

機関番号：20101

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390403

研究課題名 (和文) 骨軟部肉腫の新規腫瘍抗原を標的としたペプチドワクチン療法の開発

研究課題名 (英文) Development of peptide vaccination targeting novel bone and soft tissue sarcoma antigen

研究代表者

和田 卓郎 (WADA TAKURO)

札幌医科大学・道民医療推進学講座・特任教授

研究者番号：00244369

研究分野：整形外科

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・整形外科学

キーワード：ペプチドワクチン・骨肉腫・滑膜肉腫・肉腫幹細胞・SYT-SSX・PBF・癌抗原・細胞傷害性 T 細胞

## 1. 研究計画の概要

(1) 新規肉腫抗原ペプチドを分子標的とした、滑膜肉腫と骨肉腫に対するペプチドワクチン療法の第1相臨床試験を実施する。抗原ペプチドの毒性、腫瘍免疫誘導能、腫瘍縮小効果を明らかにする。さらにペプチドワクチンの最適な投与量、投与方法を決定し、第2相、第3相臨床試験の基盤を作る。

(2) 骨軟部肉腫の細胞株から癌幹細胞を分離する。同一患者の細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) クローンを樹立し、骨軟部肉腫の癌幹細胞抗原を同定する。癌幹細胞を標的としたより有効なペプチドワクチンの開発を目指す。

(3) 骨肉腫腫瘍抗原 PBF のノックアウトマウスを作製し、PBF の生物学的機能解析を行う。

## 2. 研究の進捗状況

(1) ペプチドワクチン療法の第1相臨床試験

## ①滑膜肉腫

SYT-SSX-B ペプチド、1アミノ酸を改変し HLA 分子との親和性を向上させた K9I ペプチドをそれぞれ6例、4例に投与した。1例に重篤な有害事象として脳出血が発生した。ワクチンとの因果関係は不明である (厚労省に報告済み)。抗腫瘍効果は5例が PD (progressive disease) であったが、他の5例は SD (stable disease) であった。すなわち50%の例に抗腫瘍効果が認められた。

## ②骨肉腫

PBF ペプチドを2例に投与した。皮膚搔痒感以外に有害事象は認められなかった。抗腫瘍効果は2例ともに PD であった。

(2) がん幹細胞特異的 CTL クローンの樹立と骨軟部肉腫幹細胞抗原の同定

Side population によりヒト悪性線維性組織球腫細胞株から肉腫幹細胞 MFH2003-SP を単離した。さらに、MFH2003-SP を特異的に殺傷する自家 CTL クローンの樹立に成功した。

(3) ノックアウトマウスを用いた骨肉腫抗原 PBF の生物学的機能解析

PBF ノックアウトキメラマウスを C57BL/6 と戻し交配を行うことで N3 マウスを得た。また F1, F2 マウス同士を交配しヘテロおよびホモノックアウトマウスを得た。解析に必要な数のマウスを交配・作製中である。

## 3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している

(理由)

第1相臨床試験に関しては骨肉腫の症例エントリーがやや遅れているものの、滑膜肉腫に対するペプチドワクチン療法の安全性と抗腫瘍効果が確認された。また、肉腫幹細胞の単離、自家 CTL の樹立にも成功した。

## 4. 今後の研究の推進方策

(1) 滑膜肉腫、骨肉腫に対するペプチドワクチン療法の第1相臨床試験を継続、完遂する。

(2) 肉腫幹細胞特異的自家 CTL クローンから T cell receptor (TCR) をクローニングし、人工 CTL を樹立する。これをプローベとして cDNA ライブラリ発現クローニングを行い、自家 CTL に認識される癌幹細胞抗原をクローニングする。

(3) 類上皮肉腫などの希少肉腫に対するペ

プチドワクチン療法開発に向け、新規肉腫幹細胞株の樹立と肉腫幹細胞抗原の同定を試みる。幹細胞の分離には side population 法に加え、ALDEFLUOR 解析も試みる。

(4) 新たな標的分子の同定を目指して、骨軟部肉腫における未知の転座融合遺伝子を全ゲノムシーケンスにより解析する。我々が樹立したヒト骨 MFH 細胞株および類上皮肉腫細胞株を解析に用いる。

#### 5. 代表的な研究成果

(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 19 件)

- ① Tsukahara T, Wada T, et al, Scythe/BAT 3 regulates apoptotic cell death induced by papillomavirus binding factor in human osteosarcoma, Cancer Sci, 100, 47-53, 2009, 査読有
- ② Tsukahara T, Wada T, et al, HLA-A\*0201-restricted CLT epitope of a novel osteosarcoma antigen, papillomavirus binding factor, J Transl Med, 7, 44, 2009, 査読有
- ③ Murase M, Wada T, et al, Side population cells have the characteristics of cancer stem-like cells/cancer-initiating cells in bone sarcomas, Br J Cancer, 101, 1425-1432, 2009, 査読有
- ④ Tsukahara T, Wada T, et al, Prognostic impact and immunogenicity of a novel osteosarcoma antigen, papillomavirus binding factor, in patients with osteosarcoma, Cancer Sci, 99, 368-375, 2008, 査読有
- ⑤ Kimura S, Wada T, et al, Clonal T-cell response against autologous pleomorphic malignant fibrous histiocytoma antigen presented by retrieved HLA-A\*02, J Orthop Res, 271-278, 2008, 査読有

[学会発表] (計 36 件)

- ① Kawaguchi S, Wada T, et al, Clinical and immunologic responses of synovial sarcoma patients treated with SYT-SSX fusion gene-derived peptide vaccine (English workshop), 第 69 回日本癌学会学術総会, 2010 年 9 月 22 日-24 日, リーガロイヤルホテル大阪, 大阪国際会議場 (大阪)
- ② 嘉野真允, 和田卓郎, 他, 骨軟部腫瘍における癌幹細胞の同定とその免疫学的性質の解析, 第 43 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会, 2010 年 7 月 15 日-1

6 日, 京王プラザホテル(東京都)

- ③ 塚原智英, 川口哲, 和田卓郎, 他, HLA-A2 拘束性骨肉腫抗原 PBF ペプチドに関する基礎的研究と第 1 相臨床試験, 第 24 回日本整形外科学会基礎学術集会, 2009 年 11 月 5 日-6 日, 横浜市
- ④ 和田卓郎, 他, 骨・軟部肉腫のペプチドワクチン療法, 第 42 回日本整形外科学会骨軟部腫瘍学術集会, 2009 年 7 月 16 日, 横浜市
- ⑤ Wada T, et al, The third vaccination trial of SYT-SSX junction peptide in patients with disseminated synovial sarcoma, 14th Annual CTOS Meeting, 2008 年 11 月 13 日-15 日, ロンドン

[図書] (計 2 件)

- ① 加谷光規, 和田卓郎, 中外医学社, アトラス骨・関節画像診断 骨軟部腫瘍, 2010 年, 166
- ② 和田卓郎, 医学書院, 今日の治療指針 2011 年版, 2010 年, 984

○取得状況 (計 1 件)

名称: SYT-SSX 改変ペプチド

発明者: 佐藤昇志, 和田卓郎, 他

権利者: 佐藤昇志

種類: 特許

番号: 特許第 4231284 号

取得年月日: 20 年 12 月 12 日

国内外の別: 国内

[その他]

[http://web.sapmed.ac.jp/orsurg/basic\\_invest/index.html](http://web.sapmed.ac.jp/orsurg/basic_invest/index.html)