

## 特別講演

## 日本発、世界一の診断・医療技術

杉山 治夫\*

[Key Words] ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1、がん、がん免疫療法、がんワクチン

## I. ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1

WT1 遺伝子は、小児の腎がんである Wilms' Tumor の原因遺伝子として単離され、種々の遺伝子の転写を制御する転写因子をコードしている。WT1 はがん抑制遺伝子と定義されているが、一連の研究から、WT1 は、細胞の増殖を促進し、アポトーシスを抑制する機能をもったがん遺伝子であることを提唱している<sup>1)</sup>。1994 年に、WT1 遺伝子がほとんどの白血病で高発現する白血病的腫瘍マーカーであることを発見し、WT1mRNA を定量することにより、末梢血で、10 万個の正常細胞の中に 1 個の白血病細胞を、正確、かつ迅速に検出できる WT1mRNA 定量臨床検査を開発した。この WT1mRNA 定量臨床検査を用いると、白血病や骨髄異形成症候群の患者体内に残存し、刻々と変動する白血病細胞量を、real-time に、正確に検出することができる。WT1mRNA は急性骨髄性白血病の 94% に高発現しているが、キメラ遺伝子の発現は 24% 程度であるので、WT1mRNA 定量臨床検査の有用性は高い。この WT1mRNA 定量臨床検査は、2007 年に急性骨髄性白血病に対し、また 2011 年には骨髄異形成症候群に対して、保険採用され、白血病や骨髄異形成症候群の必須の検査として、急速にひろがって

おり、欧米にも浸透してきた。また、WT1 は、ほとんどの種類の固形がんで高発現するので、WT1 免疫染色によって WT1 の発現を解析することにより、がんかがんでないかの診断に役立つ。

さらに WT1 タンパクは、白血病などの血液悪性疾患及び、ほとんどすべての種類の固形がんに高発現する汎腫瘍抗原であることを見出し(図 1)<sup>2)</sup>、WT1 ペプチドを用いたがん免疫療法を開発した。がんの分子標的療法のうち、分子標的薬は、がん細胞の特性を標的にして、がん細胞を傷害しようとする治療法であるが、その特異性は絶対でないため、正常細胞への傷害も同時に起こる。一方、がんの分子標的療法のうち免疫療法は、がん細胞のみを傷害する特異性がきわめて高いため、副作用が少ない体にやさしいがんの治療法として大きな注目を集め、世界的にすさまじい勢いで、研究開発が行われている。米国がん研究所が、既存の 75 種類の腫瘍抗原の有用性について、9 項目について評価を行い、WT1 タンパクを第 1 位にランクした(図 2)<sup>3)</sup>。

## II. 第 I 相臨床研究

2001 年から、WT1 ペプチド免疫療法の第 I 相臨床研究を開始した<sup>4)</sup>。HLA-A\*24:02 の患者(日本人の約 60%)に、天然型 WT1 ペプチド

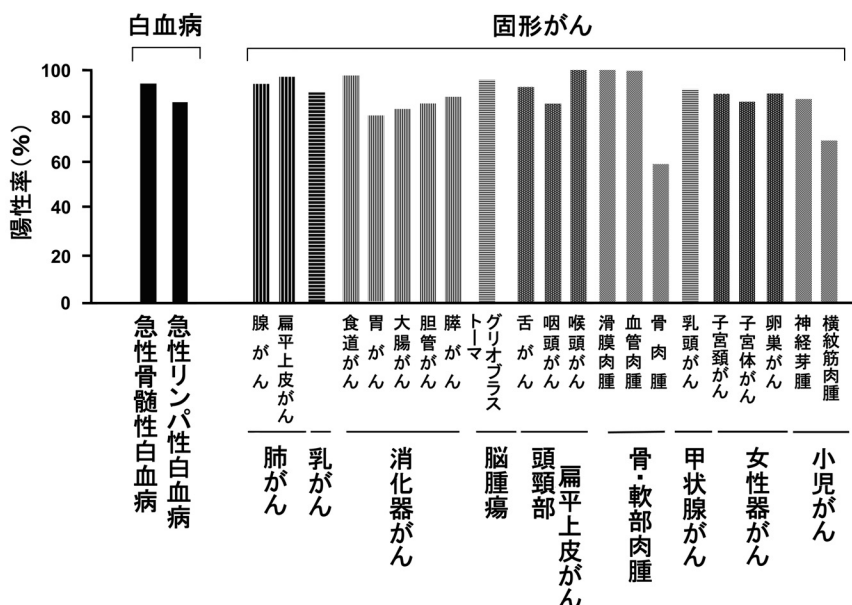


図1 WT1 タンパクは、白血病やほとんどの種類の固形がんて発現する汎腫瘍がん抗原

(CMTWNQMNL)あるいは改変型 WT1 ペプチド (CYTWNQMNL)<sup>4)</sup>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。骨髓異形成症候群 (MDS) 2人に1回だけ WT1 ペプチドを投与したところ、2人に白血球 (白血病細胞) が著減し、MDS には著効を呈することを示した<sup>5)</sup>。正常造血能を保った MDS 以外の24人の患者 (AML, 肺がん, 乳がん) には、WT1 ペプチドワクチン投与部位の発赤、腫脹以外、白血球の減少などの重篤な副作用はみられず、有効性を示した。分子再発した AML の3症例には、WT1 ペプチドワクチンを現在まで最長9年継続投与されたが、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、10年7ヶ月～10年8ヶ月間、完全寛解が持続しており、治癒の可能性が高い。重篤な副作用も見られず、WT1 ペプチドワクチンの長期投与の安全性が明らかになってきた<sup>6)</sup>。

末期の乳がん患者の1人は、右乳房の広範囲切除後、化学療法を行ったが、リンパ節再発 → 化

学療法無効 → 右肺門リンパ節転移 → 化学療法無効 → 小脳転移をきたし、他の治療法がないことから、WT1 ペプチドワクチンの投与を開始したところ、5回の投与で肺転移巣が縮小し、部分寛解 (PR) となった (図3)<sup>4)</sup>。

### III. 新 I/II 相臨床研究

第 I 相臨床研究の結果から、正常造血が十分に残存している疾患 (固形がん、白血病寛解期) では、WT1 免疫能を強めた臨床研究が安全に行えることが、正常造血がほとんどない疾患 (骨髓異形成症候群や慢性骨髄性白血病) では、WT1 免疫能を弱めた臨床研究が必要であることが明らかになった<sup>7)</sup>。

**1. WT1 免疫能を強化した WT1 ペプチドワクチン**  
改変型 WT1 ペプチド 3.0mg/body を毎週1回、計12回投与した。

1) 再発悪性神経膠芽腫<sup>8)</sup>

65例中 CR 1例、PR 2例、SD 28例、PD 34例で、SD のうち3人は、4年10ヶ月～8年2ヶ月間、無増悪生存しており、臨床的には治癒の可能性が高いと考えられる (図4)。

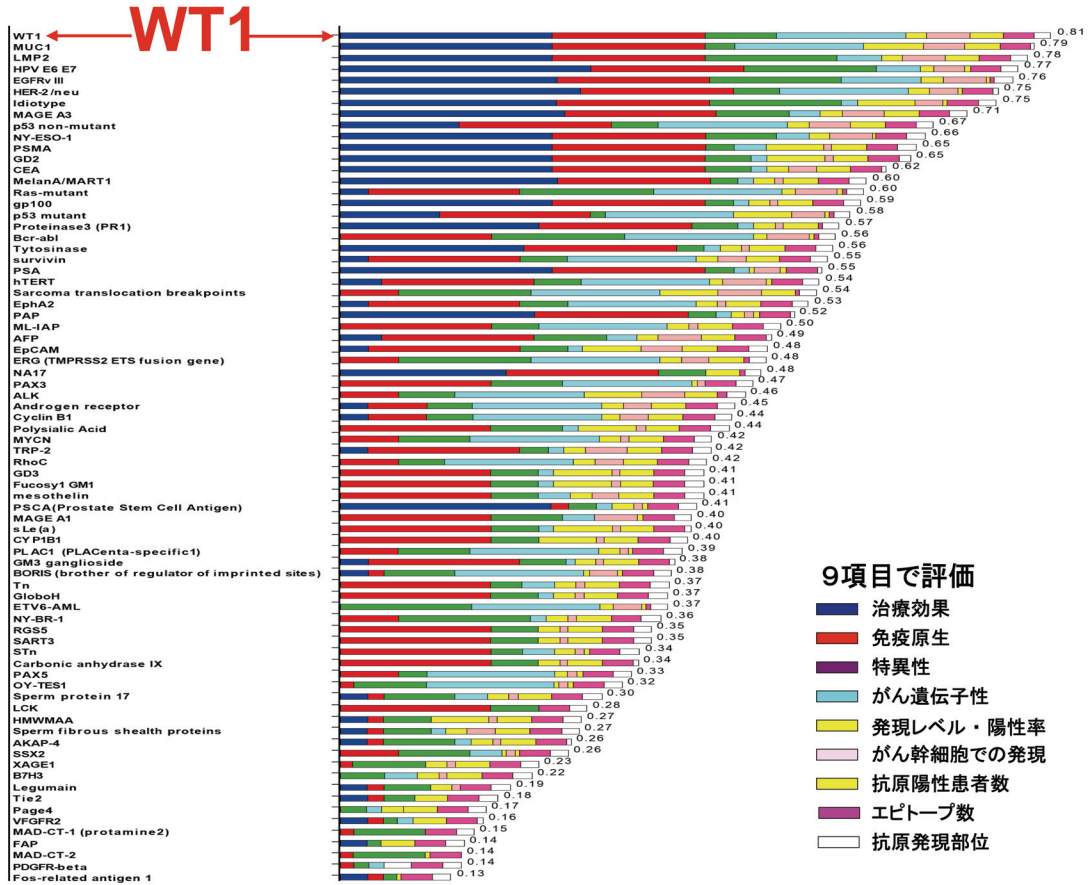


図2 米国がん研究所が、9つの評価項目に応じて、75種類のがん抗原を評価  
WT1が第1位にランクされた。

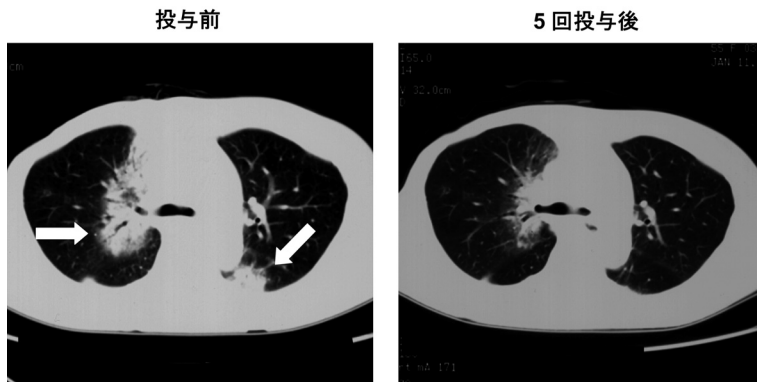


図3 乳がん

WT1 ペプチドワクチンを2週間毎に5回投与したところ、転移巣が縮小し、部分寛解となった。

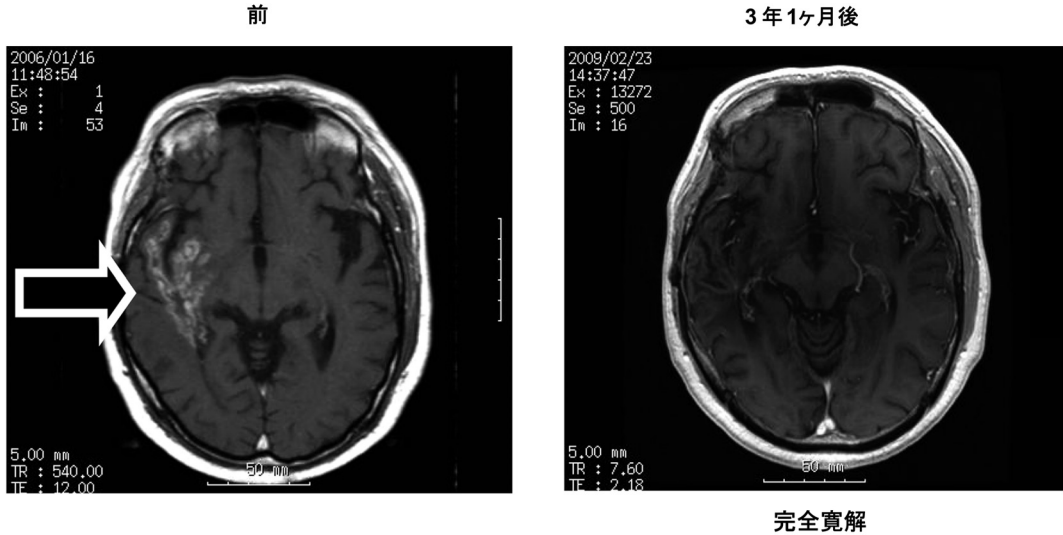


図4 再発神経膠芽腫(グリオブラストーマ)  
(40歳台, 男性)

WT1 ペプチドワクチンの投与1-2ヶ月後によりSDとなる。その後、ゆっくりと腫瘍が縮小し、3年1ヶ月後には完全寛解(CR)となり、現在まで7年11ヶ月生存し、社会復帰している。

## 2) 婦人科がん

WT1 ワクチンの効果が期待されるがん腫の1つである。1~13種類の前治療があり、化学療法、放射線療法に多剤耐性になった末期の婦人科がん患者40人(卵巣がん24人、子宮頸がん11人、肉腫5人)にWT1 ワクチンを投与したところ、16人はSD(40%)で、24人はPD(60%)であった<sup>9)</sup>。別の臨床研究では、多剤耐性の女性器がんの5/9(55.6%)がSDであった<sup>10)</sup>。

## 3) 腎がん

一般的に免疫療法の有効性が高いがん腫であるが、WT1 ワクチンも有効性が期待される。腎細胞がんの1例(67歳、男性)では、手術後、IFN- $\alpha$  → IL-2 と治療されたが増悪してきたので、WT1 ワクチンを投与したところ、SDとなった<sup>11)</sup>。

## 4) 唾液腺がん

手術、放射線療法、抗がん剤療法後に再発したので、種々の抗がん剤が投与されたが、無効であった。そこで、WT1 ペプチドワクチンが投与されたところ、腫瘍が縮小し、増殖が抑制された(SD)<sup>12)</sup>。

## 5) 小児がん

小児がんの多くでWT1が高発現しており、WT1 ペプチドワクチンが期待されている。橋井らは、WT1 ペプチドワクチンが、多剤耐性になった多くの横紋筋肉腫患者に有効であることを見出した。例えば、末期の横紋筋肉腫患者(7歳、女児)にWT1 ワクチンを投与したところ、3ヶ月で骨転移が消失し、完全寛解し、現在まで7年9ヶ月完全寛解が持続しており、治癒の可能性がある<sup>13,14)</sup>。

## 2. WT1 免疫能を減弱させた WT1 ペプチドワクチン

骨髄異形成症候群(MDS)では、WT1 ペプチド0.3mgの投与で著功し、白血球(大部分が白血病細胞)が著減し、危険であったので、WT1 ペプチド5 $\mu$ g → 15 $\mu$ g → 50 $\mu$ g とDose-Upする臨床研究を行った。5 $\mu$ gの極少量でも臨床効果が発現して、白血病細胞の減少が起こった。15 $\mu$ g、50 $\mu$ gでも臨床効果がみられ、理論どおり、MDSでは、WT1 ペプチドワクチンの効果が高いことが示された。

### 3. 抗がん剤と併用した WT1 ペプチドワクチン

1) 膵がん、胆道がんに対してジェムシタピンとの併用で WT1 ペプチドワクチンが投与された。投与 2 ヶ月目での病勢コントロール率は、膵がんが 89%、胆道がんが 50% であり、安全性が明らかになった<sup>15,16)</sup>。

2) 慢性骨髄性白血病において、bcr-abl チロシンカイネーゼのインヒビターであるグリベック単独で十分な効果がない症例に対して、WT1 ペプチドワクチンを併用する第 I/II 相臨床研究を開始した<sup>17)</sup>。グリベック単独では、bcr-abl mRNA が十分に低下しえなかった 78 歳の患者に対し、WT1 ペプチドワクチンを投与したところ、WT1 特異的キラー T 細胞 (WT1-CTL) の増加とともに bcr-abl mRNA が感度以下まで低下した。特記すべきことは、WT1 ペプチドワクチンの投与後、WT1-CTL の Effector-Memory 型が著増したことであり、WT1 ペプチドワクチンの投与が、WT1-CTL の質的変化を誘導し、臨床効果を高めることが示唆された。

### 4. 造血幹細胞移植に併用した WT1 ペプチドワクチン

橋井ら<sup>18)</sup>は、造血幹細胞移植 (HSCT) 後の早期再発患者や早期再発ハイリスクの AML や ALL 患者に対して WT1 ペプチドワクチンを投与し、移植後早期のまだ免疫抑制剤が使われている時期での WT1 ペプチドワクチンが非常に有効に働くことを明らかにした。予期に反し、強力な免疫抑制療法中にもかかわらず、WT1 ワクチンの投与により、WT1 特異的キラー T 細胞が誘導され、白血病細胞が傷害されることが明らかになってきた。最初は、橋井らによって小児がんに対する HSCT 後の WT1 ペプチドワクチンの有用性が示されたが、その後、成人白血病に対する HSCT 後の WT1 ペプチドワクチンの有用性も明らかになってきた。このことは、人為的に作りだされた免疫抑制状態が、WT1 ペプチドワクチンのプライミングに適している可能性を示唆しているものと考えられる。このことをさらに演繹すると、化学療法後の免疫抑制状態 (体力的には全免疫能は温存されており、一時的な免疫抑制状態を意味し、

化学療法をし切って免疫能が完全に消失している状態ではない) は、WT1 ペプチドワクチンのプライミングに適している可能性があり、今後、このことを検証したい。

## IV. 今後の展望

現在、WT1 キラーペプチドワクチンが、HLA-A02:01 用と HLA-A24:02 用の 2 種類と、HLA 拘束性のない WT1 ヘルパーペプチドワクチン 1 種類の計 3 種類の WT1 ペプチドワクチンが、日本、米国、アジアで、企業治験中である。がんが診断されたならば、すぐに免疫療法を開始し、免疫療法を継続しながら、手術、抗がん剤、放射線療法などの適用があれば、それを併用することにより、治癒率が大きく向上するものと思われる (図 5)。

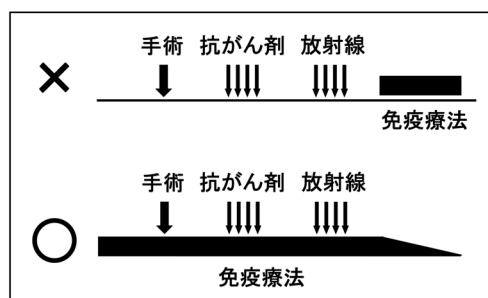


図 5 がんの治療戦略

がんが診断されたならば、すぐに免疫療法を開始し、その後、手術、化学療法や放射線などを併用することにより、免疫療法のみがもつがん幹細胞を死滅させる能力が十分に発揮でき、がんの治癒の可能性が高まる。

## 文 献

- 1) Sugiyama H. Wilms' tumor gene WT1 : its oncogenic function and clinical application. *Int J Hematol* 2001; 73: 177-87.
- 2) Sugiyama H. WT1 (Wilms' tumor gene 1) : biology and cancer immunotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 377-87.
- 3) Cheever MA, et al. The prioritization of cancer antigens : a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5323-37.

- 4) Oka Y, 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) Oka Y, et al. Wilms tumor gene peptide-based immunotherapy for patients with overt leukemia from myelodysplastic syndrome (MDS) or MDS with myelofibrosis. *Int J Hematol* 2003; 78: 56-61.
- 6) Tsuboi A, et al. Long-term WT1 peptide vaccination for patients with acute myeloid leukemia with minimal residual disease. *Leukemia* 2011; 26: 1410-3.
- 7) Morita S, 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.
- 8) Izumoto S, 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) Miyatake T, et al. WT1 Peptide Immunotherapy for Gynecologic Malignancies Resistant to Conventional Therapies : a Phase II trial. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 457-63.
- 10) Ohno S, et al. Wilms' tumor 1 (WT1) peptide immunotherapy for gynecological malignancy. *Anticancer Res* 2009; 29: 4779-84.
- 11) Iiyama T, et al. WT1 (Wilms' Tumor 1) peptide immunotherapy for renal cell carcinoma. *Microbiol Immunol* 2007; 51: 519-30.
- 12) Shirakata T, et al. WT1 Peptide Therapy for a Patient with Chemotherapy-resistant Salivary Gland Cancer. *Anticancer Res* 2012; 32: 1081-6.
- 13) Ohta H, et al. WT1 (Wilms' tumor 1) peptide immunotherapy for childhood rhabdomyosarcoma. *Pediatric Hematology and Oncology* 2009; 26: 74-83.
- 14) Hashii Y, et al. WT1 peptide immunotherapy for cancer in children and young adults. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 55: 352-5.
- 15) Kaida M, et al. Phase 1 trial of Wilms tumor 1 (WT1) peptide vaccine and gemcitabine combination therapy in patients with advanced pancreatic or biliary tract cancer. *J Immunother* 2011; 34: 92-9.
- 16) Okusaka T, et al. Possibility of immunotherapy for biliary tract cancer. how do we prove efficacy? Introduction to a current ongoing phase I and randomized phase II study to evaluate the efficacy and safety of adding Wilms tumor 1 peptide vaccine to gemcitabine and cisplatin for the treatment of advanced biliary tract cancer (WT-BT trial). *J Hepato Biliary Pancreat Sci* 2012; 19: 314-8.
- 17) Oji Y, et al. WT1 peptide vaccine induces reduction in minimal residual disease in an Imatinib-treated CML patient. *Eur J Haematol* 2010; 85: 358-60.
- 18) Hashii Y, et al. WT1 peptide vaccination following allogeneic stem cell transplantation in pediatric leukemic patients with high risk for relapse. successful maintenance of durable remission. *Leukemia* 2012; 26: 530-2.