

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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏 名 **ます だ とも き**
升 田 知 機

博士の専攻分野の名称 **博 士 (医 学)**

学 位 記 番 号 **第 1 8 4 8 0 号**

学 位 授 与 年 月 日 **平 成 1 6 年 3 月 2 5 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 謙 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ィ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; DLNALLPAY, 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 を持つ健康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。