

200615002B (1冊のみ)

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 総合研究報告書

主任研究者 杉山 治夫

平成19 (2007) 年 4月

目 次

I. 総合研究報告	
WT1癌抗原ペプチドを用いた癌の免疫療法の開発に関する研究	----- 1
杉山 治夫	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 4

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)

総合研究報告書

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:WT1 ペプチドを用いた癌の免疫療法の有用性を確立するために、改変型 WT1 ペプチド(CYTWNQMNL)3.0 mg /body + モンタナイドアジュバントを、毎週1回、計12回皮内投与する第I/II相臨床研究をスタートさせた。現在までに、白血病や固形癌患者計144名にWT1ワクチンを投与した。第I相部分の安全性に関しては、本免疫療法は安全であることが明らかになった(Morita et al., JJCR, 2006)。第II相部分の臨床効果については、癌腫が多種類にわたっており、一つの癌腫あたりの症例数まだ不十分で、そのため統計的解析ができたのは、再発グリオブラストーマだけであった。再発グリオブラストーマでは、19例中、PR2例、SD9例、PD8例で病勢コントロール率は57.97%であった。他の癌腫でも多くの有効例があり、本免疫療法のポテンシャル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

森田 智視
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、膵癌 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

第 I 相臨床研究と第 I / II 相臨床研究を合わせて 170 例に、WT1 ワクチン療法を実施し、その有用性を明確にした。特に再発グリオブラストーマでは十分な臨床効果が見られ、本免疫療法が再発グリオブラストーマに対する療法として一般化する可能性が高まってきた。このように、計画した目的は十分に達成されたと自負している。

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 (ゲムシタビンなど) 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. Tsuboi A, Oka Y, Osaka T, Kumagai T, Tachibana I, Hayashi S, Murakami M, Nakajima H, Elisseeva OA, Wu F, Masuda T, Yasukawa M, Oji Y, Kawakami M, Hosen N, Ikegame K, Yoshihara S, Udaka K, Nakatsuka S, Aozasa K, Kawase I, and Sugiyama H. WT1 peptide-based immunotherapy for patients with lung cancer. *Microbiology and Immunology*, 48, 175-184, 2004.
2. Nakajima H, Kawasaki K, Oka Y, Tsuboi A, Kawakami M, Ikegame K, Hoshida Y, Fujiki F, Nakano A, Masuda T, Wu F, Taniguchi Y, Yoshihara S, Elisseeva OA, Oji Y, Ogawa H, Azuma I, Kawase I, Aozasa K, and Sugiyama H. WT1 peptide vaccination combined with BCG-CWS is more efficient for tumor eradication than WT1 peptide vaccination alone. *Cancer Immunology and Immunotherapy*, 53: 617-624, 2004.
3. Oka Y, Tsuboi A, Taguchi T, Osaki T, Kyo T, Nakajima, Elisseeva OA, Oji Y, Kawakami M, Ikegame K, Hosen, N, Yoshihara S, Wu F, Fujiki F, Murakami M, Masuda T, Nishida S, Shirakata T, Nakatsuka S, Sasaki A, Udaka K, Dohy H, Aozasa K, Noguchi S, Kawase I, Sugiyama H. Induction of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific cytotoxic T lymphocytes by WT1 peptide vaccine and the resultant cancer regression. *Proceedings of National Academy of Science USA*, 101:13885-13890, 2004.
4. Wu F, Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva O. A, Nakajima H, Fujiki F, Masuda T, Murakami M, Yoshihara S, Ikegame K, Hosen N, Kawakami M, Nakagawa M, Kubota T, Soma T, Yamagami T, Tsukaguchi M, Ogawa H, Oji Y, Hamaoka T, Kawase I, Sugiyama H. Th1-biased humoral immune responses against Wilms tumor gene WT1

product in the patients with hematopoietic malignancies. *Leukemia*, 19: 268-274, 2005.

5. 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.
6. Li Z, Oka Y, Tsuboi A, Masuda T, Tatsumi N, Kawakami M, Fujioka T, Sakaguchi N, Nakajima H, Fujiki F, Udaka K, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H. WT1(235), a ninemer peptide derived from Wilms' tumor gene product, is a candidate peptide for the vaccination of HLA-A*0201-positive patients with hematopoietic malignancies. *Int J Hematol*. 82: 458-459, 2005.
7. 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：WT1 ペプチドを用いた癌の免疫療法：第63回日本癌学会学術総会，福岡，2004年9月29日
2. Sugiyama H: WT1 (Wilms'tumor Gene) Peptide-Based Cancer Immunotherapy, 10th JAPANESE - GERMAN WORKSHOP, Germany, 2005.

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

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Tsuboi A, Oka Y, Osaka T, Kumagai T, Tachibana I, Hayashi S, Murakami M, Nakajima H, Elisseeva OA, Wu F, Masuda T, Yasukawa M, Oji Y, Kawakami M, Hosen N, Ikegame K, Yoshihara S, Udaka K, Nakatsuka S, Aozasa K, Kawase I, and <u>Sugiyama H.</u>	WT1 peptide-based immunotherapy for patients with lung cancer.	Microbiology and Immunology	48	175-184	2004.
Nakajima H, Kawasaki K, Oka Y, Tsuboi A, Kawakami M, Ikegame K, Hoshida Y, Fujiki F, Nakano A, Masuda T, Wu F, Taniguchi Y, Yoshihara S, Elisseeva OA, Oji Y, Ogawa H, Azuma I, Kawase I, Aozasa K, and <u>Sugiyama H.</u>	WT1 peptide vaccination combined with BCG-CWS is more efficient for tumor eradication than WT1 peptide vaccination alone.	Cancer Immunology and Immunotherapy	53	617-624	2004
Oka Y, Tsuboi A, Taguchi T, Osaki T, Kyo T, Nakajima, Elisseeva OA, Oji Y, Kawakami M, Ikegame K, Hosen, N, Yoshihara S, Wu F, Fujiki F, Murakami M, Masuda T, Nishida S, Shirakata T, Nakatsuka S, Sasaki A, Udaka K, Dohy H, Aozasa K, Noguchi S, Kawase I, <u>Sugiyama H.</u>	Induction of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific cytotoxic T lymphocytes by WT1 peptide vaccine and the resultant cancer regression.	Proceedings of National Academy of Science USA.	101	13885-13890	2004
Wu F, Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva O. A, Nakajima H, Fujiki F, Masuda T, Murakami M, Yoshihara S, Ikegame K, Hosen N, Kawakami M, Nakagawa M, Kubota T, Soma T, Yamagami T, Tsukaguchi M, Ogawa H, Oji Y, Hamaoka T, Kawase I, <u>Sugiyama H.</u>	Th1-biased humoral immune responses against Wilms tumor gene WT1 product in the patients with hematopoietic malignancies.	Leukemia.	19	268-274	2005

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, <u>Sugiyama H</u> , 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
Li Z, Oka Y, Tsuboi A, Masuda T, Tatsumi N, Kawakami M, Fujioka T, Sakaguchi N, Nakajima H, Fujiki F, Udaka K, Oji Y, Kawase I, <u>Sugiyama H</u> .	WT1(235), a ninemer peptide derived from Wilms' tumor gene product, is a candidate peptide for the vaccination of HLA-A*0201-positive patients with hematopoietic malignancies.	Int J Hematol.	82	458-459	2005
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, <u>Sugiyama H</u> .	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.		