The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	HLA-A* 0201拘束性にWT1特異的細胞傷害性T細胞を誘導できる新しいWT1ペプチドの同定
Author(s)	升田, 知機
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45294
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

氏　　名　升田知機（ますだともき）

博士の専攻分野の名称　博　士（医　学）

学位記番号　第　18480　号

学位授与年月日　平成16年3月25日

学位授与の要件　学位規則第4条第1項該当

医学系研究科分子病態医学専攻

学位論文名　**HLA-A* 0201拘束性にWT1特異的細胞傷害性T細胞を誘導できる新しいWT1ペプチドの同定**
（Identification of Novel HLA-A* 0201-restricted T cell Epitopes Which Can Induce WT1-specific Cytotoxic T Lymphocytes）

論文審査委員　（主査）
教　授　川瀬　一郎

（副査）
教　授　金倉　譲　教　授　平野　俊夫

論文内容の要旨

〔目　的〕

小児の腎腫瘍であるウイルムス腫瘍の原因遺伝子として分離されたWT1は、殆どの白血病や多くの固形癌において高発現しており、また、その発症（細胞の癌化）に重要な役割を果たしていることが、我々によって明らかにされた。これを背景として、WT1を標的とした癌免疫療法の開発のためのWT1特異的細胞傷害性T細胞（CTL）の誘導が試みられ、今までにHLA-A*0201、あるいはHLA-A*2402分子にそれぞれ高い親和性で結合すると推定されるWT1ペプチド（HLA-A*0201に対してDb126、HLA-A*2402に対してWH235）がそれぞれのHLA拘束性にそのようなCTLの誘導が可能であることが明らかにされた。また、現在、これらのWT1ペプチドをもちいた癌免疫療法（癌ワクチン）の臨床治験が進行中であり、有効症例も経験した。

しかしながら、単一の腫瘍抗原エピトープによる免疫療法では、その治療中にエピトープの細胞表面への提示が低下し、腫瘍細胞が誘導されたCTLからの攻撃を回避したり、同じHLAクラスI分子を持つ腫瘍細胞であっても、その個人や腫瘍の多様性により、ある特定のペプチドエピトープが腫瘍細胞表面に提示されない患者が存在する可能性が想像され、更には、あるペプチドとあるHLAクラスI分子の複合体を認識するCTL前駆体の頻度は患者間で変動しており、それが極めて低い患者も存在し得る。

ペプチドを用いた癌免疫療法のこれらの問題点を克服するためには、ある腫瘍関連抗原（TAA）由来の多くの抗原エピトープを同定することが望まれる。今回の研究においては、このことを目的として、HLA-A*0201（白人の60%、日本人の20%が有しているHLAクラス分子I）拘束性にWT1特異的CTLを誘導できる新たなWT1ペプチドエピトープの同定を試みた。

〔方法ならびに成績〕

WT1タンパク由来の9個のアミノ酸から構成（9mer）され、HLA-A2.1分子への結合に重要と考えられるアンカーモチーフを持つペプチド（WH7；DLNALLPAV, WH187；SLGEQQYSV　下線はアンカーモチーフを示す）を合成した。そして、HLA-A*0201を持つ健常人ドナーの末梢血リンパ球を、WH7あるいはWH187ペプチドをそれぞ

れパルスしたT2細胞（放射線照射）で *in vitro* で刺激した。同じ刺激を1週間間隔で計5回繰り返し、誘導された細胞の、WT1ペプチドをパルスしたあるいはパルスしていないT2細胞に対する細胞傷害活性を測定した。WH7、あるいはWH187をパルスしたT2細胞の刺激で誘導された細胞は、それぞれのペプチドをパルスしたT2細胞に対して、ペプチドをパルスしていないT2細胞に対してより、より強い細胞傷害活性を示した。これにより、WT1タンパク由来の9merのペプチドであるWH7及びWH187を特異的に認識できるCTLが、それぞれ、HLA-A*0201を有するヒトの末梢血リンパ球より誘導されることが示された。

次に、WH7、あるいはWH187特異的CTLがHLA-A*0201陽性、WT1発現白血病細胞を傷害するかどうかを検討した。これらのCTLはHLA-A*0201陽性、WT1発現白血病細胞であるTF-1細胞を傷害したが、HLA-A*0201陽性、WT1非発現細胞であるJY細胞を傷害しなかった。この結果により、WH7及びWH187の9merのペプチドは腫瘍細胞で内因性に発現するWT1タンパクからprocessingにより生じHLA-A*0201分子と共に細胞表面に提示され、更に、そのペプチド/HLAクラスI分子複合体が誘導されたCTLに認識されることが示された。

最後に、誘導されたCTLの細胞傷害活性が上記のWT1ペプチド/HLAクラスI分子複合体を認識することにより細胞傷害活性を示すことを確かめるために、そのCTLのHLA拘束性を検証した。つまり、WT1ペプチドをパルスしたT2細胞、及び内因性WT1発現TF-1細胞に対するこれらのCTLの細胞傷害活性が抗HLA-A2抗体存在下で阻害されるかを検討したところ、その細胞傷害活性は、抗HLA-A2抗体存在下で阻害された。

これらの結果を併せると、本研究によりWH7及びWH187は、それぞれHLA-A*0201を有するヒトにおけるWT1特異的CTLエピトープであることが明かにされた。

〔総　括〕

最近、ある特定のTAAを標的として腫瘍細胞を攻撃する自己のCTLを誘導する抗腫瘍免疫療法が注目を浴びており、我々が焦点を当てているWT1タンパクもそのTAAのひとつである。我々は、白人に最も多くみられるHLAクラスI分子であるHLA-A*0201拘束性にWT1特異的CTLを誘導できる9merのWT1ペプチドであるDb126をすでに同定している。本研究において、我々は、HLA-A*0201拘束性にWT1発現腫瘍細胞に細胞傷害活性を及ぼすCTLを誘導できる新たな2つのWT1ペプチドエピトープであるWH7とWH187を同定した。今後、これらのペプチドにより、癌ワクチン療法の適応患者の拡大や治療成績の向上が期待される。

論文審査の結果の要旨

近年、ある特定の腫瘍関連抗原（TAA）を標的とした細胞傷害性T細胞（CTL）を誘導する抗腫瘍免疫療法が注目を浴びている。WT1タンパクもそのTAAのひとつであり、WT1特異的CTLを誘導できるWT1タンパク由来のペプチドの同定に成功している。しかし、単一の腫瘍抗原ペプチドによる免疫療法では、効果に限界がある可能性があり、これを克服するには、より多くの抗原ペプチドを同定する必要がある。

本研究は、これを目的として、HLA-A*0201拘束性にWT1特異的CTLを誘導できる新たなWT1ペプチドの同定を試みた。その結果、WT1タンパク由来で、HLA-A2.1分子への結合に重要と考えられるアミノ酸を持つペプチドであるWH7、及びWH187が見出され、*in vitro* で、これらのペプチドがWT1特異的かつHLA拘束性のCTLを誘導し得ることが示された。

臨床で使用するには、動物実験などでの更なる検証が必要であるが、本研究により、癌ワクチンの適応患者の拡大や治療成績の向上が期待され、学位に値するものと認める。