

骨軟部肉腫に対する癌ワクチン療法

和田卓郎, 山下敏彦
整形外科科学講座

四肢や体幹に発生する悪性腫瘍のほとんどが肉腫である。それらを総称して骨軟部悪性腫瘍、あるいは骨軟部肉腫とよぶ。代表的な骨悪性腫瘍である骨肉腫の5年生存率は、化学療法の発達により1970年代に約60%に改善した。しかし、今なお約40%の患者は再発、転移によって不幸な転帰をとる。一方、軟部悪性腫瘍に対する化学療法の効果は限られている。外科的切除、放射線治療を行っても、50%の患者に再発や転移が生じる。このような患者に有効な治療法はない。治療成績を向上させるためには、外科的切除、化学療法、放射線照射以外の新たな治療法の開発が必須である。

私たちは骨軟部悪性腫瘍に対する癌ワクチン療法の開発に取り組んできた。それぞれの腫瘍に特異的な癌抗原を同定し、その抗原蛋白に由来するペプチドを作製する。ペプチドをワクチンとして患者に投与して、腫瘍に対する免疫を活性化させ、腫瘍の拒絶や縮小をめざす治療法である。

本稿では、私たちが取り組んでいる骨軟部悪性腫瘍の癌ワクチン療法に関する基礎的研究、臨床研究の概要を紹介したい。

はじめに

四肢、体幹に発生する腫瘍を総称して骨軟部腫瘍とよぶ。骨から発生する腫瘍を骨腫瘍、筋肉や脂肪組織など柔らかい組織から発生する腫瘍を軟部腫瘍とよぶ。これらうち悪性腫瘍（いわゆる癌）、すなわち骨軟部悪性腫瘍の発生頻度は高くはない。たとえば、軟部悪性腫瘍は、成人に発生する全悪性腫瘍の3%を占めるにすぎない。しかし、骨軟部悪性腫瘍の予後は不良である。

代表的な悪性骨腫瘍である骨肉腫は10代の子供たちの膝周囲に多発する。手術と1年にもおよぶ抗癌剤投与を行っても、患者の約40%には肺転移が発生し不幸な転帰をとる。一方、悪性軟部腫瘍に対する抗癌剤の効果は限られている。腫瘍の切除や放射線治療を行っても、再発や転

移が発生する例がある。5年生存率はおよそ60%前後と不良である。

骨軟部悪性腫瘍の予後を改善させるためには、新しい治療法の開発が必須である。札幌医大整形外科教室では、骨軟部悪性腫瘍に対する癌ワクチン療法の開発に取り組んできた。現在その一部は臨床試験の段階に入っている。本稿では、我々の研究の概要を紹介する。

癌ワクチン療法のしくみ

癌ワクチン療法とは、ワクチンを投与することによって生体の免疫を活性化して腫瘍の縮小、拒絶をはかろうとする治療法である。

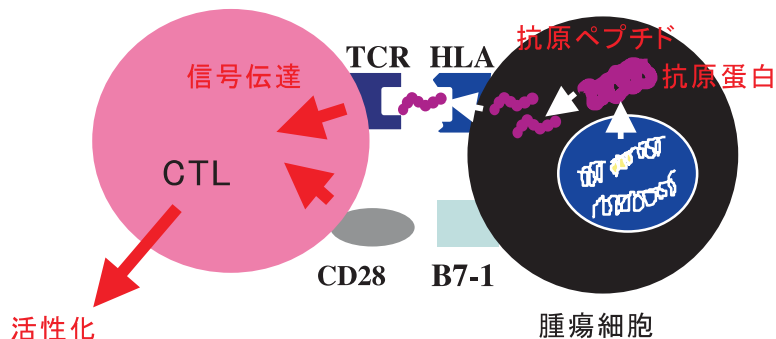
最も強い抗腫瘍免疫の担い手は、細胞障害性Tリンパ球(cytotoxic T-lymphocyte:CTL)とよばれるリンパ球

である。免疫系が腫瘍を拒絶するためには、CTLが腫瘍特異的な抗原（腫瘍抗原）を認識する必要がある。CTLは腫瘍細胞膜上の主要組織適合抗原(HLA)クラスI分子と抗原を合わせて認識する（図1）。腫瘍細胞が産生した抗原蛋白は、細胞内で分解・断片化され8～9個のアミノ酸残基からなるペプチドとなる。このペプチドがMHCクラスI分子上の窪みにはまり込み、提示される。（ペプチド配列はHLAのタイプによって規定される。これ

をHLA拘束性とよぶ。）CTLは、T細胞受容体（T cell receptor:TCR）を介してペプチド抗原を乗せたHLA分子と結合する。結合によって腫瘍細胞を非自己と認識したCTLは、活性化・増殖して、腫瘍細胞を攻撃し拒絶する。

実際の免疫療法では、腫瘍抗原ペプチドをワクチンとして患者に摂取する（図2）。また、患者から採取した末梢血リンパ球をペプチド抗原と共に培養し、活性化したCTLを生体に戻しても良い。

図1. 腫瘍免疫活性化のしくみ



CTL：細胞障害性 T リンパ球

HLA:主要組織適合抗原

TCR:T細胞受容体

B7-1,CD28：補助信号伝達分子

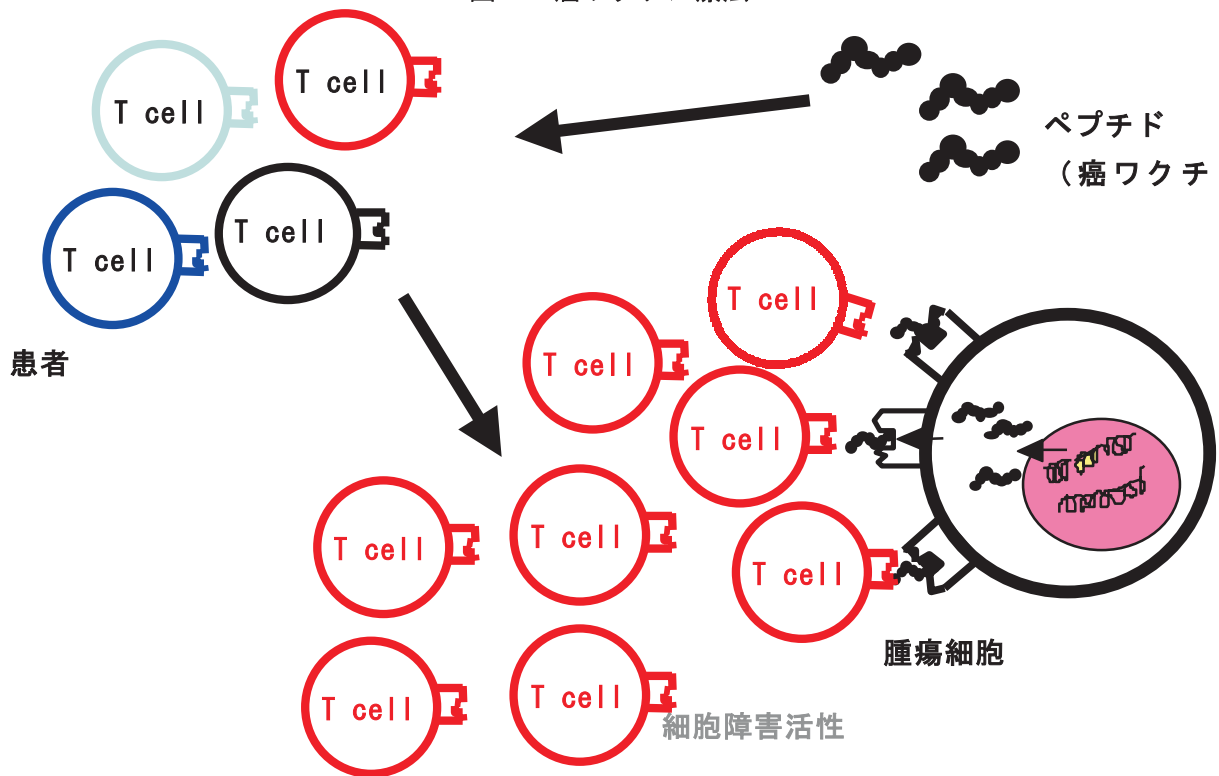
骨肉腫腫瘍抗原の同定

大腿骨原発骨肉腫の腫瘍摘出組織より骨肉腫細胞株（OS2000）を樹立した。同時に、同一患者の末梢血より OS2000 を *in vitro* で特異的に殺傷するリンパ球のクローンを樹立した。OS2000 の cDNA ライブラリーを作り、293EBNA 細胞に導入した。CTL 誘導の有無でスクリーニングを行い、腫瘍抗原分子をコードする遺伝子のクローニングを試みた。その結果、骨肉腫腫瘍抗原として約 1900bp からなる DNA 転写因子を同定した。この DNA 転写因子は近年同定された、

papillomavirus binding factor: PBF と同一であることが明らかになった。

PBF は骨肉腫のみならず、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫など骨軟部悪性腫瘍に幅広く発現されている。一方正常組織における発現を RT-PCR 法で調べたところ、RNA レベルでは肝、膵、卵巣などの臓器に発現がみられた。しかし、western blot で蛋白レベルでの発現を調べたところ、ほとんど発現がみられなかった。現在、癌ワクチン療法を目指して抗原ペプチドの決定を行っているところである。

図2. 癌ワクチン療法



滑膜肉腫に対する癌ワクチン療法の開発 滑膜肉腫とは

滑膜肉腫は、悪性線維性組織球腫、脂肪肉腫について発生頻度の高い軟部悪性腫瘍である。関節近傍から発生することが多いので、この名前がつけられた。外科的切除、化学療法、放射線治療を行っても再発、転移をおこす例は多い。その5年生存率は38%～63%、10年生存率は33%～47%と予後の悪い腫瘍である。

滑膜肉腫では、第18染色体とX染色体の間に相互転座t(18:X)が生じている。染色体転座の結果、SYT-SSXと呼ばれる融合遺伝子、さらに融合蛋白が形成される。この融合遺伝子産物は滑膜肉腫に特異的であり、正常組織には発現されない。著者らはSYT-SSXが滑膜肉腫の腫瘍抗原になりうるのではないかと考えた。もしそうであれば、SYT-SSXを腫瘍抗原として用いた治療が可能になる。

滑膜肉腫に対する癌ワクチン療法の基礎的研究

著者らは、SYT-SSXのアミノ酸配列から、日本人に最も頻度の高いMHCクラスI分子であるHLA-A24と結合しうる4種のペプチド抗原を作製した(図4)。滑膜肉腫患者の末梢血中にこれらのペプチド抗原と結合するTリンパ球が存在するかどうかをHLA tetramer法⁷⁾を用いて検討した。その結果、滑膜肉腫16例中6例の末梢血中にペプチド抗原と結合可能なTリンパ球が確認された。これら6例は全て肺転移の既往のある患者であった。肺転移例に限ってみると、9例中6例(67%)にCTLが確認されたことになる(表)。さらに、そのCTLはin vitroでヒト滑膜肉腫細胞株を特異的に傷害した⁸⁾。これらの知見より、SYT-SSX由来のペプチド抗原は滑膜肉腫の腫瘍抗原になりうることで、またそれを用いた腫瘍免疫療法の可能性が示唆された。

図3. 滑膜肉腫における染色体転座t (X; 18) (p11.2; q11.2)

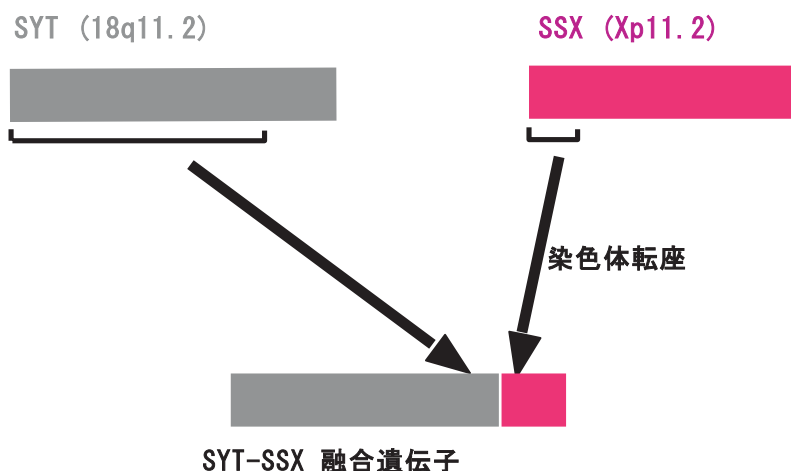
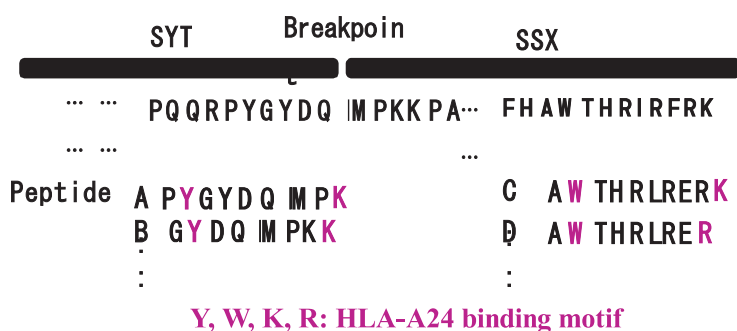


図4. 滑膜肉腫抗原ペプチドの合成



滑膜肉腫に対する癌ワクチン療法の臨床試験

このペプチド抗原を利用した滑膜肉腫のペプチドワクチン療法は、当大学の倫理委員会の承認を得たうえで、第1相臨床試験を開始した。進行期の患者を対象とし、ペプチドの安全性、抗腫瘍効果の

検討を目的とした試験である。これまでに、6例の患者が試験にエントリーした。症例1から3のペプチドの1回投与量は0.1mg、症例4、5の投与量は1mgであった。

毒性に関しては、1例に微熱がみられたが、他に重篤な有害事象は認められな

かった。また、遅延型過敏症も観察されなかった。

ペプチド特異的 T リンパ球の存在頻度は、測定を行った 4 例中 3 例でペプチド接種後に増加した。腫瘍縮小効果に関しては、4 例で腫瘍の増大がみられたが、1 例ではワクチン接種後に腫瘍増殖が抑制された。

おわりに

骨軟部腫瘍の治療体系の中で、免疫療法が外科的切除、化学療法、放射線治療の併用療法として有効であるか、あるいは独立した治療法となりうるかは未知数である。いずれにしても、基礎研究、臨床研究を通じ科学的検証のなされた治療法

として確立されることが重要である。

参考文献

- 1 Sato, Y., Nabeta, Y., Tsukahara, T., Hirohashi, Y., Syunsui, R., Maeda, A., Sahara, H., Ikeda, H., Torigoe, T., Ichimiya, S., Wada, T., Yamashita, T., Hiraga, H., Kawai, A., Ishii, T., Araki, N., Myoui, A., Matsumoto, S., Umeda, T., Ishii, S., Kawaguchi, S., Sato, N.: Detection and induction of CTLs specific for SYT-SSX-derived peptides in HLA-A24(+) patients with synovial sarcoma. J Immunol 169: 1611-8., 2002.

表 1. 滑膜肉腫患者におけるキラー T 細胞の存在頻度
(文献 1 より改変して引用)

	Age	Gender	Chemotheran	SYT-SSX	Frequency (%)		
					A	B	C+D
Metastasis(+)							
1	20	M	-	+	0.33	0.29	0.13
2	59	F	-	N.D	1.27	0.84	0.57
3	52	F	+	+	0.12	0.15	0.12
4	70	M	-	+	0.40	0.34	0.18
5	31	F	+	N.D	0.10	0.09	0.06
6 ^a	28	M	+	N.D	0.22	0.31	0.40
7 ^a	18	F	+	N.D	0.21	0.18	0.08
8 ^a	51	F	+	N.D	0.24	0.36	0.19
9 ^a	22	F	+	+	0.44	0.37	0.14
Metastasis(-)							
10	25	F	+	+	0.03	0.06	0.04
11	26	M	-	+	0.19	0.13	0.24
12	43	F	-	N.D	0.17	0.11	0.08
13	60	M	+	+	0.11	0.12	0.08
14	16	M	+	+	0.00	0.00	0.11
15	25	M	+	+	0.03	0.03	0.02
16	30	M	-	+	0.04	0.11	0.07