

伊藤信一郎 論文内容の要旨

主 論 文

Phenotypic Analysis of Monocyte-derived Dendritic Cells Loaded with Tumor Antigen with Heat-shock Cognate Protein 70

(癌抗原とストレス蛋白(heat shock cognate protein 70)の融合蛋白に刺激された樹状細胞の解析とがんワクチンへの応用)

伊藤信一郎、永田康浩、進 誠也、米田 晃、松尾光敏
由井克之、鶴殿平一郎、江口 晋、兼松隆之

(*Anticancer Research*, volume32:11, 2012 年)

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員：江口 晋 教授)

緒 言

当教室では、消化器癌に対する癌免疫療法の基礎的研究と臨床研究を進めてきた。これまで、癌・精巣抗原 NY-ESO-1 に対する抗原特異的癌ワクチンの開発を目指して、NY-ESO-1 抗原エピトープを Heat shock cognate protein 70 (hsc70) と融合させた蛋白：hsc/ESO p157-165 融合蛋白を作製し、NY-ESO-1 抗原特異的細胞障害性 T 細胞を誘導することを証明した (*Cancer Science*, 2008)。この際に、癌抗原を取り込み、細胞内輸送を介して HLA classI に抗原提示できる樹状細胞は CD14⁻CD1a⁺樹状細胞に限られ、個体差や培養条件による相違が見られた。このことはがんワクチンの臨床応用において障壁となり得る。本研究では、健常人ドナーの単球由来樹状細胞を hsc/ESO p157-165 融合蛋白で刺激した後、その表面マーカーを比較し、抗腫瘍効果を増強する Th1 サイトカインを産生する樹状細胞の誘導に適した培養条件を検討した。

対象と方法

1. 健常人ドナーの末梢血から単球を分離し、GM-CSF, IL-4 存在下で誘導した未熟樹状細胞の表面マーカーをフローサイトメトリーで解析した。
2. 誘導された樹状細胞を hsc/ESO p157-165 融合蛋白で刺激し、IL-10 および IL-12 の産生を ELISA 法で測定した。
3. 同一ドナーで培養条件を変え誘導される樹状細胞の表面マーカーとサイトカイン産生能の変化について検討した。

結 果

1. 健常人単球から誘導された樹状細胞は、ドナーにより CD14 と CD1a の発現に相違を認めた。
2. hsc70/ESO p157-165 融合蛋白の刺激によって CD14⁻ CD1a⁺樹状細胞は、抗腫瘍効果が期待される Th1 サイトカインの IL-12 を産生した。
3. CD14⁻CD1a⁺樹状細胞が誘導されたドナーにおいても、誘導する際の培養液の FCS 濃度を 10% から 2.5% に変えることで、CD14, CD1a の発現は逆転した。これに伴い癌抗原刺激に対するサイトカイン産生は Th1 から Th2 サイトカインの IL-10 優位へと変化した。
4. 樹状細胞誘導時に抗 IL-6/IL-6 レセプター抗体を添加することで、CD1a は高発現となり、癌抗原刺激により IL-12 産生も認められた。

考 察

癌抗原 NY-ESO-1 は様々な癌と精巢にのみ発現する、癌特異的抗原のひとつである。NY-ESO-1 陽性の坦癌患者において抗原特異的な CD4 および CD8 陽性 T 細胞が誘導されることから、NY-ESO-1 は癌免疫療法に有望な癌抗原として期待されている。しかし、NY-ESO-1 をペプチドのかたちで投与する癌ワクチンからは、特異的免疫応答が検出されるものの、十分な腫瘍退縮などの臨床的効果は得られておらず、臨床応用にはまだ障壁が存在している。

これに対し我々は、Heat Shock Protein が持つシャペロン機能に着目し、樹状細胞による抗原提示能を更に増強することでがんワクチンへの応用を目指してきた。これまでの研究成果として、NY-ESO-1 エピトープ p157-165 と hsc70 を遺伝子的に融合させた蛋白を作製し、樹状細胞に hsc/ESO p157-165 融合蛋白を取り込ませ、クロスプレゼンテーションにより NY-ESO-1 特異的細胞障害性 T 細胞が誘導されることに成功した。しかし、この抗原特異的免疫反応を誘導する過程において、抗原提示細胞となる樹状細胞は極めて重要な役割を担っており、樹状細胞の個体差や誘導法の違いにより必ずしも抗原提示に有利な未熟樹状細胞が常に誘導されるとは限らないことも判明した。

本研究では、抗原提示能を有する未熟樹状細胞を誘導する際の培養条件として FCS の濃度が重要であり、その結果、がんワクチンによる刺激に対するサイトカイン産生能にも Th1 から Th2 へ逆転することが明らかになった。このことは樹状細胞を用いた癌免疫療法における樹状細胞自身の品質管理の重要性を強く裏付けるものである。

さらに今回、抗原提示能が低下している樹状細胞を抗 IL-6/IL-6 レセプター抗体によって処理することで、CD1a 発現だけでなく Th1 サイトカインである IL-12 の産生能も回復した。このことは、免疫能低下状態にあるとされる坦癌患者においても、ある条件のもとでは免疫能を賦活させる可能性を示唆するものであると同時に、抗 IL-6 抗体アナログが効果的なアジュバントの一つとなり得ることが示された。