1例)に対してWT-1ペプチドを投与した。副作用はGrade1の投与部発赤のみであった。臨床効果としては、大腸癌の1例では、長期SDののちPDであった

A. 研究目的

消化器癌症例に対するWT-1ペプチド投与の安全性を見る。同時に臨床効果を見る。

B. 研究方法

ペプチド3mgをモンタナイドアジュバントとともに、毎週1回、計12回皮内注射する。

(倫理面への配慮)

十分なインフォームドコンセントを取得後、投与した。

C. 研究結果

重篤な有害事象はまったくなかった。臨床効果は、大腸癌の1例でSDの後、PDに至った症例を見た。

D. 考察

WT1ペプチドの投与は安全であると思われる。

E. 結論

WT1ペプチドの投与は安全であると思われる。有効性に関しては、大腸癌の1例で長期SDの患者を経験した。

F. 健康危険情報

投与部の発赤は、予想範囲内である。

G. 研究発表

1. 論文発表
なし。
2. 学会発表
なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

婦人科癌に対する免疫療法

分担研究者 木村 正 大阪大学大学院医学系研究科 講師

研究要旨:WT-1 ペプチドワクチンの婦人科悪性腫瘍(子宮頸癌、子宮体癌、卵巣癌、卵管癌、子宮肉腫、腹膜癌など)に対する有効性の検討

A. 研究目的

WT-1 ペプチドワクチンの婦人科悪性腫瘍に対する有効性の検討

B. 研究方法

再発し、標準的治療法をすべて終了した予後不良患者で、測定可能病変を持つものにプロトコールに従い WT-1 ペプチドワクチンを投与した。

(倫理面への配慮)

自由意志に基づいて、統一されたインフォームドコンセントを得ている。

C. 研究結果

2004～6 年度に婦人科悪性腫瘍患者合計 10 例に投与し、8 例は PD であった。他の 2 例は、現在投与中である。

D. 考察

全例有意な副作用は見られず、本治療法の安全性が確認できた。

E. 結論

WT-1 ペプチドワクチンは、婦人科悪性腫瘍患者の再発に対し、安全性は高い。今後、有効性の検討が必要である。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

泌尿器癌に対する免疫療法

分担研究者 奥山 明彦 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:泌尿器科領域における WT1 ワクチン療法の有効性を、進行性腎癌3症例において検討した。71歳男性の1例ではそれまでの進行速度の低下を認めた。もう1例の54歳男性では今のところSDである。また、1例の女性は、施行後まだ3週間であるが、問題なく施行できている。

A. 研究目的

泌尿器科領域におけるWT1ワクチン療法の有効性に関する研究

B. 研究方法

71歳と54歳男性および54歳女性の進行性腎癌患者に対して行われたWT1ワクチン療法の有効性を RECIST に基づいて検討する。

(倫理面への配慮)

C. 研究結果

投与により、71歳男性ではそれまでの進行速度の低下を、また54歳男性では Stable disease を認めている。また、54歳女性では、施行後まだ3週間であるが、問題なく施行できている。

D. 考察

3例ともかなり進行した症例であったため、縮小には至っていない。さらに症例を重ねて検討したい

E. 結論

あまりにも進行した症例に対しては、本治療による縮小は得られなかった。

F. 健康危険情報

54歳の症例において投与間もない時期に一過性の腎機能障害が見られたが、その後増悪することなく回復した。

G. 研究発表

1. 論文発表

論文化せず。

2. 学会発表

学会発表せず。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

2. 実用新案登録

3. その他

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

骨・軟部腫瘍に対する免疫療法

分担研究者 吉川 秀樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:骨・軟部悪性腫瘍に対する WT1 癌抗原ペプチドを用いた腫瘍特異的免疫療法の応用

A. 研究目的

骨・軟部悪性腫瘍(肉腫)に対する WT1 遺伝子産物を分子標的とした腫瘍特異的免疫療法の有効性を検討すること。

B. 研究方法

我々は、種々の骨・軟部悪性腫瘍において正常軟部組織に比し WT1 遺伝子の過剰発現を高率に認める(36 例中 27 例(75%)) ことを明らかにし、免疫組織染色でも腫瘍細胞に WT1 蛋白の発現がみられることを確認した。本研究班長の杉山らが、HLA 拘束性に細胞傷害性 T 細胞を誘導し WT1 発現癌細胞を傷害する WT1 ペプチドを用いた腫瘍ワクチン療法を開発し平成 16 年 1 月より、「WT1 ペプチドを用いた悪性固形腫瘍に対する免疫療法の第 I/II 相臨床試験」(骨・軟部肉腫を含む)が本学医学倫理委員会の承認を経て本格的に開始された。本年度は、本臨床試験のエントリーを蓄積し、これまで難治性の疾患であった骨・軟部悪性腫瘍に対する新規の治療戦略である腫瘍特異的免疫療法の有用性につき評価・検討を行った。

(倫理面への配慮)

各患者に本臨床試験の概要につき十分説

明し文書による同意を得た上で、参加してもらっている。また臨床試験実施の際には、その安全性に十分配慮の上遂行している。

C. 研究結果

本臨床試験へのエントリーは 14 例に達した。このうち軟部肉腫が 12 例(PNET2 例、MFH2 例、DSRCT2 例、MPNST2 例、線維肉腫 1 例、横紋筋肉腫 1 例、明細胞肉腫 1 例、骨外性軟骨肉腫 1 例)、骨腫瘍が 2 例(淡明細胞軟骨肉腫 1 例、間葉性軟骨肉腫 1 例)であった。効果判定の結果は SD2 例、PD8 例、中止 2 例であった。進行例が多く、臨床的に WT1 ペプチド療法の有効性を明らかに示した症例は未だ認めていないが、治療開始後 24 ヶ月にわたって stable disease を維持している症例があり、本ワクチン療法の有効性が示唆された。また本療法に伴う重篤な有害事象はこれまでのところ認めていない。

D. 考察

高悪性度骨・軟部腫瘍の治療成績は、外科的療法に加え、化学療法・放射線療法併用による集学的治療の進歩により改善してきた。しかし依然、肺を中心に遠隔転移を来たし易く、予後良好とは言い難い。腫瘍

特異的免疫療法は患者への負担が少なく有効な治療手段と考えられるがまだ利用可能なものは限られている。今回我々は、WT1 遺伝子産物を標的とした、WT1 ペプチド腫瘍ワクチン療法を開発し骨軟部悪性腫瘍患者への臨床試験を開始した。臨床的に著効した症例は未だ認められないが、1 例では 24 ヶ月間 stable disease を維持できておりその有用性が示唆された。脳腫瘍や白血病・乳癌の一部にも有効例が見られることから、今後さらに症例を増やし(30 例を予定)、骨・軟部悪性腫瘍での有効例を探索・評価することにより、腫瘍特異的免疫療法の確立を目指したい。

E. 結論

- 1) 骨・軟部悪性腫瘍に対する WT1 ペプチドを用いた腫瘍特異的免疫療法の第 II 相臨床試験を継続施行した。
- 2) 現在まで、12 例の骨・軟部悪性腫瘍症例がエントリーされ、SD2 例、PD8 例、中止 2 例であった。安全性に関しては、皮内投与局所の発赤・腫脹を除き、重篤な有害事象は見られなかった。

F. 健康危険情報

大阪大学において、WT1 ペプチドを用いた白血病・肺がん・乳がんに対する腫瘍特異的免疫療法の第 I 相臨床試験が実施され、副作用等を含めた臨床データが集積されたが、WT1 ペプチド投与に伴う重篤な副作用はとくに認められなかった。さらに今回の第 II 相臨床試験においても、現時点で重篤な副作用は認めていない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hamada, K., Ueda, T., Tomita, Y., Yoshikawa, H., Hatazawa J.: Myoepithelioma of soft tissue originating from the hand: 18F-FDG PET features. *AJR American Journal of Roentgenology*, 186:270-271, 2006.
2. Hamada, K., Ueda, T., Tomita, Y., Higuchi, I., Inoue, A., Tamai, N., Myoui, A., Aozasa, K., Yoshikawa, H., Hatazawa J.: False positive (18)F-FDG PET in an ischial chondroblastoma; an analysis of glucose transporter 1 and hexokinase II expression. *Skeletal Radiology*, 35:306-310, 2006.
3. Hiraga, T., Myoui, A., Yoshikawa, H., Choi, M.E., Yoneda, T.: Stimulation of cyclooxygenase-2 expression by bone-derived transforming growth factor- β enhances bone metastases in breast cancer. *Cancer Research*, 66:2067-2073, 2006.
4. Joyama, S., Naka, N., Tsukamoto, Y., Yoshikawa, H., Itoh, K.: Dendritic cell immunotherapy is effective for lung metastasis from murine osteosarcoma. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 453:318-327, 2006.
5. Matsui, Y., Ueda, T., Kubo, T., Hasegawa, T., Tomita, Y., Okamoto, M., Myoui, A., Kakunaga, S., Yasui, N., Yoshikawa, H.: A novel type of EWS-CHOP fusion gene in myxoid liposarcoma. *Biochem Biophys Res Commun*. 348:437-440, 2006.
6. Morita, S., Oka, Y., Tsuboi, A., Kawakam, M., Maruno, M., Izumoto, S., Osaki, T., Taguchi, T., Ueda, T., Myoui, A., Nishida, S., Shirakata, T., Ohno, S., Oji, Y., Aozasa, K., Hatazawa, J., Udaka, K., Yoshikawa, H., Yoshimine, T., Noguchi, S., Kawase, I., Nakatsuka, S.I., Sugiyama, H., Sakamoto, J.: A phase I/II Trial of a WT1 (Wilms' Tumor Gene) Peptide

Vaccine in Patients with Solid Malignancy:
Safety Assessment Based on the Phase I Data.
Japanese Journal of Clinical Oncology,
36:231-236, 2006.

7. Sotobori, T., Ueda, T., Oji, Y., Naka, N.,
Araki, N., Myoui, A., Sugiyama, K., Yoshikawa,
H.: Prognostic significance of wilms tumor
gene (WT1) mRNA expression in soft tissue
sarcoma. Cancer, 106:2233-2240, 2006.

8. Sotobori, T., Ueda, T., Myoui, A., Yoshioka,
K., Nakasaki, M., Yoshikawa, H., Itoh, K.:
Bone morphogenetic protein-2 promotes the
haptotactic migration of murine osteoblastic and
osteosarcoma cells by enhancing incorporation
of integrin β 1 into lipid rafs., Experimental Cell
Research, 312:3927-3938, 2006.

9. 吉川秀樹: 骨腫瘍診断へのアプローチ、
整形外科診療実践ガイド、文光堂、p.333-335,
2006.

10. 吉川秀樹、名井陽、上田孝文、荒木信人:
仙骨部転移性骨腫瘍の治療、脊椎脊髄ジャー
ナル、19:855-859, 2006.

11. 吉川秀樹: 連通多孔体ハイドロキシアパ
タイトを用いた腫瘍外科治療、関節外科,
25:999-1001, 2006.

12. 吉川秀樹: 骨肉腫に対する最新の治療戦
略、日整会誌, 80:551-556, 2006.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含
む)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他 いずれもなし

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

脳腫瘍に対する免疫療法

分担研究者 吉峰 俊樹 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:第2相試験として 21 例の再発膠芽腫に対し WT1 ペプチド免疫療法を行い、治療後無増大生存期間中央値 20.0 週、6ヶ月後無増大生存率 33.3%といずれも今までの化学療法を上回る優れた成績を得た。

A. 研究目的

再発膠芽腫にたいして WT1 免疫療法の安全性、有効性を検討した。

E. 結論

膠芽腫の治療として WT1 ワクチン療法は安全かつ有効な治療として評価できた。

B. 研究方法

第 2 相試験として 21 症例を登録し、WT1 ペプチドを週一回 12 回皮内投与、有効例は継続した。治療成績を検討した。

(倫理面への配慮)

大阪大学医学部倫理委員会の承認

F. 健康危険情報

注射部位の発赤紅班の 2 度の毒性が副作用としてあげられた。治療と無関係な肝酵素上昇症例が 1 例あった。

C. 研究結果

治療後無増大生存期間中央値 20.0 週、6ヶ月後無増大生存率 33.3%と今までの化学療法を上回る優れた成績を得た。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

第 63 回日本癌学会

第 65 回日本脳神経外科学会

第 24 回日本脳腫瘍学会

D. 考察

注射部位の紅班以外の副作用は認められず、安全性も確認された。また迅速な効果が得られずとも長期間無増大の状態で安定した症例が多く見られた。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし

2. 実用新案登録 なし

3. その他

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

眼科領域腫瘍に対する免疫療法

分担研究者 田野 保雄 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:WT1 癌抗原ペプチド免疫療法を脈絡膜悪性黒色腫に応用させるに先立ち、脈絡膜悪性黒色腫に対する非侵襲的な治療効果判定方法を確立することを試みた。評価方法として N - isopropyl - p - [¹²³I] - iodoamphetamine を用いた Single Photon Emission Computed Tomography (¹²³I - IMP SPECT) を採用した。脈絡膜悪性黒色腫と診断され、放射線治療を施行された 3 症例に対して、¹²³I - IMP SPECT を照射前、照射後 6 ヶ月ごとに施行した。その結果、¹²³I-IMP の眼病巣部位への取り込みと脳全体の取り込みの比が腫瘍の活動性と相関していることを見出した。¹²³I-IMP SPECT は WT1 癌抗原ペプチド免疫療法の脈絡膜悪性黒色腫に対する治療効果判定に有用ではないかと考えられた。多施設共同研究である腎癌に対する WT1 ワクチン療法: 第 II 相試験の実施要綱を作成した。

A. 研究目的

脈絡膜悪性黒色腫は、眼内に腫瘍細胞がとどまる限り、視機能の喪失は招いたとしても、生命に危険が及ぶことはない。しかしながら、ひとたび眼外に腫瘍細胞が播種した場合の生命予後は悪く、特に肝臓に転移した場合の 5 年生存率はきわめて不良である。

それゆえ、脈絡膜悪性黒色腫に対する生検・部分切除は禁忌とされている。そこで、従来は腫瘍の診断・治療効果の判定は、検眼鏡検査・CT など画像検査による腫瘍の大きさの評価が主体であった。しかしながら、このような評価方法では正確な治療効果の判定は困難であり、より客観的な治療効果の判定方法の確立が望まれている。

我々の今回の研究の目的は、脈絡膜悪性黒色腫の活動性を数値化できる客観的評価方法を確立することである。それにより、WT1 特異的細胞障害性 T 細胞を用いた脈絡膜悪性黒色腫治療の正確な評価が行えるものと考えている。

B. 研究方法

(1) 対象

臨床的にも画像診断的にも脈絡膜悪性黒色腫と診断され、放射線治療の適応と考えられた 3 症例(男性 3 例、年齢 33, 43, 58 歳)。

(2) 評価方法

放射線治療前と照射後 6 ヶ月ごとに ¹²³I-IMP SPECT を行い、同時に眼窩 MRI、FDG-PET、肝エコーを施行し、病巣部位における ¹²³I-IMP の取り込みと腫瘍の大きさ・全身転移の有無とを比較した。

(倫理面への配慮)

すべての検査・治療は、ヘルシンキ宣言に基づき行われ、かつ、患者から十分なインフォームドコンセントを得た上で施行された。

C. 研究成果

放射線治療後、¹²³I-IMP の病巣部位

での取り込みと脳全体での取り込み比が 1 以下を持続していた 2 症例は、治療後 5 年を経過した現在でも腫瘍の増大、全身の再発を認めていない。一方、経過中取り込み比が 1 を

超えた1症例では、その後徐々に¹²³I-IMPの病巣部位での取り込みが増大し、MRIでも眼において腫瘍の再発を認めた。この症例では、最終的に肝転移を来した。

以上より、¹²³I-IMPの病巣部位での取り込みと脳全体での取り込み比が1以下を維持することが、重要ではないかと推測された。

D. 考案

¹²³I-IMP SPECTは元々脳血流を評価する目的で開発されたものであるが、¹²³I-IMPがメラニン産生細胞に活発に取り込まれることが明らかにされて、悪性黒色腫の診断に応用されるようになってきた。今回の我々の結果は、¹²³I-IMP SPECTが脈絡膜悪性黒色腫の診断のみならず治療効果の判定にも応用できる可能性を示唆した。特に、患眼と脳での¹²³I-IMPの取り込み比は、数値化された客観的評価法になりうるものと期待できる。

E. 結論

WT1 癌抗原ペプチド免疫療法を脈絡膜悪性黒色腫に導入する際、¹²³I-IMP SPECTを用いてその効果を客観的に評価できる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Hashida N, Ohguro N, Arakawa Y, Kurokawa N and Tano Y: Intraocular Concentration of Intravenous Prednisolone in Experimental Autoimmune Uveoretinitis Mice. Jpn J ophthalmol. (in press)

2) Hashida N, Ohguro N, Nakai K, Kobashi-Hashida M, Hashimoto S, Matsushima K, Tano Y.: Microarray Analysis of Cytokine and Chemokine Gene Expression after Prednisolone Treatment in Murine Experimental Autoimmune Uveoretinitis Invest.

Ophthalm. Vis. Sci. 46:4224-34, 2005

3) Nakai K, Tanaka T, Murai T, Ohguro N, Tano Y, and Miyasaka M.: Invasive Human Pancreatic Carcinoma cells Adhere to Endothelial Tri-cellular Corners and Increase Endothelial Permeability. Cancer Science 96:766-73, 2005

4) Kobashi-Hashida M, Ohguro N, Tsujikawa

M, Furukawa T, Furukawa A, Hashida N, Tsujikawa K, Nakai K, Tano Y.: Micro serial analysis of gene expression in normal human choroid and retinal pigment epithelial transcriptomes. Jpn J Ophthalmol. 49:15-22, 2005

5) Sou R, Oku N, Ohguro N, Hibino S, Fujikado T, Tano Y.: The clinical role of N-isopropyl-p-[¹²³I]-iodoamphetamine single photon emission computed tomography in the follow-up of choroidal melanoma after radiotherapy. Jpn J Ophthalmol. 48:54-8, 2004

2. 学会発表

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)

分担研究報告書

咽頭喉頭癌に対する免疫療法

分担研究者 久保 武 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨:頭頸部癌に対して行う WT1 免疫療法は安全性の高い治療法である。

A. 研究目的

頭頸部癌に対する WT1 免疫療法の安全性と有効性を明らかにすること

B. 研究方法

改変型 WT1 ペプチド 3.0mg/body を毎週、計 12 回皮下投与する

(倫理面への配慮)

本臨床試験は大阪大学医学倫理委員会の承認を得て行われている。被験者の研究への参加は自由意思に基づき、被験者のプライバシーを保護することはプロトコールに明記されている。

C. 研究結果

顎下腺腫瘍2名に対してWT1 ペプチドワクチンの投与を行っており、現時点では特に有害事象を認めていない。臨床効果については観察中である。

D. 考察

現時点では特に有害事象を認めず本治療法の安全性は高いと考えられる。

E. 結論

WT1 免疫療法は安全性の高い治療法である

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他