


平成26年度 特別経費(プロジェクト分) 概算要求事業 学内公募申請書

「分子イメージング・マイクロブーズ(第0相)臨床試験体制を擁する分子標的治療研究・教育拠点の構築」事業

	研究者名簿(大学院生をなるべく含むこと)	役職	役割	PET使用経験	分子イメージング講義シリーズの受講の有無
研究組織	藤田 麻里子 村上 純 岡田 俊輔	助教 助教 院生	実験全般 PET関連 細胞培養など	有り	有り
区分	1. 機器開発, ②. がん, 3. 炎症・再生, 4. 脳機能, 5. その他	登録(該当区分に○)	1. 分子イメージングコース ②. それ以外の分野	主任教授氏名 研究許諾印	浅海 淳一 
区分 (該当区分に○)	Phase 0: 実現可能かどうかの提案, 研究相談のみが目的. Phase I: Phase zeroの具体性が出た準備研究. 研究期間: 1年~2年. PET使用含まず. Phase II: Phase Iを終え、成果の出始めた実現性の高いもの. PETなどの専門家の共同研究体制が確立している. 研究期間: 1年~2年. PET/SPECTの使用1~2回程度. Phase III: Phase IIレベルを終え、具体的な合成行程を含めて完成度が高く、本格的研究に入っているもの. 研究期間: 1年~3年 PET/SPECT使用3回以上.				
プロジェクト名	PET撮像型WT1ワクチンプローブ投薬スクリーニング検査法の開発 (H25年度からの本事業継続研究)				
研究計画	<div style="border: 2px solid black; padding: 5px;"> <p style="text-align: center;">口腔癌細胞株におけるWT1発現を検討し、癌抗原ワクチン療法における、WT1ワクチンのPETプローブ化による定量的かつ非侵襲的なスクリーニング法の確立を目指す。</p> </div> <p>近年、癌に対してワクチンとなるような抗原を投与し、癌を標的とする免疫細胞を誘導し、癌細胞を選択的に攻撃する癌抗原ワクチン療法が注目されている。癌ワクチン抗原として WT1 (Wilm's tumor 1) ペプチドが期待されている。</p> <p>WT1 は、449 個のアミノ酸からなるタンパク質で、9 個のアミノ酸ペプチドが、癌細胞表面の HLA 分子と結合して存在する。これを利用して免疫を活性化させ、癌細胞を攻撃するのが WT1 ワクチン療法である。正常細胞の表面には WT1 が少なく、攻撃されない為、癌特異的に攻撃できる治療法である。</p> <p>WT1 ワクチンの適応は癌部での WT1 発現の多寡に基づいて判定される。従来 WT1 検査法は、定量性が乏しく、侵襲性も高い病理組織学的検査に依存している。PET の特性である高い検出能力と定量性、非侵襲性、生体内での正常組織と癌細胞の比較の簡便性などの点において、従来法を凌駕、差別化でき、優位性を持つ。申請者は昨年度より、PET 撮像型 WT1 ペプチド癌ワクチン療法スクリーニング法を確立するため、マウス由来口腔癌細胞株を使用し、WT1 発現の検討や、分子イメージングの至適化の検討を行ってきた。本年度は昨年度の研究結果を受け、PET プローブ化 WT1 抗体による PET 撮像を行い、腫瘍内の WT1 発現の比較検討を行うまでを目指す。</p> <p>本プロジェクトにおける昨年度の成果</p> <p>○ヒトならびにマウス由来口腔癌細胞株におけるWT1発現の検討</p> <p>ヒト口腔扁平上皮癌由来細胞 (HSC4細胞、SAS細胞、KB細胞)、ならびにマウス由来口腔癌細胞株sq-1979を培養し、WT1タンパク、mRNAを対象としてThermo scientific WT1 Ab-5マウスモノクローナル抗体を購入、タンパク発現の検討に供した。さらにそれぞれの細胞株をBALB/c nu/nuマウス、C3Hマウスの背部皮下に担癌させ、モデルマウスを作製し、ウェスタンブロットならびに免疫染色を行ったが、WT1発現の検討に用いた抗体の特異性が低く、明らかな有意差は得られなかった。</p>				

○EGFR発現を指標としたPET撮像の分子イメージング至適化の検討

WT1 ペプチドを用いた PET 撮像による検討に先立って、分子イメージング研究として用いられることの多い EGFR 抗体試薬を利用した PET 撮像を行い、本研究におけるモデルマウス実験系での PET 撮像至適化を計画し口腔癌に対する分子標的薬として 2012 年臨床的に認可されたアービタックスを放射能標識、89-Zr を用いてキレート修飾、プローブ化した。現在、BALB/c nu/nu マウス、C3H マウスの現在背部皮下に担癌させ、モデルマウスを作製し、腫瘍の最適な増大時期に併せて PET の撮像を予定している。

本年度の研究予定

1.ヒトならびにマウス由来口腔癌細胞株における WT1 発現の検討

申請者は昨年度、WT1タンパク、mRNAを対象としてThermo scientific WT1 Ab-5マウスモノクローナル抗体を購入、タンパク発現の検討に供したが、抗体の特異性が低く明らかな有意差は得られなかった。本年度は、再度抗体の至適化を行い、WT1の特異的な発現を検討する。

2.PET プローブ化 WT1 抗体による PET 撮像～腫瘍内 WT1 発現の比較

WT1モノクローナル抗体 (Lab Vison Corp. WT1Ab-5) をPETプローブ化 (キレター修飾、64-Cu精製) する。担癌マウスモデルの腫瘍径が撮影に適する大きさに増大した時期に、同プローブを担癌マウスモデルの尾静脈より投与し、投与直後から12時間ごとに144時間後 (14タイムポイント) まで、イソフルラン吸入麻酔下でPET撮像し (Clairvivo PET; (株) 島津製作所)、WT1ワクチンプローブの分布状況をPET画像上で検討する。

期待される効果

WT1ワクチンをプローブ化し、先行実験同様にWT1ペプチドの発現量をPET検査で定量的に評価できれば、WT1ペプチドワクチン療法の際の適応患者を選択する新たなPETスクリーニング法への技術移転の可能性につながる。

本研究によりWT1発現がPETで評価する事が出来れば、さらにPETで得られるWT1発現量とWT1ワクチン奏効率との相関性の検討を予定している。これにより、確実な臨床応用へと直結できる。なお、本申請研究は昨年度を先行研究としたため、基礎的研究として、2年後の結果報告を目標として計画し、その後、臨床応用に向けスムーズな製品開発への移行を目標とする。

今回の課題内容は岡山大学動物実験計画承認番号OKU-2013160 として承認済みで、動物実験は実施中である。申請者らはPET撮像経験もあり、OMIC施設と連携している段階にある。

本プロジェクトに関連した過去の研究業績, 受賞等

論文発表
なし
受賞等
なし

研究費の概算

消耗品	
・ 実験用試薬	5万
・ 実験動物 (マウスBALB/c 4500円×30匹)、飼料	15万
・ PETプローブ合成料	15万
・ PETプローブ材料費	5万
・ PET撮影(学内受託)(岡山大学)	60万
計	100万

※ 研究業績については、論文名・著書名・著者名・学会誌名・巻(号)・最初と最後の頁・発表年(西暦)の各項目を記入してください。共同、共著の場合は全員を掲載順に記入し、研究組織メンバーに下線を付してください。In press となったもの以上を記入してください。

※ 研究費の概算については、「項目・単価×数=金額」を記入し、一番下の行に合計金額を記入してください。

※ この様式に収まらない場合、体裁を変更せず2ページ目までに収まるよう行を追加して記入してください。

※ 申請に際しては、指導教授印のあるものの pdf ファイル及び word データファイルをメールで同時にお送りください。