

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462179

研究課題名(和文) 悪性神経膠腫に対するWT1ペプチドワクチン療法の抗腫瘍効果を増強する治療法の開発

研究課題名(英文) Enhancement of effects of WT1 peptide-based immunotherapy for malignant glioma.

研究代表者

坪井 昭博 (Tsuboi, Akihiro)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座教授

研究者番号：10372608

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)：我々は腫瘍細胞で高発現しているWT1を標的とした癌特異的免疫療法の開発を行っている。本研究では、HLA-A*24:02とHLA-A*02:01それぞれに拘束性のWT1キラーペプチド2種類とWT1ヘルパーペプチド1種類の計3種類のWT1ペプチドを混合する新規WT1ペプチドワクチンの臨床試験を行っている。初発膠芽腫については「初発膠芽腫に対するテモゾロミド併用3種混合WT1ペプチドワクチン療法」、再発悪性神経膠腫については「希少悪性腫瘍に対する3種混合WT1ペプチドワクチン免疫療法(WT1 Trio)の臨床試験」を開始している。いずれの臨床試験も現在症例の集積中である。

研究成果の概要(英文)：We have investigated peptide based immunotherapy for malignant tumors targeting Wilms tumor 1 (WT1) that is expressed in almost malignancies including malignant glioma and has high immunogenicity. In this study, we have used not only HLA class I restricted two WT1 peptides but also HLA class II-restricted WT1 peptide (WT1 Trio Peptide) to enhance WT1 specific immune responses and performed two kinds of clinical study using the WT1 Trio Peptide for malignant glioma. One trial is WT1 Trio Peptide-vaccine for Rare Cancers. Patients with recurrent malignant glioma are enrolled in this study. The other one is Phase II clinical trial of WT1 peptide-based vaccine combined with Temozolomide for patients with newly diagnosed glioblastoma. Both studies are recruiting.

研究分野：癌免疫

キーワード：ペプチドワクチン 臨床試験 WT1 ヘルパーペプチド 悪性神経膠腫 膠芽腫 テモゾロミド

1. 研究開始当初の背景

悪性神経膠腫は悪性度の高い腫瘍であり、標準治療とされている治療法でも2年全生存率は25%と低いのが現状であり、新しい有効な治療法が望まれている。

我々は腫瘍細胞で高発現しているWT1を標的とした癌特異的免疫療法の開発を行っている。標準療法後に再発した悪性神経膠腫を対象としてWT1ペプチド(WT1-CTLペプチド)を用いた癌免疫療法を行い、高い病勢コントロール率と無増悪期間の延長を得た。また一部の症例で治癒例も経験している。しかし治癒例に至る症例は10%程度と満足できる所には達していない。さらなる効果増強法の開発が必要である。先行研究として2つの臨床試験を実施した

(1) テモゾロミド併用WT1ペプチドワクチン療法:

テモゾロミドは再発ならびに新規発生悪性神経膠腫の治療薬として認可され現時点で標準治療として位置づけられている。多くの化学療法剤は、腫瘍細胞のみならず増殖期にある正常細胞にも非特異的に影響を与え、抗原刺激によって増殖、活性化したリンパ球も同様に影響を受けるため、化学療法を受けた患者の免疫系は抑制されると考えられ、化学療法に免疫療法を同時に併用することに関して、化学療法剤による細胞傷害性T細胞へのマイナス面の影響、つまり癌細胞への殺細胞効果と同時に細胞傷害性T細胞に対する同様の作用の懸念があった。そのためテモゾロミドとWT1ペプチドワクチン療法の併用の有用性については不明であった。そこで2010年より初発悪性神経膠腫に対し放射線/テモゾロミド療法後のアジュバント療法としてテモゾロミド併用改変型WT1ペプチド(mp235-243)ワクチンを併用する化学免疫療法の第I相臨床試験を行い、安全性に問題なく、2年生存割合は参加6例中6例であった。初発悪性神経膠腫の標準治療の24ヵ月全生存率が約25%である事を考慮すると非常に期待の持てる結果を得た。

(2) WT1 ヘルパーペプチドと WT1-CTL ペプチド併用療法:

腫瘍免疫における最も重要なエフェクター細胞はHLA class I 拘束性 CD8 陽性 CTL (つまり、キラーTリンパ球) である。しかしながら、CTLペプチドによる腫瘍抗原特異的CTLの活性化だけでは十分な抗腫瘍効果が得られないことも明らかになりつつある。より強いCTLの誘導やその活性の維持におけるHLA class II 拘束性 CD4 陽性ヘルパーTリンパ球の重要性を示す研究結果が蓄積されている。

我々をはじめいくつかの研究室において、HLA class II 拘束性にWT1タンパク特異的なCD4陽性ヘルパーTリンパ球を誘導できるWT1ヘルパーペプチドが同定された。WT1ヘルパーペプチドにより誘導されたヘルパーTリンパ球は腫瘍免疫増強作用のあるTh1サイトカインを産生し、また、WT1ヘルパーペプチドの刺激によりWT1特異的CTLの誘導や活性化

を増強することをin vitro 実験において示している。

また、一般に、ヘルパーペプチドのHLA class II 拘束性は、CTLペプチドのHLA class I 拘束性に比べて厳密でなく多種類のHLA class II 分子に結合できる。我々が同定したWT1³³²ヘルパーペプチドはHLA class II 型のHLA-DRB1*04:05、15:01、15:02、08:03およびHLA-DPB1*09:01、05:01に結合する事を明らかにしている。それぞれのHLAを有する日本人の割合は27%、12%、23%、20%、20%および50%で、いずれかのHLAを有する割合は約95%となりほとんどの日本人に適応可能である。

WT1ヘルパーペプチドが結合することが明らかになっているHLA class II型を持つ再発悪性神経膠腫患者を対象にして、第I相臨床試験を2010年から大阪大学で行った。

mWT1-235ペプチド3mgとmWT1-235ペプチド3mgとWT1-332ペプチド0.75mg、1.5mg、3mgのいずれかの2種混合WT1ペプチドを1週間ごとに交互で、5回投与した。なお、WT1ペプチドはモンタナイドISA 51とエマルションにして皮内投与した。14名が臨床試験に参加された。ワクチン投与部位の発赤以外の試験薬に関連する有害事象を認めなかった。WT1-CTLペプチドとWT1ヘルパーペプチドの併用をした方ではWT1特異的細胞障害性T細胞が効率よく誘導され、1年以上の長期間にわたり維持された。このことよりヘルパーペプチドとCTLペプチドの併用は効果増強につながる事が期待される結果となった。そこで本研究ではHLA-A*24:02とHLA-A*02:01それぞれに拘束性のWT1 CTLペプチド2種類とWT1ヘルパーペプチド1種類の計3種類のWT1ペプチドを混合する新規WT1ペプチドワクチン(WT1 Trio)の臨床試験を計画した。

2. 研究の目的

本研究の目的は以下の2つの臨床試験を行い、臨床評価(安全性、臨床効果)と免疫学的反応(WT1特異的免疫反応含む)の詳細な検討により3種混合WT1ペプチドワクチン免疫療法(WT1 Trio)の有用性について明らかにする事である。

3. 研究の方法

テモゾロミド(化学療法)とWT1ペプチドワクチンの併用とWT1ペプチドワクチン単独の試験を分けるため2つの臨床試験を計画した。試験名は「初発膠芽腫に対するテモゾロミド併用3種混合WT1ペプチドワクチン療法第II相試験」と「希少悪性腫瘍に対する3種混合WT1ペプチドワクチン免疫療法(WT1 Trio)の臨床試験」で、両プロトコールは大阪大学医学部倫理委員会により認可され現在症例集積中である。

(1) 初発膠芽腫に対するテモゾロミド併用3種混合WT1ペプチドワクチン療法 第

II 相試験

対象:16歳以上80歳未満のHLA-A*2402を有する初発膠芽腫の患者で、術後補助療法として放射線化学療法とテモゾロミドによる放射線化学療法を終了しているものとする。

主評価項目:
無増悪生存期間

副評価項目:

1) 安全性

NCI(National Cancer Institute)-CTCAE v4.0(Common Terminology Criteria for Adverse Events version4.0)日本語訳 JCOG版(<http://www.jcog.jp/>)のgrade3以上のWT1ペプチドワクチンに関連性のある重篤な有害事象発現頻度

2) 全生存期間

試験薬の投与量と投与方法:

WT1 Trio 6mg/bodyとし、モンタナイドアジュバントとエマルジョンを作成し皮内投与する。テモゾロミドの投与法は標準的治療に準じ最大24クール目までとする。WT1 Trioの投与間隔は2~8週で投与とした。

目標症例数は35例 登録期間 2年

追跡期間: 最終登録患者の治療開始から2年

(2) 希少悪性腫瘍に対する3種混合WT1ペプチドワクチン免疫療法(WT1 Trio)の臨床試験

再発悪性神経膠腫はこのプロトコールで行っている。

主評価項目:

ワクチン開始後1,2,3か月の時点でのWT1特異的免疫応答の誘導(WT1-DTHテストおよびWT1ペプチドIgG抗体の産生)

副次評価項目:

1) 安全性

(ワクチン施行中のSAEの発生)

2) 抗腫瘍効果

(ワクチン開始後1,2,3か月の時点での腫瘍退縮、全生存期間、無増悪期間)

3) 免疫応答の誘導

(末梢血のWT1-CTL頻度)

試験薬の投与量と投与方法:

WT1 Trio/Montanide ISA51 アジュバントを2週間毎に7回皮内投与する。

4. 研究成果

現在両臨床試験とも症例集積中で解析までには至っていない。引き続き症例集積を行い、有用性について明らかにする予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計12件)

1. Hasegawa K, Tanaka S, Fujiki F, Morimoto

S, Nakano K, Kinoshita H, Okumura A, Fujioka Y, Urakawa R, Nakajima H, Tatsumi N, Nakata J, Takashima S, Nishida S, Tsuboi A, Oka Y, Oji Y, Miyoshi E, Hirata T, Kumanogoh A, Sugiyama H, Hosen N. Glycosylation Status of CD43 Protein Is Associated with Resistance of Leukemia Cells to CTL-Mediated Cytolysis. PLoS One. 2016 Mar 24;11(3):e0152326.

2. Oji Y, Hashimoto N, Tsuboi A, Murakami Y, Iwai M, Kagawa N, Chiba Y, Izumoto S, Elisseeva O, Ichinohasama R, Sakamoto J, Morita S, Nakajima H, Takashima S, Nakae Y, Nakata J, Kawakami M, Nishida S, Hosen N, Fujiki F, Morimoto S, Adachi M, Iwamoto M, Oka Y, Yoshimine T, Sugiyama H. Association of WT1 IgG antibody against WT1 peptide with prolonged survival in glioblastoma multiforme patients vaccinated with WT1 peptide. Int J Cancer. 2016 Sep 15;139(6):1391-401.

3. Kondo K, Fujiki F, Nakajima H, Yatsukawa E, Morimoto S, Tatsumi N, Nishida S, Nakata J, Oka Y, Tsuboi A, Hosen N, Oji Y, Sugiyama H. An Essential Role of the Avidity of T-Cell Receptor in Differentiation of Self-Antigen-reactive CD8+ T Cells. J Immunother. 2016 Apr;39(3):127-39.

4. Tatsumi N, Hojo N, Yamada O, Ogawa M, Katsura Y, Kawata S, Morii E, Sakamoto H, Inaba R, Tsuda A, Fukuda I, Moriguchi N, Hasuwa H, Okabe M, Fujiki F, Nishida S, Nakajima H, Tsuboi A, Oka Y, Hosen N, Sugiyama H, Oji Y. Deficiency in WT1-targeting microRNA-125a leads to myeloid malignancies and urogenital abnormalities. Oncogene. 2016; 25;35(8):1003-14.

5. Takashima S, Nakata J, Tsuboi A et al, Syndecan-4 as a biomarker to predict clinical outcome for glioblastoma multiforme treated with WT1 peptide vaccine. Future Science, OA 2016 Oct3: 2(4)

6. Sawada A, Inoue M, Kondo O, Yamada-Nakata K, Ishihara T, Kuwae Y, Nishikawa M, Ammori Y, Tsuboi A, Oji Y, Koyama-Sato M, Oka Y, Yasui M, Sugiyama H, Kawa K. Feasibility of Cancer Immunotherapy with WT1 Peptide

- Vaccination for Solid and Hematological Malignancies in Children. *Pediatr Blood Cancer*. 2015 Oct 15.
7. Tatsumi N, Hojo N, Sakamoto H, Inaba R, Moriguchi N, Matsuno K, Fukuda M, Matsumura A, Hayashi S, Morimoto S, Nakata J, Fujiki F, Nishida S, Nakajima H, Tsuboi A, Oka Y, Hosen N, Sugiyama H, Oji Y. Identification of a Novel C-Terminal Truncated WT1 Isoform with Antagonistic Effects against Major WT1 Isoforms. *Oncogene*. 2015 May 11.
 8. Nakae Y, Oka Y, Fujiki F, Morimoto S, Kamiya T, Takashima S, Nakata J, Nishida S, Nakajima H, Hosen N, Tsuboi A, Kyo T, Oji Y, Mizuguchi K, Kumanogoh A, Sugiyama H. Two distinct effector memory cell populations of WT1 (Wilms' tumor gene 1)-specific cytotoxic T lymphocytes in acute myeloid leukemia patients. *Cancer Immunol Immunother*. 2015 64(7):791-804.
 9. Hashimoto N, Tsuboi A, Kagawa N, Chiba Y, Izumoto S, Kinoshita M, Kijima N, Oka Y, Morimoto S, Nakajima H, Morita S, Sakamoto J, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Arita N, Yoshimine T, Sugiyama H. Wilms tumor 1 peptide vaccination combined with temozolomide against newly diagnosed glioblastoma: safety and impact on immunological response. *Cancer Immunol Immunother*. 2015 ;64(6):707-16.
 10. Katsuhara A, Fujiki F, Aoyama N, Tanii S, Morimoto S, Oka Y, Tsuboi A, Nakajima H, Kondo K, Tatsumi N, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Nishida S, Hosen N, Sogo S, Oji Y, Sugiyama H. Transduction of a novel HLA-DRB1*04:05-restricted, WT1-specific TCR gene into human CD4+ T cells confers killing activity against human leukemia cells. *Anticancer Res*. 2015;35(3):1251-61.
 11. Hosen N, Maeda T, Hashii Y, Tsuboi A, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Vaccination strategies to improve outcome of hematopoietic stem cell transplant in leukemia patients: early evidence and future prospects. *Expert Rev Hematol*. 2014 ;7(5):671-81.
 12. Nishida S, Koido S, Takeda Y, Homma S, Komita H, Takahara A, Morita S, Ito T, Morimoto S, Hara K, Tsuboi A, Oka Y,

Yanagisawa S, Toyama Y, Ikegami M, Kitagawa T, Eguchi H, Wada H, Nagano H, Nakata J, Nakae Y, Hosen N, Oji Y, Tanaka T, Kawase I, Kumanogoh A, Sakamoto J, Doki Y, Mori M, Ohtsuka T, Tajiri H and Sugiyama H. Wilms' tumor gene 1 (WT1)-peptide based cancer vaccine combined with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer. *J Immunother*, 37: 105-14, 2014.

〔学会発表〕(計 4 件)

1. 坪井 昭博、WT1 peptide-based immunotherapy in combination with Temozolomide for patients with newly diagnosed glioblastoma、日本癌学会、2014年9月26日、パシフィコ横浜
2. 坪井 昭博、再発悪性神経膠腫を対象としたWT1キラーペプチドとWT1ヘルパーペプチドを用いた免疫療法第I相試験、日本がん免疫学会、2014年7月30日、ひめぎんホール
3. 坪井 昭博、WT1 peptide vaccination for newly diagnosed glioblastomas; phase I clinical trial of combination with temozolomide、日本がん免疫学会、2015年7月10日、伊藤国際学術研究センター
4. 坪井 昭博、New challenge of WT1 peptide vaccination for malignant glioma、第8回国際WT1学会、2015年11月19日、京都KBSホール

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

坪井 昭博 (TSUBOI AKIHIRO)
大阪大学・医学(系)研究科(研究院)・
寄附講座教授
研究者番号：10372608

(2) 研究分担者

橋本 直哉 (HASHIMOTO NAOYA)
京都府立医科大学・医学(系)
研究科(研究院)・教授
研究者番号：90315945

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()