

日本医療研究開発機構 臨床研究・治験推進研究事業 事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名：(日本語) 家族性大腸腺腫症に対する WT1 がんワクチン免疫療法第Ⅱ相医師主導治験
(英語) A phase II investigator-initiated clinical trial of WT1 peptide-based cancer vaccine for familial adenomatous polyposis

研究開発実施期間：令和2年4月1日～令和6年3月31日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 西田 純幸
(英語) Sumiyuki Nishida

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：

(日本語) 国立大学法人 大阪大学 大学院医学系研究科 産学連携・クロスイノベーションイニシアティブ 特任教授(常勤)

(英語) Strategic Global Partnership & X(Cross)-Innovation Initiative, Graduate school of Medicine, Osaka University, Professor

II 研究開発の概要

家族性大腸腺腫症（FAP）は APC がん抑制遺伝子の変異を原因とした常染色体優性遺伝性疾患で、放置すれば 100%大腸がんを発症する。外科的に大腸を全摘することが標準治療であるが、術後合併症による長年にわたる QOL の低下が問題である。非侵襲的な薬物療法の開発が求められているが、未だ確立した治療薬はない。

そこで、我々は、FAP に対する新規の薬物療法として、大腸がんを含む多くのヒト悪性腫瘍で高発現している WT1 遺伝子の遺伝子産物を標的としたがんワクチン「DSP-7888」に注目した。DSP-7888 は 2 種類の HLA 拘束性 WT1 抗原ペプチドから構成され、抗原特異的細胞障害性 T 細胞（キラー T 細胞）とヘルパー T 細胞を誘導し、WT1 タンパクを過剰発現しているヒト腫瘍細胞を攻撃する。また、先の検討により、大腸がん発症前の大腸腺腫にも WT1 は発現し、FAP は WT1 ワクチンの標的となりうることを確認した。

本研究開発は、FAP に対する発がん抑制・予防につながる非侵襲的な治療法を確立するために、予防的大腸切除術（を希望しない）未実施の FAP 患者に対して DSP-7888 を投与する「家族性大腸腺腫症に対する WT1 がんワクチン DSP-7888 免疫療法第Ⅱ相医師主導治験（WT1-FAP-01 試験）」（jRCT2051200082）を実施し、FAP の大腸腺腫に対する DSP-7888 の臨床的有効性と安全性ならびに免疫学的効果を探索的に評価することが目的である。そのために本研究開発では、①医師主導治験の準備、②医師主導治験の実施、③医師主導治験の終了作業、④FAP に対する免疫療法の臨床的有効性の評価、⑤FAP に対する免疫療法の免疫学的有効性の評価を計画した。

試験デザインは、基本的に非対照・非盲検・単施設試験である。20 歳以上 50 歳以下の臨床的かつ遺伝子学的に診断された FAP で、予防的大腸切除術が未実施、かつ、ポリープ摘除後を含め内視鏡的観察で 5mm 以上の大腸ポリープを認めず、HLA-A 遺伝子座の HLA-A*02:01, A*02:06, A*24:02 のいずれかを有する症例を対象とした。治験薬 DSP-7888 の全投与期間は 8 ヶ月で、最初の 2 か月間は 2 週間ごとに、残り 6 か月間は 4 週間ごとに合計 11 回の投与を行う。主要評価項目は、治験薬投与後 8 ヶ月目における「径 5 mm 以上のポリープ出現割合」である。

「①医師主導治験の準備」では、WT1-FAP-01 試験の実施に必要な種々の準備を行い、治験実施医療機関の倫理審査委員会で実施承認を受けた後、治験計画届を提出した。

「②医師主導治験の実施」では、WT1-FAP-01 試験を実施する中で、組み入れ状況の管理等を含む進捗管理、副作用の発生状況の把握とその対応を含む安全管理、そして、データマネジメントやモニタリングを含む品質管理を行った。令和 2 年（2020 年）12 月に最初の症例を登録した。途中 3 ヶ月間の集積期間延長を行い、令和 4 年（2022 年）7 月に最終症例の登録を行った。治験への組み入れ総数は 18 例（うち治験薬投与群 16 例、非投与群 2 例）だった。安全管理は治験期間を通して実施した。全登録例の有害事象は、治験薬投与群 16/16 例（100%）、非投与群 1/2 例（50.0%）だった。重篤な有害事象ならびに死亡に至った有害事象はいずれの群においても認めなかった。主な副作用は注射部位反応（16/16 例）とそれに関連した皮膚硬結、そう痒・疼痛だった。Grade 3 以上の副作用は注射部位反応（皮膚潰瘍）（3/16 例）のみで、全身性の副作用はなかった。以上より、FAP 患者に対する DSP-7888 の投与で一定の忍容性が確認された。治験の品質管理として、外部の治験支援機関の協力下にモニタリング、データマネジメントを、治験実施施設の薬剤管理部門を中心に治験薬管理を、計画通り実施・完了した。

「③医師主導治験の終了作業」では、外部の治験支援機関の協力やアカデミア機関の支援を受けて WT1-FAP-01 試験の「総括報告書」を完成させた。その後、終了時監査を受け、治験終了届を提出した。

「④FAP に対する免疫療法の臨床的有効性の評価」では、WT1-FAP-01 試験の主要評価項目である「内視鏡的観察による 5mm 以上の大腸ポリープ出現」と、副次的評価項目である大腸の「定点観察部位における径 2.5mm 以上のポリープ数の変化（数的変化）と標的ポリープ径の変化（形態的变化）」を評価した。大腸ポリープの内視鏡肉眼的観察による定量的評価方法として確立したものはない。そこで、この実施に先立ち、専門家から構成される「効果判定委員会準備会」で「大腸ポリープの写真評価・治療効果判定に関する手順書」作成の議論

を重ね、再現性ある客観的な評価方法を考案した。全登録例（治験薬投与群＋非投与群）に対し、下部消化管内視鏡を用いた大腸ポリープの肉眼的観察と大腸ポリープの病理標本用検体の採取を計画通り実施した。有効性の判定は第三者からなる「効果判定委員会」で行った。治験薬投与群で、臨床的有效性の評価可能症例は14例（治験治療を中止した1例と重大な逸脱があった1例を除外）だった。主要評価項目である治験治療開始8ヵ月後の径5 mm以上の大腸ポリープの出現割合は50.0 %（80 %信頼区間(CI)：30.5, 69.5）（ $p = 0.605$ ）であった。この結果より、帰無仮説（50 %）の設定根拠となったJ-FAPP study IVのプラセボコントロール群（≡無治療）に比して統計学的に有意な差は認められなかった。しかし、HLA別の再評価で、特定の遺伝子座を有する症例ではその出現割合が他のHLA集団よりも低い傾向だった。副次的評価項目の数的変化では、治験薬投与群の8ヵ月目の観察におけるベースラインからの平均変化量は、盲腸部 +0.5 個、直腸部 -0.1 個、その他 +0.5 個で、いずれの観察場所においても変化量が2倍を超えることはなく、0.0前後で経過した。一方、形態的变化では、治験薬投与群の8ヵ月目の観察におけるベースラインからの平均変化量は、盲腸部 -0.32mm、直腸部 +0.10mm、その他 +0.01mmで、いずれの観察場所においても変化量が治験治療期間で減少またはほとんど変化しなかった。以上より、FAP患者にDSP-7888を投与することで、既存ポリープが一定以上に増大することを抑制、または、標的大腸ポリープが縮小または成長が阻害される可能性が示唆された。病理学的評価では、DSP-7888投与後の大腸腺腫組織に劇的な病理組織学的変化を観察できなかったが、helper T細胞を主とするCD4 T細胞の浸潤が増加する傾向と、その一部で腺腫細胞の細胞死誘導に関連している可能性が観察された。

「⑤FAPに対する免疫療法の免疫学的有効性の評価」では、WT1-FAP-01試験の副次的評価項目であるWT1ペプチド特異的細胞性免疫活性（テトラマー法を用いたWT1特異的CD8陽性キラーT細胞（WT1-CTLs）の検出）と液性免疫活性（ELISA法を用いたエピトープ特異的な抗体の測定）を評価した。細胞性免疫活性では、DSP-7888投与後に各症例が有するHLA-A遺伝子座に応じたWT1-CTLsの誘導が全例またはその多くで認められた。特に、WT1-CTLsの中でもより機能的なtetramer-highの集団が顕著に誘導（5週目のベースラインからのfold-increase: WT1₁₂₆-CTL 2.26倍； WT1_{m235}-CTL 9.96倍）され、経過を通して検出（33週目のベースラインからのfold-increase: WT1₁₂₆-CTL 1.76倍； WT1_{m235}-CTL 1.95倍）された。液性免疫活性では、各症例が有するHLA-A遺伝子座に関係なく、2種類のCTLペプチド（WT1₂₃₅ peptideとWT1₁₂₆ peptide）と1種類のhelperペプチド（WT1₃₄ peptide）に対する特異的IgG抗体の産生を高率に認めた。治験薬投与群でのWT1-235 IgG、WT1-126 IgG、WT1-34 IgGの陽性割合はDSP-7888投与後の治療経過とともに上昇し、それぞれの最大陽性割合は53.3%、40.0%、80.0%であった。以上より、FAP患者にDSP-7888を投与することでWT1抗原特異的な細胞性免疫および液性免疫が高率に誘導されることが明らかとなった。

DSP-7888で誘導されたWT1-CTLsの詳細な免疫学的機能解析を探索的な付随研究として行った。①免疫学的分化段階の評価では、検出されたWT1-CTLsは、治療経過初期にはeffector機能の強い分画が誘導され、治療経過を通して維持されること、そして治療経過後期にはmemory機能を有する分画が誘導されてくることがわかった。②抗原刺激によるサイトカイン産生評価では、誘導されるWT1-CTLsは抗原刺激によって増殖し、interferon-gammaを含むサイトカインを産生する細胞傷害活性を有したCTLであることが確認された。また、WT1₃₄ペプチドでサイトカイン産生能を有する抗原特異的なCD4陽性T細胞が、DSP-7888投与後に多くの症例で誘導された。③大腸ポリープ内浸潤WT1-CTLs(WT1-TILs)の検出では、評価した被検者の大半で、末梢血WT1-CTLs頻度の数倍から数十倍の高頻度でWT1-TILsが検出された。④-1 single-cell RNA sequence解析で、細胞集団のクラスタリングの結果より、誘導されたWT1-CTLsは、治療初期は免疫学的分化傾向が進んだeffector細胞が主で、その後の経過で免疫記憶に関わるCTLsを含む細胞集団に移行していくことが明らかとなった（上述した「免疫学的分化段階の評価」結果の傾向と一致）。④-2 WT1-CTLsに発現するT細胞受容体（TCR）の評価として実施したsingle-cell TCR repertoire解析では、DSP-7888投与後の末梢血中に検出されたWT1-CTLsと

相同性の TCR を持つ CTL クローンが、治療後の大腸ポリープ（腺腫）浸潤 CD8 陽性 T 細胞に検出された。つまり、DSP-7888 投与で誘導された WT1-CTLs が大腸腺腫内に浸潤していることを示唆する結果である。

今回の研究開発で実施した医師主導治験では、主要評価項目の治療仮説に達せず、DSP-7888 による FAP 患者の大腸腺腫抑制効果を裏付ける結果を得ることが出来なかった。しかし、副次的評価項目と探索的研究の結果から、DSP-7888 投与後に誘導される抗原特異的 CTLs が抗腫瘍効果を発揮するエフェクターとなって、FAP 患者の大腸ポリープの増殖抑制につながる可能性を示唆する結果を得た。このことは、DSP-7888 の治療薬特性を考慮した適切なエンドポイントの考え方を含め、有効性評価にはさらなる検討が必要であることを意味する。少数例の評価であるが、DSP-7888 で誘導された WT1-CTLs の相同性 TCR クローンが大腸腺腫組織内でも検出されたことは初めての発見で、DSP-7888 の抗腫瘍効果を裏付ける proof-of-concept と言える。本研究を通して、DSP-7888 の標的抗原である WT1 を含めたがん関連抗原を標的にした免疫療法による発がん予防の可能性が示唆されたが、その応用・実装までには、今後もいくつかの改良が必要である。

Familial adenomatous polyposis (FAP) is an autosomal dominant inherited disease caused by mutations in the *APC* cancer-suppressor gene. If left untreated, 100% of patients develop colorectal cancer within several years. To prevent the development of cancer, surgical resection of the total colon is the standard of care, but postoperative complications can lead to a long-term deterioration of quality of life. The development of non-invasive therapies is urgently needed, but no approved therapies for this disease are yet. In order to develop a novel non-invasive treatment for FAP that leads to the prevention of carcinogenesis, we conducted the uncontrolled, open-label, single-center phase II physician-initiated clinical trial of immunotherapy with DSP-7888, a cancer vaccine targeting the WT1 gene products, for patients with FAP (WT1-FAP-01 study) (jRCT2051200082). The main eligibilities are the following: clinically and genetically diagnosed FAP; between 20 and 50 years of age; no history of prophylactic colorectal resection; no colorectal polyps larger than 5 mm on endoscopic observation, including after polypectomy; HLA-A loci HLA-A*02:01, A*02:06, or A*24:02. The total dosing period was eight months, with a total 11 doses given every two weeks for the first two months and every four weeks for the remaining six months. The primary endpoint is the proportion of polyps ≥ 5 mm in diameter eight months after treatment. Sixteen patients were assigned to the treatment group. The median age was 38.5 years, 11 and 5 were male and female, respectively, and four had a history of malignancy associated with FAP. All had undergone several intensive endoscopic resections. Polyp 5 mm or larger in diameter was found in seven of the 14 available patients (50.0%, 95% CI: 30.5, 69.5, $p = 0.605$). These results did not meet the statistical hypotheses of the study. However, endoscopic observations at target sites in the colon showed no more than a twofold increase in the number of polyps larger than 2.5 mm (average change: cecum +0.5, rectum -0.1, and other +0.5) and a slight change in the diameter of existing polyps (average change: cecum -0.30 mm, rectum +0.10 mm, and other +0.01 mm). The most common adverse events were local skin reactions at the vaccine sites (all 16 patients, 100%). Three patients had grade 3 local skin reactions (ulcers), but no serious systemic adverse events were reported. In evaluating cellular immune responses, the WT1-specific cytotoxic lymphocytes were induced after vaccinations in almost all patients. When post-vaccine PBMCs were stimulated with WT1 peptide, WT1-CTLs proliferated and produced cytokines, such as interferon-gamma and tumor necrotic factor- α . Most WT1-CTLs induced after vaccination were immunophenotypically classified effector cells, but a central memory fraction also appeared during treatment. In evaluating humoral immune responses, the production of IgGs specific for WT1 peptides was found after vaccination in many patients. The maximum

percentages of positive WT1-235 IgG, WT1-126 IgG, and WT1-34 IgG titers were 53.3%, 40.0%, and 80.0%, respectively. Further, this study noted WT1-specific CTLs infiltrating within adenoma (WT1-TILs). First, the frequency of WT1-TILs was two to several dozen times higher than WT1-CTLs detected in peripheral blood. Second, some TCRs expressing on the CD8⁺ T cells infiltrating within adenomas were identical to those of WT1-CTLs detected in the peripheral blood after vaccinations. These results supported that WT1-CTLs induced by DSP-7888 infiltrated into the tumor. In conclusion, the data on the primary objective, which statistically did not meet the hypothesis, did not support the efficacy of DSP-7888 in inhibiting adenoma growth in patients with FAP. However, several other clinical and immunological findings suggested that WT1-CTLs induced by DSP-7888 might act as effectors exerting an anti-tumor effect, leading to the inhibition of colon polyp growth in FAP patients.