

令和 2 年 5 月 22 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K10881

研究課題名(和文) グレード2/3神経膠腫に対するWT1免疫療法の開発と抑制系/促進系免疫作用の評価

研究課題名(英文) Investigation of the immunotherapy targeting WT1 against grade 2/3 glioma and its promoting and inhibiting mechanism in the brain.

研究代表者

泉本 修一 (IZUMOTO, Shuichi)

近畿大学・大学病院・教授

研究者番号：40324769

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：マウス脳腫瘍モデルおよびヒト神経膠腫において、グレード2/3神経膠腫に対するWT1ワクチン治療の開発を検討した。担脳腫瘍マウス脳では、限局性にCD4およびCD8陽性の免疫担当細胞を評価した。ヒトグレード2/3神経膠腫組織において、腫瘍組織のWT1の発現およびCD4、CD8陽性細胞を同定し、その免疫担当細胞の集簇を明らかにした。全ての腫瘍細胞でWT1は発現されていたがグレード2神経膠腫に弱い傾向があった。WT1ペプチド投与下での局所獲得免疫細胞の同定は、投与皮下組織で可能であり長時間の免疫維持が確認された。グレード2/3神経膠腫でもWT1ワクチン治療の有用性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

WT1免疫療法は、基本実験および再発膠芽腫での臨床試験の蓄積があり、さらにグレード2/3神経膠腫において本療法の免疫促進反応、抑制反応を動物実験と患者の局所脳から検討した。WT1ワクチン治療が、悪性神経膠腫初期治療の集学的治療のひとつとして十分な成果をあげれば、放射線・化学療法と相互補完する役割を実証でき、グレード2/3神経膠腫においても免疫療法を含めた集学的治療として確立できると考える。

研究成果の概要(英文)：WT1 based cancer immunotherapy is a therapy, in which HLA class I binding 9-mer WT1 peptide is administered intradermally, to induce WT1-specific cellular immune responses. We investigated the safety and immune response of vaccine therapy of WT1 against grade 2/3 glioma. Glioma cells in the animal model showed expressions of WT1, and immune cells were accumulated focally, but the response of WT1 vaccination was poor. In patients of malignant glioma, accumulation of WT1-specific immune response was detected but WT1-specific killer T cells were poor on the surface of tumor cells. Immunohistochemical analysis of skin specimens, where WT1 peptide was administered intradermally, revealed reactive proliferation of macrophages with giant cell formation and infiltration of CD4+ and CD8+T, and CD20+B lymphocytes in the lower dermis. These findings provide basic information about local immune responses elicited in the vaccination site.

研究分野：医歯薬学

キーワード：神経膠腫 WT1 免疫療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

最大の成果をもって膠芽腫の治療成績はすべての固形癌のなかで最悪の一つであり、グレード 2/3 神経膠腫も 5 年生存率は胃癌、大腸癌よりも悪い。そのなかで Wilms'tumor 1(WT1) は多くの癌抗原のうちで免疫治療の標的として認識され、私たちは、膠芽腫に対して WT1 ワクチン療法の第 1 相、第 2 相試験を行った。その結果、十分な安全性があることと共に、投与した WT1 ペプチドに特異的な CTL が多くの患者で誘導され、再発治療後の 6 ヶ月後無増大生存率 33.3%と優れた成績を得た。さらに、共同試験で初発膠芽腫に TMZ 化学療法併用 WT1 ワクチン治療第 2 相臨床試験を行い、安全性が確認され、優れた治療成績を示した。(Morita,Izumoto, et al. Jpn J Clin Oncol 2006 . Izumoto, et al. J Neurosurg 2008 . Hashimoto,Izumoto, et al. Cancer Immunol Immunother 2015.)。すなわちリンパ組織がないとされる脳内環境に於いて活発な免疫反応動態が確認された。また、WT1 がほとんどの固形癌で高発現し、とくに神経膠腫の 96%で発現することを確認した。WT 発現を細胞レベルでみると、膠芽腫細胞と同等にグレード 2/3 神経膠腫細胞でも発現があり、高発現している WT1 に遺伝子変異はなく、膠芽腫と同じくグレード 2/3 神経膠腫で WT1 ワクチン療法の効果が期待できる。WT1 を標的としたがん免疫療法は、ほとんどの神経膠腫に適応可能と思われる。

## 2. 研究の目的

固形癌で末梢血中キラー T 細胞の免疫動態が明らかになり、WT1 発現を細胞レベルでみると、膠芽腫細胞と同等にグレード 2/3 神経膠腫細胞でも WT1 が発現していること、長期間の WT1 ワクチン治療でも免疫維持されることが明らかになった。グレード 2/3 神経膠腫において、治療の即応性に劣るとい免疫治療の弱点を相殺し、さまざまなチャンネルによる獲得免疫が働くと予想され、WT1 免疫療法の治療効果が期待できる。そこで悪性神経膠腫の担脳腫瘍動物モデルおよびヒトにおけるグレード 2/3 神経膠腫において、腫瘍周辺局所での免疫動態および WT1 ワクチン治療前後の免疫動態を明らかにし、抑制系および促進系免疫機序の評価を行い、その安全性、妥当性および化学療法との相乗効果を検討することにより、グレード 2/3 神経膠腫における WT1 免疫療法の開発を目的とした。

## 3. 研究の方法

マウス担脳腫瘍(神経膠腫)モデルおよびヒト神経膠腫において WT1 ワクチン治療前後の局所での獲得性免疫動態を明らかにし、グレード 2/3 神経膠腫に対する WT1 ワクチン治療の開発を行った。

### (1)担脳腫瘍マウスモデル研究

正常マウス、および担脳腫瘍(203G 神経膠腫)マウスに対して、脳組織内 WT1 特異的免疫担当細胞の動態解析およびマウス class II 拘束性 WT1 ペプチド(CTL エピトープ)投与後の局所免疫反応、組織反応を検討した。

### (2)ヒト脳腫瘍研究

グレード 2/3 神経膠腫初回摘出時の腫瘍組織での WT1 タンパクの発現やキラー T 細胞の発現を検討した。腫瘍抗原に対する免疫応答の詳細な解析、WT1 ワクチン治療時の免疫担当細胞の

動態解析を行った。WT1 皮内投与長期経過後、局所皮膚組織を生検し、免疫組織学的検討を行うことにより投与局所の長期免疫動態を解析した。これらにより、グレード 2/3 神経膠腫に対する WT1 免疫療法の妥当性を検討した。

#### 4 . 研究成果

##### (1) 担脳腫瘍マウスモデル研究

マウスグリオーマ細胞 203G が WT1 を発現していることを免疫染色で確認した。正常マウス (C57BL6) および同系 203G マウスグリオーマ細胞移植した担脳腫瘍マウスを作成した。脳内には、CD4 陽性細胞、CD8 陽性細胞の免疫担当細胞の出現がみられた。しかし大幅な免疫担当細胞の変更はみられなかった。Treg 細胞に強い作用をもつ interferon の発現度に差はみられなかった。マウスモデルで WT1 ワクチン治療において有効無効の明らかな差は確認できなかった。

##### (2) ヒト脳腫瘍研究

悪性神経膠腫患者における WT1 特異的 T 細胞の割合と数が、テモゾロミド・放射線治療 (TMZ/RT 併用療法) によりどのように変化するかを調べた。すなわち、初発悪性神経膠腫患者を対象に、TMZ/RT 併用療法開始前と 6 週終了後に末梢血リンパ球中 CD8 陽性 T 細胞、制御性 T (Treg) 細胞、ナチュラルキラー (NK) 細胞、ナチュラルキラー T (NKT) 細胞の割合と数を測定した。WT1 免疫治療患者には、WT1 特異的 T 細胞の割合と数を測定した。結果、リンパ球数は、WT1 療法前に比べ、TMZ/RT 併用療法 6 週終了後に有意に減少した。CD8 陽性 T 細胞、NK 細胞、NKT 細胞の割合は変化を認めなかったが、絶対数が有意に減少した。Treg 細胞の絶対数は有意な変化を示さなかった。免疫変動因子の可能性のあるステロイド併用治療時、抗てんかん薬併用治療時の免疫担当細胞に有意な変化はなかった。結論として、TMZ 維持療法中に WT1 免疫療法を行うことにより効果的に抗腫瘍効果が誘導される可能性が考えられた。

組織での T 細胞の集積は脳腫瘍組織内で集積するものと、血管周囲に集積するものとに分かれることが明らかになった。WT1 が腫瘍細胞だけでなく、腫瘍新生血管内皮細胞に発現し、患者ごとに分別し治療反応と比較すると、血管周囲に WT1 が発現するものに成績が良い傾向があり、血管内皮細胞が WT1 ワクチン治療の攻撃対象となる可能性が示唆された。

グレード 2/3 神経膠腫初回摘出時および再手術時の、腫瘍組織および辺縁組織を用いて検討した。それぞれの腫瘍組織において WT1 の発現および CD4、CD8 陽性細胞を免疫組織学的に同定し、その免疫担当細胞の集族を明らかにした。全ての腫瘍細胞で WT1 は発現されていたがグレード 2 神経膠腫に弱い傾向があった。WT1 ペプチド投与下での再開頭での局所獲得免疫の検討は、該当する患者が発生せず同定できなかった。

WT1 ペプチド投与下での長期間局所獲得免疫細胞を同定した。すなわち局所皮下組織においてマクロファージの増殖と巨細胞化とともに CD4 および CD8 陽性 T 細胞の集族および CD20 陽性 B 細胞の集積がみられ免疫担当細胞が集族していることを確認した。WT1 ペプチド投与下での長期間局所獲得免疫細胞を同定、皮下組織で可能であることがわかり長時間の免疫維持が確認された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 14件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 9件）

1. 著者名 Kawai S, Okuda T, Fukui A, Sanada Y, Yoshikawa K, Morikawa M, Kuwahara M, Maenishi O, Morita Y, Izumoto S, Kato A, Matsumura I, Kusunoki S	4. 巻 2169
2. 論文標題 A Case of Intravascular Lymphoma Presenting as a Cavernous Sinus Tumor	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Intern Med	6. 最初と最後の頁 1-5
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2169/internalmedicine.1828-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Fukuoka K, Kanemura Y, Shofuda T, Fukushima S, Yamashita S, Narushima D, Kato M, Honda-Kitahara M, Izumoto S, Japan Pediatric Molecular Neuro-Oncology Group (JPMNG)	4. 巻 6
2. 論文標題 Significance of molecular classification of ependymomas: C11orf95-RELA fusion-negative supratentorial ependymomas are a heterogeneous group of tumors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Acta Neuropathol Commun	6. 最初と最後の頁 134-134
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s40478-018-0630-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Arita H, Kinoshita M, Kawaguchi A, Takahashi M, Narita Y, Terakawa Y, Tsuyuguchi N, Okita Y, Nonaka M, Moriuchi S, Takagaki M, Fujimoto Y, Fukai J, Izumoto S, Ishibashi K, Nakajima Y, Shofuda T, Kanematsu D, Yoshioka E, Kodama Y, Mano M, Mori K, Ichimura K, Kanemura Y.	4. 巻 8
2. 論文標題 Lesion location implemented magnetic resonance imaging radiomics for predicting IDH and TERT promoter mutations in grade II/III gliomas	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11773
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-018-30273-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sasaki T, Fukai J, Kodama Y, Hirose T, Okita Y, Moriuchi S, Nonaka M, Tsuyuguchi N, Terakawa Y, Uda T, Tomogane Y, Kinoshita M, Nishida N, Izumoto S, Nakajima Y, Arita H, Ishibashi K, Shofuda T, Kanematsu D, Yoshioka E, Mano M, Fujita K, Uematsu Y, Nakao N, Mori K, Kanemura Y.	4. 巻 140
2. 論文標題 Characteristics and outcomes of elderly patients with diffuse gliomas: a multi-institutional cohort study by Kansai Molecular Diagnosis Network for CNS Tumors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Neurooncol	6. 最初と最後の頁 329-339
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1007/s11060-018-2957-7.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Izumoto S, Miyauchi M, Tasaki T, Okuda T, Nakagawa N, Nakano N, Kato A, Fujita M.	4. 巻 38
2. 論文標題 Seizures and Tumor Progression in Glioma Patients with Uncontrollable Epilepsy Treated with Perampanel.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Anticancer Res	6. 最初と最後の頁 4361-4366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticanres.12737	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kayama T, Sato S, Sakurada K, Mizusawa J, Izumoto S, Shibui S; Japan Clinical Oncology Group.	4. 巻 36
2. 論文標題 Effects of Surgery With Salvage Stereotactic Radiosurgery Versus Surgery With Whole-Brain Radiation Therapy in Patients With One to Four Brain Metastases (JCOG0504): A Phase III, Noninferiority, Randomized Controlled Trial	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Oncology	6. 最初と最後の頁 3282-3289
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1200/JCO.2018.78.6186	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Okuda T, Tasaki T, Nakata S, Yamashita K, Yoshioka H, Izumoto S, Kato A, Fujita M	4. 巻 37
2. 論文標題 Efficacy of Combination Therapy with MET and VEGF Inhibitors for MET-overexpressing Glioblastoma	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 3871-3876
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 泉本修一	4. 巻 41(3-4)
2. 論文標題 神経膠腫に合併したてんかん患者におけるペランパネルの発作抑制効果と腫瘍抑制効果	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 CT研究	6. 最初と最後の頁 123 - 130
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Fukuoka E, Yamashita K, Tanaka T, Sawada R, Sugita Y, Arimoto A, Fujita M, Takiguchi G, Matsuda T, Oshikiri T, Nakamura T, Suzuki S, Kakeji Y. Fukuoka E.	4. 巻 39(8)
2. 論文標題 Neoadjuvant Chemotherapy Increases PD-L1 Expression and CD8+ Tumor-infiltrating Lymphocytes in Esophageal Squamous Cell Carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 4539-4548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.13631.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hanakawa S, Kitoh A, Shibuya R, Dainichi T, Nomura T, Honda T, Egawa G, Otsuka A, Nakajima S, Fujita M, Kabashima K. Hanakawa S.	4. 巻 144(5)
2. 論文標題 Percutaneous sensitization is limited by in situ inhibition of cutaneous dendritic cell migration through skin-resident regulatory T cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Allergy Clin Immunol.	6. 最初と最後の頁 1343-1353
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jaci.2019.05.033.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka T, Fujita M, Hasegawa H, Arimoto A, Nishi M, Fukuoka E, Sugita Y, Matsuda T, Sumi Y, Suzuki S, Kakeji Y, Yamashita K. Tanaka T.	4. 巻 37(7)
2. 論文標題 Frequency of Myeloid-derived Suppressor Cells in the Peripheral Blood Reflects the Status of Tumor Recurrence.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Anticancer Res.	6. 最初と最後の頁 3863-3869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21873/anticancerres.11766.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo K, Nagakubo D, Yamamoto S, Shigeta A, Tomida S, Fujita M, Hirata T, Tsunoda I, Nakayama T, Yoshie O.	4. 巻 200(2)
2. 論文標題 CCL28-Deficient Mice Have Reduced IgA Antibody-Secreting Cells and an Altered Microbiota in the Colon.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 800-809
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1700037.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Omura S, Sato F, Martinez NE, Park AM, Fujita M, Kennett NJ, Cvek U, Minagar A, Alexander JS, Tsunoda I.	4. 巻 10
2. 論文標題 Bioinformatics Analyses Determined the Distinct CNS and Peripheral Surrogate Biomarker Candidates Between Two Mouse Models for Progressive Multiple Sclerosis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 516 - 516
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.00516.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Park AM, Omura S, Fujita M, Sato F, Tsunoda I.	4. 巻 8
2. 論文標題 Helicobacter pylori and gut microbiota in multiple sclerosis versus Alzheimer's disease: 10 pitfalls of microbiome studies.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clin Exp Neuroimmunol.	6. 最初と最後の頁 215-232
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cen3.12401.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nakao T, Okuda T, Fujita M, Kato A.	4. 巻 10
2. 論文標題 A case of leptomeningeal metastases of human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer that responded well to lapatinib plus capecitabine.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Surg Neurol Int.	6. 最初と最後の頁 131
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.25259/SNI-106-2019.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okuda T, Hayashi N, Takahashi M, Uzuka T, Okita Y, Otani R, Fujinaka T, Fujita M, Kato A, Narita Y, Nakasu Y.	4. 巻 23(6)
2. 論文標題 Clinical outcomes of brain metastases from hepatocellular carcinoma: a multicenter retrospective study and a literature review.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Int J Clin Oncol.	6. 最初と最後の頁 1095-1100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10147-018-1312-5.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 泉本修一 宮内正晴 渡邊啓 村上沙織 古川健太郎 加藤天美
2. 発表標題 神経膠腫に合併したてんかん患者におけるペランパネルの発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 第77回日本脳神経外科学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 泉本修一 宮内正晴 渡邊啓 村上沙織 古川健太郎 加藤天
2. 発表標題 神経膠腫に合併したてんかん患者におけるペランパネルの発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 泉本修一、宮内正晴、田崎貴之、奥田武司、中川修宏、中野直樹、加藤天美
2. 発表標題 神経膠腫に合併したてんかん患者におけるペランパネルの発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 第日本脳腫瘍学会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 泉本修一、宮内正晴、田崎貴之、奥田武司、中川修宏、中野直樹、加藤天美
2. 発表標題 神経膠腫に合併したてんかん患者におけるペランパネルの発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 第41回日本脳神経CI学会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 泉本修一、宮内正晴、田崎貴之、奥田武司、中川修宏、中野直樹、加藤天美
2. 発表標題 神経膠腫に合併した薬剤抵抗性てんかん患者におけるベランパネルの発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第76回学術総会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 泉本修一 宮内正晴 渡邊啓 村上沙織 露口尚弘 加藤天美
2. 発表標題 神経膠腫患者におけるベランパネルのてんかん発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 日本脳神経外科学会第78回学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 泉本修一 宮内正晴 渡邊啓 村上沙織 露口尚弘 加藤天美
2. 発表標題 神経膠腫患者におけるベランパネルのてんかん発作抑制効果と腫瘍抑制効果
3. 学会等名 第37回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 日本脳腫瘍病理学会	4. 発行年 2017年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 218
3. 書名 脳腫瘍臨床病理カラーアトラス 第4版	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

## 6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	加藤 天美  (KATO Amami)  (00233776)	近畿大学・医学部・教授    (34419)	
研究分担者	奥田 武司  (OKUDA Takeshi)  (10340796)	近畿大学・医学部・講師    (34419)	
研究分担者	藤田 貢  (FUJITA Mitsugu)  (40609997)	近畿大学・医学部・准教授    (34419)	