

平成17年度科学研究費補助金（基盤研究（S））研究状況報告書

ふりがな(ローマ字)		SUGIYAMA HARUO				
①研究代表者氏名		杉山 治夫		②所属研究機関・部局・職 大阪大学・大学院医学系研究科・教授		
③研究課題名	和文	WT1 タンパクを標的にした、白血病に対する免疫療法の開発				
	英文	Development of immunotherapy targeting WT1 protein for patients with leukemia				
④研究経費 17年度以降は内約額 金額単位：千円	平成15年度	平成16年度	平成17年度	平成18年度	平成19年度	総合計
	28,500	27,000	18,000	9,000	9,000	91,500
⑤研究組織（研究代表者及び研究分担者）						
氏名	所属研究機関・部局・職	現在の専門	役割分担（研究実施計画に対する分担事項）			
杉山 治夫	大阪大学・大学院医学系研究科・教授	免疫学・血液学	臨床研究・研究総括			
岡 芳弘	大阪大学・大学院医学系研究科・助手	免疫学・血液学	WT1ペプチド投与に最適なアジュバントの同定・臨床研究			
尾路 祐介	大阪大学・大学院医学系研究科・助教授	免疫学・血液学	免疫担当細胞の動態の解析			
⑥当初の研究目的（交付申請書に記載した研究目的を簡潔に記入してください。）						
<p>白血病などの癌を、正常細胞と癌細胞との増殖パターンのわずかな差を利用して化学療法で治すという手段自体が限界に達しており、この限界を打破するための唯一の方法は、癌の分子標的療法であり、正常細胞と異なった、癌細胞特有の特性を分子標的にした治療法を開発することであり、これ以外に、白血病などの癌の治療成績の飛躍は望み得ない。</p> <p>白血病の分子標的療法で、現在最も有望と考えられるものは、免疫療法である。近年の基礎免疫学の著しい進歩、特に、MHC（主要組織適合抗原）class I 及び class II分子の構造と機能の解明により、腫瘍免疫のメカニズムが分子レベルで明らかになり、以前の腫瘍免疫学とは全く異なった新しい腫瘍免疫学の時代が到来し、免疫療法によって、癌を治せるのではないかという、以前のような感情的なものでない、理論的な裏付けのある、大きな期待が高まってきた。</p> <p>ヒト及びマウスで、MHC class I 分子への結合に必要なアンカーモチーフをもった、9コのアミノ酸からなるペプチドを、ヒト及びマウスのWT1タンパクの449個のアミノ酸配列から選択し、この 9-mer WT1ペプチドを合成し、この 9-mer WT1ペプチドで、ヒトの末梢血リンパ球を刺激したり、マウスを免疫したりすることにより、WT1特異的細胞傷害性T細胞（CTL）を誘導することができた。このCTLは、ヒト及びマウスのWT1発現白血病細胞を特異的に殺し、免疫マウスでは、移植されたWT1発現白血病細胞を拒絶した。これらのデータから、WT1タンパクは、白血病の新しい腫瘍拒絶抗原であることが明らかになった。</p> <p>本研究の目的は、前述した成果に基づいて、白血病に対するWT1ペプチド（タンパク）免疫療法を確立し、化学療法では、限界に達した白血病の治療率を飛躍的に向上させることである。</p>						

⑦これまでの研究経過（研究の進捗状況について、必要に応じて図表等を用いながら、具体的に記入してください。）

臨床研究

1. WT1 ペプチドを用いた免疫療法の白血病や骨髄異形成症候群に対する第 I 相臨床研究

HLA-A*2402 拘束性 WT1 ペプチド天然型 (CMTWNQMNL) 及び改変型 (CYTWQMNL) を 0.3 mg/body → 1.0 mg/body → 3.0 mg/body と dose escalation しながら、計 26 名の患者（白血病 12 名、骨髄異形成症候群 2 名、肺癌 10 名、乳癌 2 名）に 1 回以上投与した。このうち 18 名（AML10 名、肺癌 6 名、乳癌 2 名）で規定どおり 3 回以上の WT1 ペプチドの投与が終了した。10 名の AML のうち 6 名に臨床効果評価病変（残存白血病細胞）があり、6 名のうち 4 名に白血病細胞の減少が見られ、臨床的に有効であった。1 名は、Stable Disease で、残り 1 名は無効であった。骨髄異形成症候群 2 名については、改変型 WT1 ペプチド 0.3 mg/body の 1 回投与のみで、白血球（ほとんどが白血病細胞）が著減し、著効を呈した。副作用については、正常造血能が存在する AML では、WT1 ワクチン投与局所の発赤、腫脹のみであるが、正常造血能の著しい低下が存在する骨髄異形成症候群では、著明な白血球減少が生じる危険性がある。

2. WT1 ペプチドを用いた免疫療法の急性骨髄性白血病に対する第 I/II 相臨床研究

第 I 相臨床研究から、WT1 ペプチド 3.0 mg/body、2 週間毎の投与は、正常造血能が存在する AML では安全であることが明らかになった。そこで、本免疫療法の有効性を高める方法を確立することを目的として、改変型 WT1 ペプチド、3.0 mg/body を毎週、計 12 回、モンタナイドアジュバントとともに皮内投与し、その安全性と臨床的有効性をみるための第 I/II 相臨床試験をスタートした。まだ症例数が少ないが、安全性には問題ないと思われる。

3. WT1 ペプチドを用いた免疫療法の骨髄異形成症候群に対する新第 I 相臨床研究

骨髄異形成症候群では改変型 WT1 ペプチド 0.3 mg/body、1 回の投与で著効を呈し、白血球（大部分は白血病細胞）の減少→感染症をおこすので危険である。そこで、WT1 特異的免疫を比較的弱く誘導し、急激に白血病細胞を殺さず、ゆっくりと白血病細胞を殺しながら、ごく少量残存している正常クローンの増大をはかり、最終的に白血病クローンを撲滅させ、正常造血を回復させ、本疾患を治癒させるというストラテジーをたてた。このストラテジーにもとづいて、次のような第 I 相臨床研究をスタートした。改変型 WT1 ペプチド 5 μg/body、2 週間毎に計 6 回を 3 人→15 μg/body、2 週間毎に計 6 回を 3 人→50 μg/body、2 週間毎に計 6 回を 3 人と WT1 ペプチドの dose escalation を行い、副作用を評価し、副次的に、臨床効果と免疫学的効果を評価する。改変型 WT1 ペプチド 5 μg/body、2 週間毎に 1 回、計 6 回投与された最初の 1 例では、理論どおり、ゆるやかな白血病細胞の減少が起っている。

基礎研究

1. WT1 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の解析

- (1) WT1 / HLA-A*2402 テトラマーを用いて第 I 相臨床研究での患者の WT1 特異的 CTL 頻度を測定した。WT1 特異的 CTL 頻度が WT1 ペプチド投与前に比し、投与後、1.5 倍以上に増加した時、免疫応答(+)とした場合、免疫応答(+)の 11 人中 8 人に臨床効果が出現し、免疫応答と臨床効果との間に有意な (P=0.0397) 相関が見られた。
- (2) AML や MDS の患者では、健康人に比し、WT1 ペプチドの投与前からすでに WT1 特異的 CTL の頻度が有意に上昇している (健康人 0.098% vs. 患者 0.37% ; P = 0.0019)。これは、WT1 タンパクは、非常に抗原性が高く、そのため、白血病患者では、白血病細胞のもつ WT1 タンパクに対して免疫応答をおこし、WT1 特異的 CTL を誘導しているものと考えられる。

2. WT1 ヘルパーペプチドの同定

日本人に最も頻度の高いクラス II 分子である HLA-DRB1*0405 に拘束性の 16-mer WT1 ヘルパーペプチド KRYFKLSHLQMHSRKH を同定した。本臨床研究に用いているクラス I ペプチド+本ヘルパーペプチドで末梢血単核球を刺激すると、WT1 特異的 CTL の誘導がクラス I ペプチド単独に比し、約 5.6 倍増加し、本ヘルパーペプチドの臨床応用が期待され、次の study では、このヘルパーペプチドを使う予定である。

3. 強力な併用アジュバントの同定

本免疫療法の効果を増大させるアジュバントとして BCG-CWS を同定した。腫瘍を移植されたマウスに対して、BCG-CWS を投与し、その 24 時間後、同一の場所に WT1 ペプチドを投与したところ、それぞれ単独に比し、有意に強い抗腫瘍免疫が誘導された。現在、WT1 ペプチド+BCG-CWS の臨床試験を計画中である。

⑧特記事項 (これまでの研究において得られた、独創性・新規性を格段に発展させる結果あるいは可能性、新たな知見、学問的・学術的なインパクト等特記すべき事項があれば記入してください。)

1. **WT1 タンパクは、非常に免疫原性の高い腫瘍抗原であり、WT1 ペプチドの投与は、強い腫瘍免疫応答を誘起することが、実際の臨床の場で世界に先がけて実証された。**
 - (1) 第 I 相臨床研究において、臨床効果評価可能な 20 人のうち 12 人に、腫瘍の縮小、白血病細胞の減少、あるいは、腫瘍マーカーの低下などがおこり、臨床効果が出現した。
 - (2) 骨髄異形成症候群 (MDS) では、改変型 0.3mg/body のただ 1 回の投与で、投与した 2 名のうち 2 名ともに、急速な白血病細胞の減少が起り、著効を呈した。
 - (3) WT1 ペプチド投与による WT1 特異的 CTL の増加と臨床効果が相関した。
 - (4) AML 患者や MDS 患者では、自己の腫瘍細胞に免疫応答し、WT1 ペプチド投与前にすでに WT1 特異的 CTL の上昇が見られた。
2. **WT1 ペプチド免疫療法は、重篤な副作用をひき起こさないという可能性が高まってきた。**

AML3 人には、第 I 相臨床研究の継続として、天然型 WT1 ペプチド 3.0 mg / body (1 人) あるいは改変型 WT1 ペプチド 3.0 mg / body (2 人) の 2 週間毎の投与を 2 年間以上継続しているが、WT1 ペプチド投与局所の発赤、腫脹以外、特記すべき副作用は見られず、治療前に残存していた白血病細胞は、検出感度以下に減少し、臨床効果が出ていると考えられる。
3. **WT1 ペプチド免疫療法には、従来の想像をはるかに越えた、強力な抗腫瘍能力が潜在していることが明確化された。**

本臨床研究では、WT1 ペプチドの投与方法やアジュバントが最適化されていないにもかかわらず、十分な臨床効果が得られた。現在使用のモンタナイドアジュバントを、より強力なアジュバントに換えることなどにより、本免疫療法はより高い臨床効果を発現し、新しい治療法として、確固たる地位を確立するものと思われる。
4. **WT1 ペプチド免疫療法は、白血病や骨髄異形成症候群の治療戦略を大きく変革させる可能性を秘めていると言えるであろう。**
5. **我々の一連の WT1 研究が引き金となり、WT1 研究が世界的に大きく広がり、その気運にのって、杉山と Thiel (ベルリン自由大学) で、2004 年 3 月、ベルリンで、第 1 回国際 WT1 カンファレンスを開催した。さらに、第 2 回国際 WT1 カンファレンスも本年 10 月、京都で、杉山、Thiel で開催予定である。**

⑨研究成果の発表状況 (この研究費による成果の発表に限り、学術誌等に発表した論文(掲載が確定しているものを含む。)の全著者名、論文名、学協会誌名、巻(号)、最初と最後のページ、発表年(西暦)、及び国際会議、学会等における発表状況について記入してください。なお、代表的な論文3件に○を、また研究代表者に下線を付してください。)

1. Ogawa, H., Tamaki, H., Ikegame, K., Soma, T., Kawakami, M., Tsuboi, A., Kim, E.H., Hosen, N., Murakami, M., Fujioka, T., Masuda, T., Taniguchi, Y., Nishida, S., Oji, Y., Oka, Y., and Sugiyama, H. The usefulness of monitoring WT1 gene transcripts for the prediction and management of relapse following allogeneic stem cell transplantation in acute type leukemia. *Blood*, 101, 1698-1704, 2003.
2. Ueda, T., Oji, Y., Naka, N., Nakano, Y., Takahashi, E., Koga, S., Asada, M., Ikeba, A., Nakatsuka, S-I., Abeno, S., Hosen, N., Tomita, Y., Aozasa, K., Tamai, N., Myoui, A., Yoshikawa, H., and Sugiyama, H. Overexpression of the Wilms' tumor gene WT1 in human bone and soft-tissue sarcomas. *Cancer Science*, 94: 271-276, 2003.
3. Li, H., Oka, Y., Tsuboi, A., Yamagami, T., Miyazaki, T., Yusa, S-I., Kawasaki, K., Kishimoto, Y., Asada, M., Nakajima, H., Kanato, K., Nishida, S., Masuda, T., Murakami, M., Hosen, N., Kawakami, M., Ogawa, H., Melchers, F., Kawase, I., Oji, Y., and Sugiyama, H. The lck promoter-driven expression of the Wilms' tumor gene WT1 blocks intrathymic differentiation of T-lineage cells. *International Journal of Hematology*, 77: 463-470, 2003.
- 4. Oka, Y., Tsuboi, A., Murakami, M., Hirai, M., Tominaga, N., Nakajima, H., Masuda, T., Nakano, A., Kawakami, M., Oji, Y., Ikegame, K., Hosen, N., Udaka, K., Yasukawa, M., Ogawa, H., Kawase, I., and Sugiyama, H. WT1 peptide-based immunotherapy for patients with overt leukemia from myelodysplastic syndrome (MDS) or MDS with myelofibrosis. *International Journal of Hematology*, 78: 56-61, 2003.
5. Oji, Y., Inohara, H., Nakazawa, M., Nakano, Y., Akahani, S., Nakatusuka, S., Koga, S., Abeno, S., Honjo, Y., Yamamoto, Y., Iwai, S., Yoshida, K., Oka, Y., Ogawa, H., Yoshida, J., Aozasa, K., Kubo, T., and Sugiyama, H. Overexpression of the Wilms' tumor gene *WT1* in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Science*, 94: 523-529, 2003.
6. Oji, Y., Yamamoto, H., Nomura, M., Nakano, Y., Ikeba, A., Nakatsuka, S., Abeno, S., Kiyotoh, E., Jomgeow, T., Sekimoto, M., Nezu, R., Yoshikawa, Y., Inoue, Y., Hosen, N., Kawakami, M., Tsuboi, A., Oka, Y., Ogawa, H., Souda, S., Aozasa, K., Monden, M., and Sugiyama, H. Overexpression of the Wilms' tumor gene *WT1* in colorectal adenocarcinoma. *Cancer Science*, 94: 712-717, 2003.
7. Oji, Y., Miyoshi, Y., Koga, S., Nakano, Y., Ando, A., Nakatuska, S., Ikeba, A., Takahashi, E., Sakaguchi, N., Yokota, A., Hosen, N., Ikegame, K., Kawakami, M., Tsuboi, A., Oka, Y., Ogawa, H., Aozasa, K., Noguchi, S., and Sugiyama, H. Overexpression of the Wilms' tumor gene *WT1* in primary thyroid cancer. *Cancer Science*, 94: 606-611, 2003.
8. Tamaki H, Mishima M, Kawakami M, Tsuboi A, Kim EH, Hosen N, Ikegame K, Murakami M, Fujioka T, Masuda T, Taniguchi Y, Nishida S, Osumi K, Soma T, Oji Y, Oka Y, Kawase I, Sugiyama H, Ogawa H. Monitoring minimal residual disease in leukemia using real-time quantitative polymerase chain reaction for Wilms tumor gene (WT1). *International Journal of Hematology*, 78:349-56, 2003.
- 9. Tsuboi, A., Oka, Y., Osaka, T., Kumagai, T., Tachibana, I., Hayashi, S., Murakami, M., Nakajima, H., Elisseeva, O.A., 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.
10. 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, O.A., 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.
11. Oji Y, Miyoshi S, Takahashi E, Koga S, Nakano Y, Shintani Y, Hirabayashi H, Matsumura A, Iuchi K, Ito K, Kishimoto Y, Tsuboi A, Ikegame K, Hosen N, Oka Y, Ogawa H, Maeda H, Hayashi S, Kawase I, Sugiyama H. Absence of mutations in the Wilms' tumor gene wt1 in de novo non-small cell lung cancers. *Neoplasia*, 51:17-20, 2004
12. Hosen N, Yanagihara M, Nakazawa T, Kanato K, Nishida S, Shirakata T, Asada M, Masuda T, Taniguchi Y, Kawakami M, Tsuboi A, Ikegame K, Oka Y, Ogawa H, Kawase I, Oji Y, Sugiyama H. Identification of a gene element essential for leukemia-specific expression of transgenes. *Leukemia*, 18: 415-419 2004.
13. Oji Y, Miyoshi Y, Kiyotoh E, Koga S, Nakano Y, Ando A, Hosen N, Tsuboi A, Kawakami M, Ikegame K, Oka Y, Ogawa H, Noguchi S, Sugiyama H. Absence of mutations in the Wilms' tumor gene WT1 in primary breast cancer. *Jpn J Clin Oncol.*, 34: 74-77, 2004.
14. Oji Y, Nakamori S, Fujikawa M, Nakatsuka S, Yokota A, Tatsumi N, Abeno S, Ikeba A, Takashima S, Tsujie M, Yamamoto H, Sakon M, Nezu R, Kawano K, Nishida S, Ikegame K, Kawakami M, Tsuboi A, Oka Y, Yoshikawa K, Aozasa K, Monden M, Sugiyama H. Overexpression of the Wilms' tumor gene WT1 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Science*, 95: 583-587, 2004

15. Oji Y, Suzuki T, Nakano Y, Maruno M, Nakatsuka S, Jomgeow T, Abeno S, Tatsumi N, Yokota A, Nakazawa T, Aoyagi S, Ito K, Kanato K, Shirakata T, Nishida S, Hosen N, Kawakami M, Tsuboi A, Oka Y, Aozasa K, Yoshimine T, Sugiyama H. Overexpression of the Wilms' Tumor Gene WT1 in Primary Astrocytic Tumors. *Cancer Science*, 95: 822-827, 2004.
 - 16. 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
 17. Oji Y, Yano M, Nakano Y, Abeno S, Nakatsuka S, Ikeba A, Yasuda T, Fujiwara Y, Takiguchi S, Yamamoto H, Fujita S, Kanato K, Ito K, Jomgeow T, Kawakami M, Tsuboi A, Shirakata T, Nishida S, Hosen N, Oka Y, Aozasa K, Monden M Sugiyama H. Overexpression of the Wilms' tumor gene WT1 in esophageal cancer. *Anticancer Res*, 24: 3103-3108, 2004.
 18. 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*, in press.
 19. Tsuji T, Yasukawa M, Matsuzaki J, Ohkuri T, Chamoto K, Wakita D, Azuma T, Niiya H, Miyoshi H, Kuzushima K, Oka Y, Sugiyama H, Ikeda H, Nishimura T. Generation of human tumor-specific, HLA class I-restricted Th1 and Tc1 cells by cell engineering with tumor peptide-specific T cell receptor genes. *Blood*, in press.
1. 杉山治夫 : WT1 ペプチドを用いたがんの免疫療法 : 第 7 回基盤的癌免疫研究会総会, 東京, 2003 年 7 月 18 日
 2. 岡芳弘, 坪井昭博, 中島博子, エリセーバ・オリガ, 村上雅樹, 藤木文博, 川上学, 池亀和博, 保仙直毅, 吉原哲, 升田知機, 谷口裕紀, 尾路祐介, 呉非, 安川正貴, 宇高恵子, 小川啓恭, 川瀬一郎, 杉山治夫 : WT1 ペプチド癌ワクチンを用いた造血器悪性疾患の治療 : 第 7 回基盤的癌免疫研究会総会, 東京, 2003 年 7 月 18 日
 3. 坪井昭博, 岡芳弘, 大崎匡, 熊谷融, 野口眞三郎, 田口哲也, 中島博子, エリセーバ・オリガ, 村上雅樹, 藤木文博, 川上学, 池・亀和博, 呉非, 升田知機, 尾路祐介, 安川正貴, 宇高恵子, 小川啓恭, 川瀬一郎, 杉山治夫 : WT1 ペプチド癌ワクチンを用いた固形癌の治療 : 第 7 回基盤的癌免疫研究会総会, 東京, 2003 年 7 月 18 日
 4. 坪井昭博, 岡芳弘, 村上雅樹, 中島博子, エリセーバ・オリガ, 川上学, 尾路祐介, 池亀和博, 保仙直毅, 宇高恵子, 安川正貴, 小川啓恭, 川瀬一郎, 杉山治夫 : WT1 ペプチド癌ワクチン療法により著効を示した急性骨髄性白血病の 1 例 : 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会, 大阪, 2003 年 8 月 28 日
 5. 岡芳弘, 坪井昭博, 村上雅樹, 平井学, 富永信彦, 中島博子, エリセーバ・オリガ, 川上学, 尾路祐介, 池亀和博, 保仙直毅, 宇高恵子, 安川正貴, 小川啓恭, 川瀬一郎, 杉山治夫 : MDSおよびMDS由来白血病に対するWT1 ペプチド癌ワクチン療法 : 第 65 回日本血液学会総会・第 45 回日本臨床血液学会総会, 大阪, 2003 年 8 月 29 日
 6. 杉山治夫 : WT1 特異的免疫の誘導によるがんの治療 : 第 62 回 日本癌学会総会, 名古屋, 2003 年 9 月 25 日
 7. 尾路祐介, 瀧口修司, 池場愛, 中野陽子, 中塚伸一, 藤原義之, 山本浩文, 矢野雅彦, 安田卓司, 岡芳弘, 青笹克之, 門田守人, 杉山治夫 : WT1 遺伝子の食道癌における特異的免疫の誘導によるがんの治療 : 第 62 回 日本癌学会総会, 名古屋, 2003 年 9 月 25 日
 8. 岡芳弘, 坪井昭博, 中島博子, Elisseeva Olga, 村上雅樹, 川上学, 池亀和博, 保仙直毅, 尾路祐介, 安川正貴, 小川啓恭, 川瀬一郎, 杉山治夫 : 造血器悪性疾患に対するWT1 ペプチド癌ワクチン療法 : 第 62 回 日本癌学会総会, 名古屋, 2003 年 9 月 27 日
 9. 坪井昭博, 岡芳弘, 中島博子, Elisseeva Olga, 尾路祐介, 熊谷融, 大崎匡, 田口哲也, 野口眞三郎, 安川正貴, 小川啓恭, 川瀬一郎, 杉山治夫 : 固形癌に対するWT1 ペプチドワクチン療法 : 第 62 回 日本癌学会総会, 名古屋, 2003 年 9 月 27 日
 10. 大崎匡, 岡芳弘, 立花功, 吉田光宏, 熊谷融, 川瀬一郎, 杉山治夫, 坪井昭博 : WT1 ワクチンの肺癌治療への臨床応用 : 第 44 回 日本呼吸器学会学術講演会, 東京, 2004 年 3 月 31 日
 11. 坪井昭博, 岡芳弘, 田口哲也, 大崎匡, 許泰一, 中島博子, Elisseeva Olga, 尾路祐介, 川上学, 青笹克之, 野口眞三郎, 川瀬一郎, 杉山治夫 : 悪性腫瘍に対するWT1 ワクチン療法の第一相臨床試験 : 第 8 回 基盤的癌免疫研究会, 札幌, 2004 年 7 月 16 日

12. Elisseeva Olga, 岡芳弘, 吳非, 坪井昭博, 川上学, 杉山治夫: Humoral and cellular immune responses against Wilms tumor gene WT1 product in patients with hematopoietic malignances.: 第8回 基盤的癌免疫研究会, 札幌, 2004年7月16日
13. 中島博子, 川崎琴美, 岡芳弘, 坪井昭博, 川上学, 尾路祐介, 東市郎, 川瀬一郎, 青笹克之, 杉山治夫: WT1 ペプチドワクチンとBCG-CWSを用いた癌免疫療法のマウス治療モデルの作成: 第8回 基盤的癌免疫研究会, 札幌, 2004年7月16日
14. Hiroko Nakajima, Kotomi Kawasaki, Yshihiro Oka, Akihiro Tsuboi, Manabu Kawakami, Yusuke Oji, Ichiro Azuma, Ichiro Kawase, Katsuyuki Aozasa, Haruo Sugiyama: WT1 peptide vaccination combined with BCG-CWS is more efficient for leukemia than WT1 peptide vaccination alone: The Xth Congress of the International Society of Hematology, Asian-Pacific Division, 名古屋, 2004年9月2日
15. 東太地, 新谷泰成, 内田直之, 薬師神芳洋, 酒井郁也, 羽藤高明, 藤田繁, 大槻剛巳, 葛島清隆, 坪井昭博, 岡芳弘, 杉山治夫, 安川正貴: WT1 を標的とした骨髓腫に対する細胞免疫療法の開発: 第66回血液学会総会・第46回日本臨床血液学会総会 同時期開催, 京都, 2004年9月19日
16. 岡芳弘, 坪井昭博, 川上学, 中島博子, Elisseeva Olga, 吳非, 池亀和博, 吉原哲, 西田純幸, 升田知機, 白方俊章, 小川啓恭, 藤木文博, 許泰一, 佐々木絢子, 土肥博雄, 尾路祐介, 杉山治夫: 造血器悪性疾患に対するWT1 ペプチド癌ワクチン療法: 第66回血液学会総会・第46回日本臨床血液学会総会 同時期開催, 京都, 2004年9月19日
17. 吳非, 岡芳弘, 坪井昭博, Elisseeva Olga, 中島博子, 藤木文博, 升田知機, 吉原哲, 池亀和博, 川上学, 中川雅史, 窪田剛, 相馬俊裕, 山上保, 塚口真知子, 小川啓恭, 尾路祐介, 川瀬一郎, 杉山治夫: 造血器悪性疾患患者におけるWT1 タンパクに対するTh1型に偏位した液性免疫反応: 第66回血液学会総会・第46回日本臨床血液学会総会 同時期開催, 京都, 2004年9月19日
18. 中島博子, 川崎琴美, 岡芳弘, 坪井昭博, 川上学, 尾路祐介, 東市郎, 川瀬一郎, 青笹克之, 杉山治夫: BCG-CWSの併用によるWT1 ペプチドワクチンの腫瘍拒絶能の増強: 第63回 日本癌学会学術総会, 福岡, 2004年9月29日
19. 岡芳弘, 坪井昭博, 田口哲也, 大崎匡, 川上学, 中島博子, 尾路祐介, 許泰一, 土肥博雄, 青笹克之, 野口眞三郎, 川瀬一郎, 杉山治夫: 悪性腫瘍に対するWT1 ペプチド癌ワクチン療法第Ⅰ相臨床試験: 第63回 日本癌学会学術総会, 福岡, 2004年9月29日
20. 岡芳弘, 坪井昭博, 田口哲也, 大崎匡, 川上学, 尾路祐介, 西田純幸, 許泰一, 土肥博雄, 青笹克之, 野口眞三郎, 川瀬一郎, 杉山治夫: 造血器腫瘍および固形癌に対するWT1 ペプチド癌ワクチン療法第Ⅰ相臨床試験: 第3回日本臨床腫瘍学会総会, 横浜, 2005年3月4日