

氏 名	ひし 菱 ざわ 澤 まさ 方 かつ 勝
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2955 号
学位授与の日付	平成 18 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	医学研究科内科系専攻
学位論文題目	Identification of tumor - associated antigens in hematological malignancies by SEREX. (造血器悪性疾患を対象とした SEREX 法による腫瘍抗原の同定に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教授 中 畑 龍 俊 教授 藤 田 潤 教授 前 川 平

論 文 内 容 の 要 旨

担癌患者に効果的に癌拒絶を引き起こす免疫応答を誘導するには、免疫原性をもつ腫瘍特異抗原もしくは腫瘍関連抗原の同定が重要であるが、その多くは未知である。Serological identification of antigens by recombinant cDNA expression cloning (SEREX) 法は、腫瘍組織から作製した cDNA 発現ライブラリーを患者血清でスクリーニングし抗原を単離する方法であり、これまで様々な癌種に応用され多数の腫瘍抗原が同定されている。

本研究では、免疫学的機序による抗腫瘍効果が臨床的に認められた造血器悪性腫瘍患者（成人 T 細胞白血病 (ATL) 及びマンツル細胞リンパ腫 (MCL)) を対象に SEREX 法を用いて標的抗原の同定を試みた。

長期間安定した経過をたどった ATL 患者から樹立した白血病由来細胞株 (ED-40515+) から cDNA ライブラリーを作製し自己血漿でスクリーニングしたところ 5 個の異なる遺伝子が単離された。このうち serine/arginine protein kinase1 (SRPK1) の mRNA は、正常組織では精巣で強発現する癌精巣抗原様の発現プロファイルが報告されており、real-time RT-PCR 法を用いた検討では正常末梢血単核球や慢性型 ATL 検体と比べ急性型 ATL 検体で高発現していることが示された。抗 SRPK1 モノクローナル抗体を用いた Western blot 法で蛋白の発現を解析したところ、SRPK1 は急性型 ATL に特異的に強発現していた。また SRPK1 蛋白は ATL 以外の造血器悪性疾患由来の細胞株でも強発現が認められた。患者血清中の抗 SRPK1 抗体を確認するため、免疫沈降により精製したりコンビナント SRPK1 蛋白と血清を用いて Western blot 法をおこなうと、抗 SRPK1 抗体は他の ATL 患者、無症候性 HTLV-I キャリアーおよび健康人の血清もしくは血漿では確認されず SEREX をおこなった患者血漿中に特異的に観察され、SRPK1 は免疫原性を持つ腫瘍抗原の一つであると推測された。

MCL に関しては、同種造血幹細胞移植後に再発し、その後免疫抑制剤の中止により再寛解が得られた患者を対象とした。同種移植では、ドナーの由来の免疫担当細胞による腫瘍細胞の排除、すなわち移植片対腫瘍効果が移植成績に寄与していると考えられている。診断時リンパ腫検体及び抗腫瘍効果のあった時期の血清を用いて SEREX 法でのスクリーニングをおこなったところ 5 個の異なる遺伝子が単離され、このうち hCAP-G は正常組織で癌精巣抗原様に発現し、APOBEC3B の発現は末梢血に限られていることが報告されていたためこれら 2 個の遺伝子を選択し解析を行った。real-time RT-PCR 法での解析では、両者とも多くの MCL 検体で強発現していた。また患者の血清を移植前後で経時的に調べると、各々の蛋白に対する抗体反応は臨床的な抗腫瘍効果と関連し、健康人や他の MCL 患者では観察されなかった。さらに HLA-A*0201 拘束性 APOBEC3B ペプチドに対する患者末梢血中 T 細胞応答が ELISA 法で確認され、この抗原に対する免疫反応の抗腫瘍効果への関与が推測された。

このように免疫学的な抗腫瘍効果があった症例で組織特異的な発現形式をもち腫瘍で高発現する標的抗原が SEREX 法で同定され、その一部は抗体反応のみではなく T 細胞応答を惹起していることが示された。SEREX 法により予後不良の造血器悪性腫瘍で免疫原性のある腫瘍特異抗原の単離が可能であり、免疫療法の発展が期待されると考えられた。

論文審査の結果の要旨

担癌患者に効果的な免疫応答を誘導するには腫瘍抗原の同定が重要であり、本研究では、免疫学的機序による抗腫瘍効果が認められた造血器悪性腫瘍患者（①成人 T 細胞白血病（ATL）及び②マントル細胞リンパ腫（MCL））を対象に SEREX 法を用いて標的抗原の同定を行ったものである。

①では患者から樹立した細胞株及び自己血漿を用いてスクリーニングし、5 個の異なる遺伝子を単離した。このうち SRPK1 は mRNA 及び蛋白発現ともに急性型 ATL で高発現し、ATL 以外の造血器悪性疾患由来細胞株でも強発現が認められた。また血漿中の抗 SRPK1 抗体は SEREX をおこなった患者で特異的に観察され、SRPK1 は免疫原性を持つ腫瘍抗原の一つであると推測された。

②では同種造血幹細胞移植後に GVL 効果が観察された患者の血清を用いてスクリーニングし、5 個の異なる遺伝子が単離された。このうち hCAP-G と APOBEC3B の mRNA は、多くの MCL 検体で強発現していた。また患者の血清を経時的に調べると、各々の蛋白に対する抗体反応は臨床的な抗腫瘍効果と関連し、さらに HLA-A*0201 拘束性 APOBEC3B ペプチドに対する患者末梢血中 T 細胞応答が確認され、この抗原に対する免疫反応の抗腫瘍効果への関与が推測された。

本研究は、造血器悪性疾患における腫瘍特異的な標的抗原の解明に貢献し、免疫療法の発展に寄与するものである。従って、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位申請者は平成18年2月2日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。