

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  
Immunotherapy targeting WT1 protein for leukemia

杉山 治夫 (Sugiyama Haruo)  
大阪大学・大学院医学系研究科・教授



研究の概要

WT1 タンパクは、白血病やほとんどの種類の固形癌での腫瘍抗原である。そこで、WT1 タンパクの断片である WT1 ペプチドを皮内に投与することにより、WT1 タンパク特異的キラーT細胞を誘導し、白血病を治療しようという WT1 免疫療法の研究開発を行なった。

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学 血液内科学

キーワード：① WT1 ②Wilm's tumor gene ③白血病 ④免疫療法

1. 研究開始当初の背景・動機

白血病の治療の中心は、抗がん剤を用いた化学療法であり、その有効性は、抗癌剤の種類と、その投与方法に大きく依存している。そこで、既存の抗癌剤については、有効性を高めるための投与方法について、多くの臨床研究がなされ、また、新規な抗癌剤が出現すれば、その新規な抗癌剤をとり入れた治療プロトコールが作製され、それに基づいた臨床研究が次々となされてきた。しかしながら、残念なことに、このような多大な努力にもかかわらず、最近の10年間、成人白血病の治療成績の大きな向上が見られない。本研究は、この成績を向上させるために計画された。

2. 研究の目的

上記のことは、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いることを如実に示していると言え、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、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。

3. 研究の方法

(1)WT1 ペプチド (0.3mg/body ~

3.0mg/body) をモンタナイドアジュバントとともに、毎週~2週間毎に皮内投与し、その安全性と、臨床効果及び免疫学的効果を評価する。

(2)WT1 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の頻度を WT1 テトラマー法を用いて測定し、WT1 特異的 CTL と臨床効果出現との相関を解析する。

4. 研究の主な成果

1. AML 患者3人に対する WT1 ワクチンの長期投与による完全寛解の持続  
2001年に、WT1 ワクチンの安全性を評価するために、第I相臨床研究を開始した。天然型 WT1 ペプチド (CMTWNQMNL) あるいは、改変型 WT1 ペプチド (CYTWNQMNL) をモンタナイドアジュバントとともに、0.3mg/body、3人→1.0mg/body→3人、3.0mg/body、3人とdose-upしながら、2週間毎に計3回、皮内投与し、副作用と、臨床効果や免疫学的効果を評価した。AML12人のうち、8人が臨床効果を評価しうる病変である微小残存白血病細胞 (骨髄や末梢血の WT1mRNA レベルが高値) をもっていた。この8人のうち4人で、WT1 ワクチン3回投与内に、WT1mRNA レベルが低下し、臨床効果が見られた。この4人のうち3人が (改変型 WT1 ペプチド 3.0mg/body 投与) が現在まで、5年~5年2ヶ月にわたって、WT1 ワクチンが継続投与されており、完全寛解が持続している。免疫学的効果については、

WT1 テトラマー法にて、WT1 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を定量したところ、WT1 特異的 CTL が持続的に誘導されていた。このような症例は、世界的にみても、我々のこの症例のみである。

2. 白血病の頻縁疾患である骨髓異形成症候群に対する WT1 免疫療法

前述の第 I 相臨床研究において、骨髓異形成症候群 (MDS) の 2 人に改変型 WT1 ペプチドを 0.3mg/body 投与したところ、2 人ともに、急激な白血球の減少が起こり、敗血症を発症した。これらの症例では、WT1 ワクチンの単回投与で、WT1 特異的 CTL が急速に誘導され、それによって、トランスフォームした WT1 発現白血病幹細胞が kill されたため、急速に、下流の、より分化した白血病細胞 (末梢血細胞の大部分を占める) が死滅し著効を呈したと考えられる。

これらのことは、MDS に対しては、WT1 特異的 CTL が急速に誘導されないよう、むしろ、ゆっくりと、誘導するのがよいと考えられた。WT1 特異的 CTL をゆっくりと誘導するための新しい第 I 相臨床研究を開始した。改変型 WT1 ペプチド 5  $\mu$  g/body、3 人→15  $\mu$  g/body、3 人→50  $\mu$  g/body、3 人と dose-up しながら、2 週間毎に、計 3 回投与し、安全性を評価した。副次的に、臨床効果と免疫学的効果を評価した。5  $\mu$  g/body 投与された 3 人のうち 2 人に臨床効果が見られた。1 人では、WT1 ワクチン投与後、白血球が徐々に低下し、臨床効果が出現した。

3. WT1 特異的 CTL 頻度の 1.5 倍以上増加と臨床効果との間に有意 ( $P < 0.05$ ) な相関が見られ、本免疫療法の Effector の少なくとも 1 つは、WT1 特異的 CTL であることが明らかになった。

5. 得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

我々が世界に先がけて本免疫療法を実施し、本免疫療法は安全であり、かつ十分な臨床効果が見られることを実証してから、世界的に同様な臨床研究が開始され激しい競争状態になってきた。

6. 主な発表論文

(研究代表者は太字、研究分担者には下線)

1. Kawakami M, Oka Y, Tsuboi A, Harada Y, Elisseeva OA, Furukawa Y, Tsukaguchi M, Shirakata T, Nishida S, Nakajima H, Morita S, Sakamoto J, Kawase I, Oji Y, **Sugiyama H**. Clinical and immunologic responses to very low-dose vaccination with WT1 peptide (5  $\mu$ g/body) in a patient with chronic

myelomonocytic leukemia. *Int J Hematol*, 85, 426-9, 2007.

2. 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.
3. 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 nine mer 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.
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. Oka Y, Tsuboi A, Taguchi T, Osaki T, Kyo T, Nakajima H, 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. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101:13885-13890, 2004.

ホームページ等

<http://sahswww.med.osaka-u.ac.jp/%7Ehmtonc/index.html>