The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	WT1 peptide vaccination combined with BCG-CWS is more efficient for tumor eradication than WT1 peptide vaccination alone
Author(s)	中島, 博子
Citation	大阪大学, 2004, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/45363
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

【13】

氏　　名	中島博子（なかじま ひろこ）
博士の専攻分野の名称	博　士（保健学）
学位記番号	第　18569　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 医学系研究科保健学専攻
学位論文名	WT1 peptide vaccination combined with BCG-CWS is more efficient for tumor eradication than WT1 peptide vaccination alone （WT1ペプチドとBCG-CWSの併用投与による腫瘍拒絶能の増強）
論文審査委員	（主査） 教　授　杉山　治夫 （副査） 教　授　松浦　成昭　　教　授　岩谷　良則

論文内容の要旨

［目　的］

ウィルムス腫瘍遺伝子 *WT1* はほとんどの白血病や多くの固形癌で高発現しており、*WT1* 遺伝子産物が腫瘍特異的免疫療法の標的となりうる事は、ヒトの *in vitro* およびマウスの *in vivo* 実験系で示されている。

後者ではWT1ペプチドやWT1 cDNAで免疫されたマウスがWT1発現腫瘍を拒絶できる事は「予防」モデルにおいて、つまり、免疫マウスに後から腫瘍を移植する系で証明されてきた。今回の研究は、WT1ペプチドワクチンと、樹状細胞（dendritic cells；DC）の活性化によりinnate immunityを増強する働きを有するBCG-CWSを併用投与する事により、WT1ペプチドワクチンの腫瘍拒絶能が増強され、WT1ペプチドワクチンが腫瘍の「治療」に有効となるか否かを検証する、すなわちWT1ペプチドワクチンを用いた癌の免疫療法のマウス治療モデル（腫瘍を移植した後にワクチンを投与する）を作成する事を目的とする。

［方　法］

1．腫瘍拒絶能の評価

C57BL/6（H-2D^b）マウスにWT1発現白血病細胞 5×10^5 個を腹腔内に、または肺癌細胞 5×10^4 個を皮下に接種した（day0）。day1,8,15および22にBCG-CWS 100μgを、day2,9,16および23（つまり、BCG-CWS投与の翌日）にWT1ペプチド（Db126；a.a.126-134 RMFPNAPYL）100μgをBCG-CWSと同一部位に皮内接種した。これをBCG-CWSとWT1ペプチドの併用投与群とし、対照群として、BCG-CWS単独投与群、WT1ペプチド単独投与群および無処置群を置いた。腫瘍拒絶能は腫瘍の経時的な増殖度および無病生存率で評価した。

2．WT1ペプチドワクチンによるWT1特異的CTLの誘導

BCG-CWSを併用投与したWT1ペプチドワクチンによるWT1特異的CTLの誘導は、WT1ペプチドとBCG-CWSの併用投与群で腫瘍を拒絶したマウスの脾細胞のWT1発現腫瘍細胞に対する細胞傷害活性を ^{51}Cr release cytotoxity assayにて測定する事により確認した。

3．WT1ペプチドワクチンによるWT1発現正常細胞の傷害の有無

BCG-CWSを併用投与したWT1ペプチドワクチンによるWT1発現正常組織の傷害の有無を、腫瘍を拒絶したマ

ウスの骨髄、腎臓、心臓、胸腺、精巣および肺について病理組織学的に検討した。また、骨髄細胞を用いた colony assay を実施し、造血能も併せて評価した。

［成　績］

1．WT1 ペプチドワクチンと BCG-CWS の併用投与による腫瘍拒絶能の増強

白血病モデル、固形癌モデルのいずれにおいても、BCG-CWS と WT1 ペプチド併用投与群が、他のいずれの対照群に比べて腫瘍の増殖を抑制し、かつ最も高率に腫瘍を拒絶した。

BCG-CWS と WT1 ペプチド併用投与群の白血病モデルでの day65、固形癌モデルでの day131 における無病生存率はそれぞれ、31%、30%で、対照群のそれら（白血病モデル：全ての対照群 0%、固形癌モデル：BCG-CWS 単独投与群 10%、WT1 ペプチド単独投与群 0%、無処置群 10%）に比べ有意に高かった。

2．WT1 ペプチドワクチン投与マウスにおける WT1 特異的 CTL の誘導

WT1 ペプチドワクチンと BCG-CWS の併用投与により腫瘍を拒絶し得たマウスでは、WT1 特異的 CTL が誘導されている事が確認された。ワクチン投与により誘導された WT1 特異的 CTL が WT1 発現腫瘍の拒絶に大きく関与している事が示された。

3．WT1 ペプチドワクチンによる WT1 発現正常細胞に対する傷害性の欠除

WT1 ペプチドワクチンと BCG-CWS の併用投与により腫瘍を拒絶したマウスにおいて、WT1 発現正常組織には病理学的に組織破壊像や CTL の浸潤像は見られず、また骨髄造血細胞のコロニー形成能の低下も観察されなかった。これは WT1 ペプチドワクチンと BCG-CWS の併用投与により誘導された WT1 特異的 CTL は WT1 発現腫瘍細胞を攻撃し拒絶するが、WT1 発現正常細胞は攻撃しない事を意味する。

［総　括］

BCG-CWS を併用投与した WT1 ペプチドワクチンは、WT1 ペプチドワクチン単独投与や BCG-CWS 単独投与よりも腫瘍拒絶により有効である事が示された。これは BCG-CWS により innate immunity が活性化されるだけでなく、BCG-CWS により活性化された DC（その細胞表面の MHC class Ⅰ分子には WT1 ペプチドが結合する）が強力な WT1 特異的 CTL を誘導し、つまり、acquired immunity を活性化し、この両者（innate immunity と acquired immunity）が腫瘍細胞に対する強い傷害活性をもたらしたと考えられる。

BCG-CWS を併用した WT1 ペプチドワクチンは、実際の臨床の場での癌の免疫療法に有用である事が期待される。

論文審査の結果の要旨

ウィルムス腫瘍遺伝子 *WT1* はほとんどの白血病やほとんど全ての固形癌で高発現しており、WT1 遺伝子産物が腫瘍特異的免疫療法の標的となりうる事は、ヒトの *in vitro* およびマウスの *in vivo* 実験系で示されている。

本論文は、BCG-CWS を投与した 1 日後に WT1 ペプチドワクチンを同一部位に投与する併用法が、innate immunity を活性化するだけでなく、BCG-CWS により活性化された樹状細胞が強力な WT1 特異的 CTL を誘導し、その結果、WT1 ペプチドワクチン単独投与や BCG-CWS 単独投与よりも、より有効に腫瘍拒絶に働く事を、マウスの治療モデルを作成し証明したものである。

本研究は、癌の免疫療法の新しい展開に寄与するものであり、博士（保健学）の学位授与に値するものと考える。