

進 誠也 論文内容の要旨

主 論 文

Cross-presentation of NY-ESO-1 cytotoxic T lymphocyte epitope fused to human heat shock cognate protein 70 by dendritic cells

(癌抗原 NY-ESO-1 とストレス蛋白(heat shock cognate protein 70)融合蛋白による樹状細胞を介した抗原提示機能の解明と癌ワクチンへの応用)

Seiya Susumu, Yasuhiro Nagata, Shinichiro Ito, Mitsutoshi Matsuo, Danila Valmori, Katsuyuki Yui, Heiichiro Uono, Takashi Kanematsu

Cancer Science. 2008; **99**: 107-112.

(長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 外科系専攻
主任指導教員：兼松 隆之 教授)

緒 言

1991 年以来、当教室では癌に対する免疫治療の確立を目指し、長崎大学腫瘍医学教室および三重大学第 2 内科との共同研究により、癌抗原に対する免疫応答の基礎的解析と臨床研究を進めてきた。

これまで、乳癌や卵巣がん等で発現がみられる癌遺伝子 HER2 に対する T 細胞を介した免疫応答の誘導を明らかにし (*Journal of Immunology*, 1998)、2003 年から長崎大学医学部倫理委員会の承認により、HER2 を標的とした癌ワクチンの臨床試験を開始した。これまでの臨床試験では、安全性が示され抗原特異的な免疫応答も誘導されたが、臨床効果については確認されておらず、免疫応答を増強させるための抗原選択と適切なアジュバントの存在が重要であると考えられている (*Clinical Cancer Research*, 2006)。

今回、食道癌や肝細胞癌などで発現が認められる癌・精巢抗原 NY-ESO-1 に対する抗原特異的癌ワクチンの開発を目指し、NY-ESO-1 抗原エピトープと免疫増強効果を持つストレス蛋白 heat shock cognate protein 70 (hsc70) を遺伝子的に融合させ、この融合蛋白を樹状細胞に作用させることで、抗原特異的細胞障害性 T 細胞の誘導を試みた。さらに、樹状細胞における抗原提示機序を解明するために以下の検討を行った。

対象と方法

1. hsc70 と細胞傷害性 T 細胞により認識される癌抗原 NY-ESO-1 の HLA*0201 拘束性抗原エピトープ p157-165 (ESO p157-165) を、遺伝子レベルで融合、リコンビナント蛋白 (hsc70/ESO p157-165 融合蛋白) として産生・精製した。
2. 健常人末梢血単球から、抗原提示細胞となる樹状細胞をサイトカイン存在下で誘導した。
3. 樹状細胞に hsc70/ESO p157-165 融合蛋白を作用させた後、NY-ESO-1 特異的細胞傷害性 T 細胞と混合培養し、抗原提示能を IFN- γ ELISPOT assay で測定した。

4. 細胞膜、または細胞内輸送をそれぞれブロックするパラホルムアルデヒドとラクタシスチンで前処理した樹状細胞に、hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白を作用させた後、抗原提示能を測定した。
5. 健常人 CD8 陽性 T 細胞を hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白にて刺激し、NY-ES0-1 特異的細胞傷害性 T 細胞の誘導を試みた。

結 果

1. hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白を作製した。また、臨床応用可能と判断できる 50 pg/ml 以下のレベルまでエンドトキシンを除去できた。
2. NY-ES0-1 特異的細胞傷害性 T 細胞は、hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白由来の抗原エピトープ p157-165 を認識した。この反応は、パラホルムアルデヒドおよびラクタシスチンにより 10-15%程度のレベルまで抑制され、細胞内経路を介した抗原提示であることが明らかになった。
3. 健常人 CD8 陽性 T 細胞を hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白にて刺激することにより、ES0 p157-165 特異的 T 細胞が検出された。

考 察

腫瘍特異的 T 細胞は HLA に提示された癌抗原を特異的に認識し、癌細胞を傷害する。こため、化学療法とは異なり癌細胞以外の正常細胞に与える影響は極めて少なく、外科切除が行われた後の微小転移や残存病巣を標的とした補助療法としては理想的である。

今回標的とした癌精巣抗原 NY-ES0-1 は食道癌や肝臓癌で高発現することが報告されており、消化器外科の標的抗原としても期待できる。癌ワクチンにおいて抗原をどのように投与するかは、極めて重要な点である。これまでの臨床研究でペプチド単独では十分な臨床効果が得られていないため、我々は、アジュバントとしてストレス蛋白 hsc70 を選択し、hsc70 が持つ抗原提示能と免疫増強効果を期待している。

今回、ES0p157-165 と hsc70 の融合蛋白の作製し、かつ臨床応用可能な純度で抽出する事に成功した。また、hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白は一度樹状細胞内に取り込まれた後、細胞内輸送を介して、再び細胞表面に抗原提示される (cross-presentation) ことを明らかにした。これによりペプチドよりも HLA と高親和性の結合が可能となり、確実な免疫応答が期待できる。さらに、試験管内ではあるが、健常人 CD8 陽性 T 細胞を hsc70/ES0 p157-165 融合蛋白にて刺激することにより、NY-ES0-1 特異的細胞傷害性 T 細胞を誘導できたことで、今後の臨床応用への期待が広がった。