

WT1 ペプチド癌ワクチンの開発に関する研究

研究分担者 杉山 治夫 大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学 教授

研究要旨

ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1 は、白血病やほとんどすべての種類の固形癌に発現する汎腫瘍抗原である。HLA-A*2402 拘束性 WT ペプチドを開発し、この WT1 ペプチドを用いたがんの免疫療法の臨床研究を世界に先駆けて行い、その有用性を明らかにした。特に白血病、骨髄異形成症候群、脳腫瘍や膵癌で有効性が高かった。切除不能進行性膵癌に対しては、WT1 ワクチン+ジェムザール対ジェムザール単独の非盲検ランダム化第 相臨床研究が進行中である。

A . 研究目的

ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1 は、白血病やほとんどすべての種類の固形癌に発現する汎腫瘍抗原であることを見出し、HLA-A*2402 拘束性 WT1 ペプチドを開発し、これを用いたがんの免疫療法の第 相臨床研究を世界に先がけて実施し、その安全性と有用性を確立した。本研究目的は癌腫毎の有用性を明確にし、本免疫療法を医療として確立することである（下記の 1-3 の臨床研究）。

B . 研究方法

WT1 ペプチドワクチンとしては、HLA-A*2402 拘束性改変型 WT1 ペプチド 3.0 mg / body + モンタナイド・アジュバントのエマルジョンを用いる。

1. 第 相臨床研究の継続
2001 年に開始した臨床研究において、3 人の AML 患者が長期生存(10 年 8 ヶ月~10 年 9 ヶ月)しており、これらの患者に対して継続投与あるいは、経過観察をする（このような例は、世界に例を見ない）。
2. 再発グリオブラストーマに対する 相臨床研究
WT1 ペプチドワクチン毎週 1 回、計 12 回皮下投与する。
3. 進行性膵癌に対するジェムザール併用した第 相臨床研究
ジェムザールの標準的療法（ジェムザール 1000 mg / m²、3 投 4 休）に 0,2,4,6 週目に WT1 ペプチドワクチンを投与する。
4. 切除不能進行性膵癌に対する WT1+ジェムザール対ジェムザール単独のランダム化第 相試験。
HLA-A 24 : 02 あるいは HLA-A 02 : 01 陽性の切除不能進行性膵癌患者 150 名をジェムザール標準療法に WT1 ペプチドワクチンを 2 週

間毎に投与する群と、ジェムザール標準療法群とに、1 : 1 で非盲検ランダム化する。primary endpoint として 1 年後生存率、secondary endpoint として全生存率を見る。

5. 骨髄異形成症候群（MDS）に対する少量 WT1 ペプチドワクチン療法の第 相臨床研究
MDS では、WT1 ペプチド 300µg の投与で急速に顆粒球(大部分が白血病細胞由来)が減少(著効を呈すると言える)し、敗血症の危険性がある。そこで、WT1 ペプチドの投与量を減じた第 相臨床試験を開始した。WT1 ペプチド 5µg / body、3 人 → 15µg / body、3 人と dose-up する。2 週間毎に計 3 回投与する

（倫理面への配慮）

C . 研究結果

1. 2001年に開始した第 相臨床研究で、分子再発時点でWT1ペプチドワクチンを投与し、有効であったAML3人に対して、8年,9年7ヶ月,7年10ヶ月投与し、それぞれ、10年8ヶ月,10年7ヶ月,10年7ヶ月完全寛解が持続している。これらの3人では分子レベルでの微小残存病変も検出できず、治癒の可能性が高い。投与部位の発赤・腫脹以外、重篤な副作用は見られていない。
2. 再発グリオブラストーマ65例(全例が放射線照射済み)に対してWT1ペプチドワクチンを毎週1回、計12回投与。65例のうち、CR 1例、PR 2例、SD 28例、PD 34例であり、overall survival rateは4.6%、disease control rateは47.7%であった。SD 28人のうち7人はlong SDであり、このうち4人のPFSは416週、410週、184週、130週

で、生存中である。全例において、WT1ペプチドワクチン投与部位の発赤以外、重篤な副作用はみられない。

3. 進行性膵癌患者32例（ a 6例、 b 22例、再燃3例、評価不能1例）に対して、ジェムザール併用WT1ペプチドワクチン療法を施行したところ、PR 7例（21.9%）、SD 17例（53.1%）、PD 7例（21.9%）、評価不能1例であった。Response rate 21.9%、disease control rate 75.0%であった。PRの2例は手術可能となり、そのうち1例は手術時摘出標本で残存腫瘍細胞が検出されず、組織学的完全寛解であった。このPR 2例は、70.8ヶ月、63.9ヶ月生存中である。ジェムザールによると思われる副作用以外特別なものはなかった。WT1ペプチドに対する遅延型アレルギー反応（DTH）が出現した群では長期生存者が存在するが、DTHが出現しなかった群では、長期生存者は皆無であり、DTH反応と予後の相関が見られた。現在、ジェムザール単独とジェムザール+WT1ワクチンの2群の臨床効果を比較するためのランダム化第 Ⅲ 相臨床研究を行っている。
4. 切除不能進行性膵癌に対する WT1+ジェムザール対ジェムザール単独の非盲検ランダム化第 Ⅲ 相臨床研究は、現在進行中で、26 年度中に中間解析を予定している。副作用としては、ジェムザールと考えられる副作用以外の副作用は見られていない
5. MDSに対する少量WT1ペプチド投与の臨床研究では、5 μ g 投与群では2例に臨床効果が出現し、このうち1例は、現在まで6年7ヶ月にわたり継続投与している。残り1例はNo changeであった。15 μ g 投与群では1例が白血球細胞が減少し、有効であった。他の2例はNo changeであった。15 μ g 投与の4人では、1人が有効、1人がPDで、残り2人はNo changeであった。50 μ g 投与の4人では、1人が有効、1人がPDで、残り2人は不変であった。MDSがheterogenousであるため、効果に個人差があり、推奨用量を決定することができなかった。5 μ g/bodyを7年8ヶ月にわたり継続投与している1例においては、WT1ワクチン投与から8年8ヶ月、寛解が持続しており、WT1ペプチドワクチンの投与部位の発赤、腫脹以外、重篤な副作用は見られていない。予想どおり、WT1ペプチドワクチンの投与により顆粒球の減少が生じたが、G-CSFの投与により回復させることが明らかになり、本療法の安全性が明らかになった。以上のデータをふまえ、初期量を50 μ g/bodyに設定した新第Ⅰ相臨床研究を開始した

が、現時点では、まだ症例数が少なくデータをまとめられる状況でない。

D . 考察

WT1ペプチド免疫療法は、きわめて予後不良な再発グリオブラストーマや進行性膵癌に対しても臨床効果を出しうるということが明らかになった。これらの進行癌に臨床効果が出現した背景として考えられることは、再発グリオブラストーマでは、前治療としてほとんど抗がん剤が投与されておらず、進行性膵癌においても大部分の症例が初発例であり、抗がん剤の前治療は行なわれていない。このように両疾患では、抗がん剤前治療がないか、あっても軽微であるので、患者の免疫能が温存されており、そのため臨床効果が出現しやすいと現時点では考えている。さらに、進行性膵癌の治療で併用しているジェムザールが、免疫抑制性細胞を抑制することで免疫能を上げるとともに、ジェムザールが、膵癌細胞のWT1タンパクの発現を上げ、癌細胞の免疫原性を高めることも明らかになってきた。MDSでは、stem cell leukemiaであるので、WT-CTLがWT1⁺leukemic stem cellをkillすること及び、MDSでは治療前にWT1-CTLがすでにクローナルな増殖をしていることにより臨床効果が出やすいと考えられる。

今後は、白血病、グリオブラストーマ、肺癌や卵巣がんに対して抗がん剤や手術後の寛解時にWT1ワクチン投与を開始する臨床研究や医師主導治験を進める予定である。

E . 結論

1. WT1ペプチドワクチン療法は、重篤な副作用のない安全性の高い治療法である。
2. WT1ペプチドワクチン療法は、白血病、再発グリオブラストーマや進行性膵癌に対して臨床効果が期待しうる治療法である。切除不能進行性膵癌に対しては、ランダムイズド臨床研究が進行中である。
3. stem cell leukemiaであるMDSでは、G-CSFを併用した少量WT1ペプチドワクチン療法が有効であり、WT1ペプチド50 μ g/bodyは安全量であることが判明した。
4. WT1ペプチドワクチン療法は、抗がん剤が多量に使われるまでの免疫能が残存している時期に使用すべきであると考えられる。

F . 研究発表

1 . 論文発表

- 1) Nishida S, Koido S, Takeda Y, Honma S, Kimita H, Takahara A, Morita S, Ito T, Morimoto S, Hara K,

- Tsuboi A, Oka Y, Yanagisawa S, Toyama Y, Ikegami M, Kitagawa T, Eguchi H, Wada H, Nagano H, Nakata J, Nakae Y, Hosen N, Oji Y, Tanaka T, Kawase I, Kumanogoh A, Sakamoto J, Doki Y, Mori M, Ohkusa T, Tajiri H, Sugiyama H. Wilms Tumor Gene 1 (WT1) Peptide-based Cancer Vaccine Combined With Gemcitabine for Patients With Advanced Pancreatic Cancer. *J Immunother.*, in press.
- 2) Maeda T, Hosen N, Fukushima K, Tsuboi A, Morimoto S, Matsui T, Sata H, Fujita J, Hasegawa K, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Nakajima H, Fujiki F, Tatsumi N, Kondo T, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kanakura Y, Kumanogoh A and Sugiyama H. Maintenance of complete remission after allogeneic stem cell transplantation in leukemia patients treated with Wilms tumor 1 peptide vaccine. *Blood Cancer Journal.*, 2013, 3: e130.
 - 3) Ueda Y, Mizutani C, Nannya Y, Kurokawa M, Kobayashi S, Takeuchi J, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kanakura Y, Niimi K, Sasaki K, Watanabe M, Emi N, Teramura M, Motoji T, Kida M, Usuki K, Takada S, Sakura T, Ito Y, Ohyashiki K, Ogawa H, Suzuki T, Ozawa K, Imai K, Kasai M, Hata T, Miyazaki Y, Morita Y, Kanamaru A, Matsuda A, Tohyama K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Takaku F. Clinical evaluation of WT1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma.*, 2013, 54(7): 1450-1458
 - 4) Tachino S, Fujiki F, Oka Y, Tsuboi A, Morimoto S, Lin Y, Tamanaka T, Kondo K, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Functional human Th17 clones with WT1-specific helper activity. *Cancer Immunol Immunother.*, 2013, 62(4): 801-10.
 - 5) Lin Y, Fujiki F, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tani S, Nakajima H, Tatsumi N, Morimoto S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. HLA-DPB1*05:01-restricted WT1332-specific TCR-transduced CD4(+) T lymphocytes display a helper activity for WT1-specific CTL induction and a cytotoxicity against leukemia cells. *J Immunother.*, 2013, 36(3):159-170.
 - 6) Miyatake T, Ueda Y, Morimoto A, Enomoto T, Oka Y, Nishida S, Tsuboi A, Shirakata T, Oji Y, Hosen N, Aozasa K, Morita S, Sakamoto J, Sugiyama H, Kimura T. WT1 Peptide Immunotherapy for Gynecologic Malignancies Resistant to Conventional Therapies: a Phase trial. *J Cancer Res Clin Oncol.*, 2013, 139(3): 457-463.
 - 7) Anguille S, Fujiki F, Smits EL, Oji Y, Lion E, Oka Y, Berneman ZN, Sugiyama H. Identification of a Wilms' tumor 1-derived immunogenic CD4(+) T-cell epitope that is recognized in the context of common Caucasian HLA-DR haplotypes. *Leukemia.*, 2013, 27(3):748-750.
- ## 2. 学会発表
- 1) Hashii Y, Watanabe A, Tsuboi A, Oji Y, Hosen N, Miyamura T, Oka Y, Ozono K, Sugiyama H: Clinical study of WT1 peptide vaccination for pediatric leukemia after stem cell transplantation, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Hokkaido, Oct. 13, 2013.
 - 2) Kobayashi S, Ueda Y, Kurokawa M, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kihara R, Emi N, Motoji T, Sasaki K, Usuki K, Ogawa H, Sakura T, Ohyashiki K, Ogawa K, Imai K, Miyazaki Y, Morita Y, Matsuda A, Toyama K, Kakumoto K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H: WT-1 expression level in BM is the great prognostic marker with Revised IPSS, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Hokkaido, Oct. 11, 2013.
 - 3) Kondo A, Tamura H, Inokuchi K, Ogata K, Kakumoto K, Matsuda A, Tohyama K, Ueda Y, Kurokawa M, Takeuchi J, Shibayama H, Emi N, Motoji T, Miyazaki Y, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Takaku F: Prognostic impact of the IPSS-R and CD7 expression on myeloblasts in Japanese patients with MDS, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Hokkaido, Oct. 11, 2013.
 - 4) Hashii Y, Hosen N, Miyamura T, Nishida S, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Ozono K, Sugiyama H: WT1 based immunotherapy after stem cell transplantation for pediatric hematological malignancy: Phase clinical study, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013
 - 5) Oji Y, Tatsumi N, Fukuda M, Nakatsuka S, Fujiki F, Nakajima H, Hasegawa K, Nezu R, Morii E, Nishida S, Hosen N, Tsuboi A, Oka Y,

Sugiyama H: Oncogenic function of eEF2 in cancers and in vivo humoral and in vitro CTL responses against eEF2 protein, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013.

- 6) 藤木文博、林愈宏、勝原晶子、岡芳弘、坪井昭博、青山奈央、谷井里江、中島博子、森本創世子、保仙直毅、西田純幸、尾路祐介、熊ノ郷淳、杉山 治夫：HLA class II拘束性WT1由来ヘルパーペプチド特異的TCRを導入されたCD4⁺T細胞はヘルパー活性と細胞傷害活性を有する, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013.
- 7) Hosen N, Maeda T, Fukushima K, Morimoto S, Nakata J, Nakae Y, Nishida S, Tsuboi A, Kondo T, Kadowaki N, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, Kanakura Y, Sugiyama H: Clinical trial of WT1 peptide vaccination post allo HSCT in patients with high risk for relapse, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013.
- 8) Nakae Y, Hosen N, Nakata J, Maeda T, Fukushima K, Morimoto S, Takashima S, Nakajima H, Fujiki F, Tsumi N, Nishida S, Tsuboi A, Kondo T, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, Kanakura Y, Sugiyama H: Wilms Tumor 1 (WT1) Peptide Vaccine as an Enhancer of Graft Versus Leukemia Effects, The 4th JSH International Symposium 2013, Ehime, 2013年5月24日 (国際学会)
- 9) Fujiki F, Lin Y, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tanii S, Nakajima H, Tsumi N, Morimoto S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H: HLA class II-restricted WT1-specific TCR-transduced CD4⁺ T cell Display a Helper Activity for WT1-specific CTL Induction and a Cytotoxicity Against Leukemia Cells, The 4th JSH International Symposium 2013, Ehime, 2013年5月24日 (国際学会)
- 10) Nakata J, Hosen N, Nakano K, Nishida S, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Sugiyama H: NK cells Have Potential to Eradicate Leukemia cells in vivo in the Absence of Adaptive Immunity in the MLL-ENL Model, The 4th JSH International Symposium 2013, Ehime, 2013年5月24日 (国際学会)

G . 知的財産等の出願・登録状況 (予定を含む。)

1.特許取得

該当なし

2.実用新案登録

該当なし

3.その他

該当なし