

ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1；機能と臨床応用

杉山 治夫*

I. WT1 遺伝子の機能

WT1 遺伝子は、小児の腎がんであるウィルムス腫瘍の原因遺伝子として単離された遺伝子で、癌抑制遺伝子と定義された。WT1 遺伝子は転写因子をコードし、数々の遺伝子の転写を制御している。WT1 遺伝子は、白血病や種々の固形癌で高発現し、細胞増殖の促進、アポトーシスの抑制、細胞運動能の増強などの機能を果たしている。また、WT1 遺伝子を造血幹細胞に発現するようにしたトランスジェニックマウスは、白血病を発症する。WT1 遺伝子のノックアウトマウスは胎生致死である。種々のデータから、我々は、WT1

遺伝子は、癌抑制遺伝子というよりも、がん遺伝子であることを提唱している。

II. WT1mRNA は、白血病の腫瘍マーカーである

WT1 遺伝子は、急性骨髄性白血病 (AML) や急性リンパ性白血病 (ALL) で高発現し、白血病細胞の腫瘍マーカーである¹⁾。よって WT1mRNA の定量により白血病の微小残存病変 (MRD: Minimal Residual Disease) を検出できる (図 1)。WT1 遺伝子は、骨髄の造血幹細胞の一部に発現しているため、骨髄には、WT1mRNA のバックグラウンドレベルが存在するが、末梢血では WT1mRNA バッ

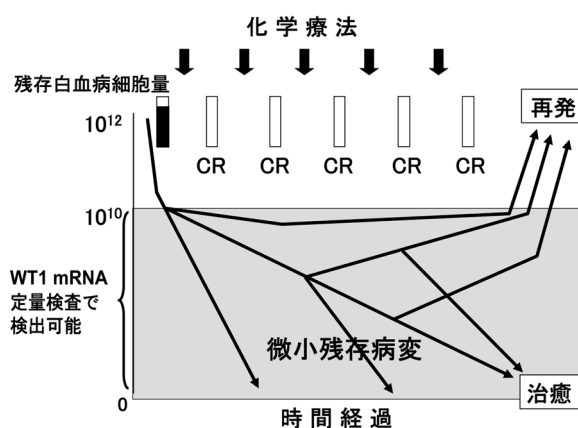


図 1 WT1mRNA 定量検査による白血病の微小残存病変の検出

WT1mRNA によって、白血病の化学療法中の微小残存病変を real time に検出でき、治療の有効性や再発を早期に診断できる。

*大阪大学大学院医学系研究科 保健学専攻医療技術科学分野 機能診断科学講座 sugiyama@sahs.med.osaka-u.ac.jp

クグラウンドレベルはかなり低い。よって、WT1mRNA の RT-PCR 法による定量による白血病の MRD の検出感度は、骨髓検体では、 10^{-3} ～ 10^{-4} 、末梢血検体では約 10^{-5} である。WT1mRNA 定量検査は、下記のような有用性をもつ。

① 治療効果が的確に診断できる。形態学的に白血病細胞に見えないものがあるので、形態学的診断では、必ずしも正確に診断できるとは限らない。例えば、形態学的診断では、白血病芽球が正常レベルであるので、完全寛解と診断されたが、WT1mRNA レベルが高値であった症例があったが、この症例では、その後しばらくして、形態学的に白血病芽球と診断される細胞が著増し、臨床的再発をきたした。このことは、形態学的診断では、必ずしも白血病芽球量を診断できるわけではないことを示している。

② 白血病の再発が早期に判断できる(分子再発の時点で診断できる)。WT1mRNA レベルのモニタリングにより、形態学的な白血病の再発診断よりかなり早く、再発の兆候を診断できる。

③ 白血病化しやすい疾患(例えば、骨髓異形成症候群)が、どの程度、白血病化しているかをモニターできる。骨髓異形成症候群の治療の最大の問題点の 1 つは、白血病化の兆候をいち早く診断することであるが、形態学的診断では困難なことが多い。WT1mRNA レベルのモニタリングにより白血病化の程度を real time に診断しうる。

④ 反応性白血球増加と腫瘍性白血球増多(白血病)とを鑑別できる。反応性に白血球が増加しても、WT1mRNA レベルが上昇しない。

⑤ 白血病発症を早期診断しうる可能性がある。将来、健康診断での白血病の早期診断に有用である可能性がある。

本 WT1mRNA 定量検査は、世界に先がけて日本で商品化され、2007 年 11 月、保険採用され、白血病治療の必須の検査として欧米にも広がっている。

III. WT1 遺伝子の固形癌で高発現

WT1 遺伝子は、ほとんどすべての種類の固形癌で発現が見られ、WT1 遺伝子は、固形癌での

腫瘍マーカーでもある。WT1 遺伝子は、cell cycle を促進させることにより細胞増殖を促進し、ミトコンドリア膜の安定化を介して、アポトーシスを抑制する。また、WT1 遺伝子は、細胞骨格構成タンパクを制御することにより、細胞形態の変化に関与し、細胞の接着能を低下させ、運動能を高める機能をもっている²⁾。

IV. WT1 タンパクは汎腫瘍抗原

WT1 タンパクは、白血病やほとんどすべての種類の固形癌で高発現し、汎腫瘍抗原になる(図 2)。MHC クラス I 拘束性のマウス WT1 ペプチドでマウスを免疫すると、WT1 発現腫瘍細胞の生着を拒絶した³⁾。このことより、WT1 タンパクは腫瘍拒絶抗原であることが明らかになった。そこで、ヒトの末梢血単核球から、HLA-A*0201 及び HLA-A*2402 拘束性に WT1 特異的キラー T 細胞を誘導しうる WT1 ペプチドを同定した。HLA-A*2402(日本人の約 20%)拘束性 WT1 ペプチドとして RMFPNAPYL と SLGEQQYSV を同定し、HLA-A*0201(日本人の約 60%)拘束性 WT1 ペプチドとして、CMTWNQMNL とその改変型 CYTWNQMNL を同定した。

V. WT1 ペプチドを用いたがんに対する免疫療法の第 I 相臨床研究⁴⁾⁵⁾

2001 年、白血病、骨髓異形成症候群(MDS)、肺癌、乳癌の 20～80 歳、PS0-2 の患者を対象にして WT1 ペプチド免疫療法の第 I 相臨床試験を開始した。HLA-A*2402 の患者(日本人の約 60%)に、天然型(natural)9-mer WT1 ペプチド(CMTWNQMNL)あるいは改変型(modified)9-mer WT1 ペプチド(CYTWNQMNL)とモンタナイドアジュバントのエマルジョンを 2 週間毎に 1 回、計 3 回皮内注射した。0.3mg/body→1.0mg/body→3.0mg/body と 3 人ずつ dose-up した。計 26 人に WT1 ペプチドを 1 回以上投与した。MDS 2 人に 1 回だけ WT1 ペプチドを投与したところ、2 人全員に白血球(白血病細胞)が著減し、MDS には著効を呈することを示した。正常造血能を保った MDS 以外の 24 人の患者には、WT1 ワクチン

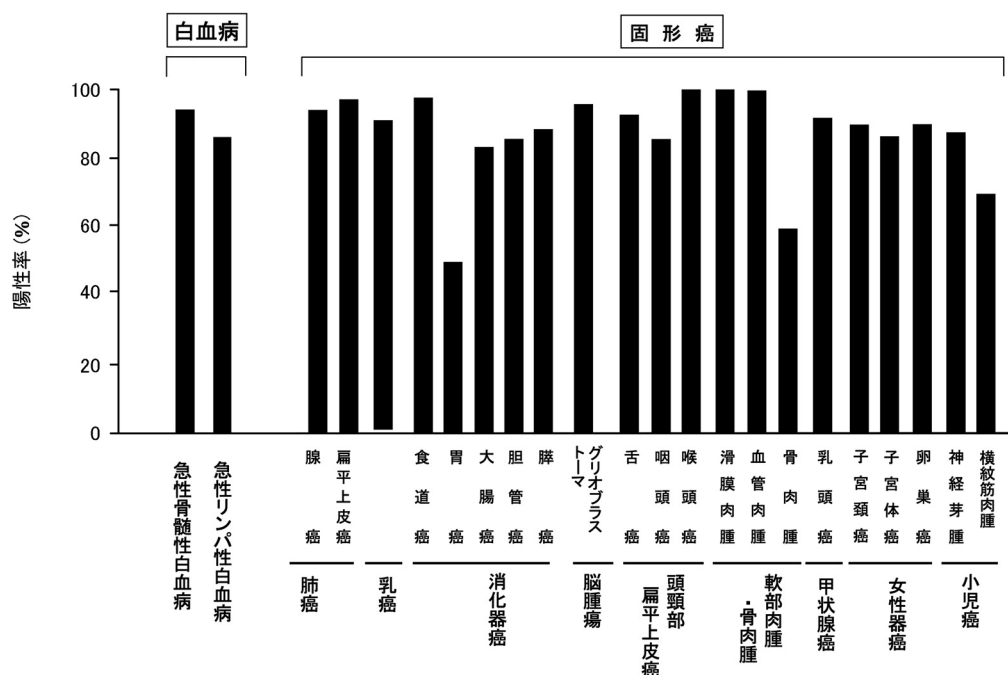


図2 WT1 タンパクは、白血病やほとんどの種類の固形癌で発現する汎腫瘍癌抗原

投与部位の発赤、腫脹以外、特記すべき副作用はみられなかった。

MDS が stem cell leukemia であり、ほとんどすべての血液細胞が transform した hematopoietic stem cell 由来であることから、誘導された WT1 特異的 CTL (0.62% から 6.61% に増加) が、この WT1 を発現した transformed stem cell を傷害したため、この stem cell 由来のすべての白血球が減少したと考えられる。分子再発した AML の 3 症例には、WT1 ペプチドを現在まで 6 年 9 ヶ月～7 年 1 ヶ月にわたり継続投与されているが、白血球数の減少は全く起こらず、白血病細胞のみが減少し、完全寛解が持続しており、治癒の可能性が高い。WT1 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。

VI. 新臨床研究

第 I 相臨床研究の結果から、造血が正常である固形癌や悪性リンパ腫、及び骨髄に病変があるが正常造血が十分に残存している急性白血病や多発性骨髄腫では、WT1 免疫能を強める臨床研究が

安全に行えることが判明した。しかし、正常造血に乏しい骨髄異形成症候群や慢性骨髄性白血病では、急速な WT1 特異的 CTL の増加が、白血球を激減させ、敗血症をひきおこす可能性が高いので、WT1 免疫能を弱める臨床研究が必要であることが明らかになった。

1. WT1 免疫能を強化した WT1 ペプチド免疫療法

第 I 相臨床研究では、WT ワクチンを 2 週間毎に 1 回投与したが、本臨床研究では、改変型 WT1 ペプチド 3.0mg/body を毎週、計 12 回、投与して、臨床効果を評価した。WT1 ワクチン(改変型 WT1 ペプチド 3.0mg/body + モンタナイド アジュバント)を毎週投与した WT1 ペプチド免疫療法の安全性は確立された⁶⁾。

多発性骨髄腫 4 例中、ECOG の評価基準で 1 例が MR (Minor Response) で、2 例が NC (No Change) であった⁷⁾。MR の 1 例では、BM でのミエローマ細胞が減少し、尿中 M タンパクも減少し、骨シンチグラムでは、肋骨の病変が軽快した。再発神経膠芽腫では⁸⁾、36 例中 PR (Partial Remission) 2 例(図 3)、SD (Stable Disease) 19 例、PD

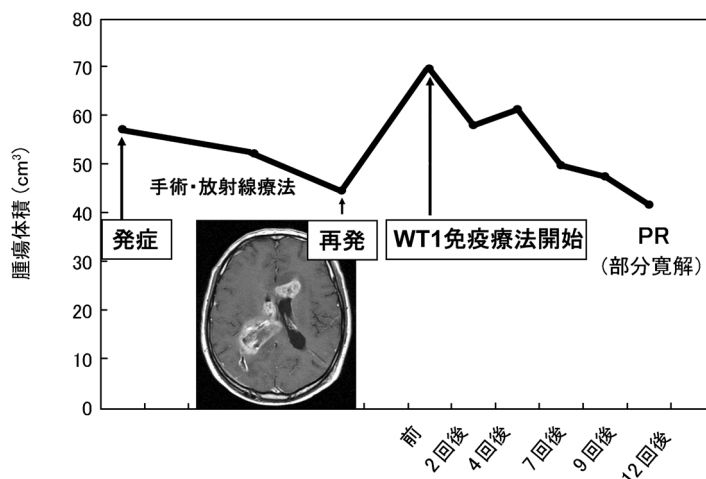


図3 再発神経膠芽腫(33歳, 男性)

WT1 ワクチンの投与によりすみやかに腫瘍が縮小し PR となる。治療前、昏睡であったが、投与 10 回目頃には、意識が清明となった。

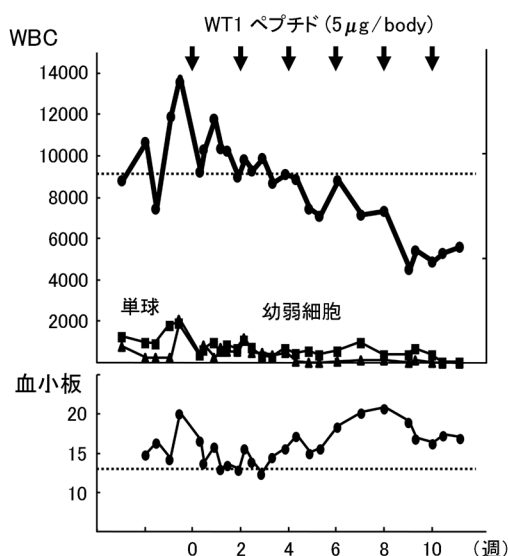


図4 骨髓異形成症候群(60歳代, 男性)

極少量(5 µg/body)の WT1 ペプチドの投与が有効で、WBC(大部分が白血病細胞由来)が減少し、血小板も回復した。

(Progressive Disease) 15 例で、SD のうち 3 人は、1 年 6 ヶ月～4 年 11 ヶ月間無増悪生存しており、臨床的には CR(Complete Remission)と考えられる。

2. WT1 免疫能を減弱させた WT1 ペプチド免疫療法

骨髓異形成症候群では、0.3mg/body の WT1 ペプチドのただ 1 回の投与で顆粒球(大部分は白血球細胞由来)の急激な減少が起こるので、WT1 特異的 CTL をゆっくりと誘導し、ゆっくりと白血球幹細胞を殺傷するための新しい第 I 相臨床研究を開始した⁹⁾。改変型 WT1 ペプチド 5 µg/body、3 人→15 µg/body、3 人→50 µg/body、3 人と dose-up を行う。5 µg/body を投与した 3 例中 1 例に WBC(大部分が白血球細胞由来)の減少が起こり、臨床効果が出現し(図 4)、WT1 特異的 CTL の増加が見られた。

VII. ま と め

WT1 遺伝子は、発癌遺伝子様の機能をもち、腫瘍細胞の増殖、転移などに重要な役割を果たしている。WT1mRNA は白血病の MRD のマーカーであり、WT1mRNA 定量検査は、白血病治療に必須の検査として日本で商品化され、保険採用され、欧米にも広がっている。WT1 タンパクは汎腫瘍抗原であり、HLA-A 拘束性の WT1 ペプチドを用いたがんの免疫療法のトランスレーショナルリサーチが開始され、その有用性が実証されてき

表 1 癌の治療戦略

癌が発見されたなら、すぐに免疫療法をスタートし、完治するまで続ける。 手術療法 ・手術前から免疫療法を開始し、ずうーと免疫療法を続ける。 抗がん剤療法 ・強力な抗癌剤は、短期決戦的に使う。 ・効かない抗がん剤を、だらだらと使わない。 放射線療法 ・免疫能を抑制するので、治療効果が見込める時以外は、むやみに照射しない。 免疫療法 + 手術療法 + 抗がん剤療法 + 放射線療法 手術療法、抗がん剤療法、放射線療法、免疫療法の各治療のいいところ取りをする。

た。免疫療法は、免疫能を十分に温存している患者には、予想をはるかに越えたポテンシャルをもっていると考えられる。今後の癌の治療戦略としては、癌の診断がつき次第、免疫療法を開始し、免疫療法を続けながら、手術、抗がん剤、放射線を的確に行い、常に免疫療法を続けて、がん幹細胞の撲滅をはかり、治癒につなげるのがよいと考える(表 1)。WT1 ペプチド免疫療法は、この治療戦略において重要な役割を果たすものと考えられる。

文 献

- 1) Sugiyama H. Wilms' tumor gene WT1: its oncogenic function and clinical application. *Int J Hematol* 2001; 73: 177-87.
- 2) Ito K, Oji Y, Tatsumi N, Shimizu S, Kanai Y, Nakazawa T, et al. Anti-apoptotic function of 17AA(+)WT1 (Wilms' tumor gene) isoforms on the intrinsic apoptosis pathway. *Oncogene* 2006; 25: 4217-29.
- 3) Oka Y, Uda K, Tsuboi A, et al. Cancer immunotherapy targeting Wilms' tumor gene WT1 product. *J Immunol* 2000; 164: 1873-80.
- 4) Oka Y, Tsuboi A, Taguchi T, et al. Induction of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific cytotoxic T lymphocytes by WT1 peptide vaccine and the resultant cancer regression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 13885-90.
- 5) Sugiyama H. Cancer immunotherapy targeting Wilms' tumor gene WT1 product. *Expert Rev Vaccines* 2005; 4: 503-12. Review.
- 6) Morita S, Oka Y, Tsuboi A, et al. 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; 36: 231-6.
- 7) Tsuboi A, Oka Y, Nakajima H, et al. Wilms tumor gene WT1 peptide-based immunotherapy induced a minimal response in a patient with advanced therapy-resistant multiple myeloma. *Int J Hematol* 2007; 86: 414-7.
- 8) Izumoto S, Tsuboi A, Oka Y, et al. Phase II clinical trial of Wilms tumor 1 peptide vaccination for patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* 2008; 108: 963-71.
- 9) Kawakami M, Oka Y, Tsuboi A, et al. Clinical and immunologic responses to very low-dose vaccination with WT1 peptide (5 microg/body) in a patient with chronic myelomonocytic leukemia. *Int J Hematol* 2007; 85: 426-9.