

Title	WT1特異的CD4+ヘルパーT細胞を活性化できるHLA-class II 拘束性WT1ペプチドの同定とそのWT1特異的細胞傷害性T細胞に対する影響
Author(s)	藤木, 文博
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47563">https://hdl.handle.net/11094/47563</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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	藤 木 文 博
博士の専攻分野の名称	博 士 (保健学)
学位記番号	第 21027 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 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 特異的 CD4 <sup>+</sup> ヘルパー T 細胞を活性化できる HLA-class II 拘束性 WT1 ペプチドの同定とその WT1 特異的細胞傷害性 T 細胞に対する影響
論文審査委員	(主査) 教 授 杉山 治夫 (副査) 教 授 岩谷 良則 教 授 山本 容正

#### 論 文 内 容 の 要 旨

##### 〔目的〕

現在我々は、癌抗原である WT1 (Wilms' tumor gene) 遺伝子産物を標的とした WT1 ペプチド癌ワクチンの臨床試験を実施している。本研究では、この癌ワクチンの効果をさらに増強するために必要と考えられる CD4<sup>+</sup> ヘルパー T 細胞を誘導できる WT1 タンパク由来 HLA-class II 拘束性ペプチドの同定とそのワクチンとしての有用性の検討を目的とした。

##### 〔方法ならびに成績〕

日本人に高頻度で見られる HLA class II 分子である HLA-DRB1\*0405 に着目し、ヒト WT1 タンパクの全アミノ酸配列中からアンカーモチーフをもとに 3 種類の候補ペプチドを作製した。これらのペプチドをパルスした樹状細胞 (DC) 用いて健常人の末梢血単核球からえられた CD4<sup>+</sup> T 細胞を刺激し、その後、その CD4<sup>+</sup> T 細胞のペプチド特異的な反応を解析した。

1. 3 種類のペプチドのうち、WT1<sub>332</sub> (KRYFKLSHLQMHSRKH) のみがペプチド特異的な増殖反応を示す CD4<sup>+</sup> T 細胞を誘導できた。その後、limiting dilution により CD4<sup>+</sup> T 細胞クローン、E04.1 を樹立した。この E04.1 は WT1<sub>332</sub> を特異的に認識し増殖反応を示した。また、その WT1<sub>332</sub> の認識は HLA-DRB1\*0405 拘束性であった。
2. E04.1 は WT1<sub>332</sub> 特異的に IL-4、IL-5 ではなく IFN- $\gamma$  を産生する Th1-type CD4<sup>+</sup> ヘルパー T 細胞であった。また複数の健常人から得られた CD4<sup>+</sup> T 細胞を同じように刺激すると、やはり WT1<sub>332</sub> 特異的に IL-4、IL-5 ではなく IFN- $\gamma$  を産生する Th1-type CD4<sup>+</sup> ヘルパー T 細胞であった。このことから WT1<sub>332</sub> は Th1-type ヘルパー T 細胞を誘導しやすいペプチドであることが示唆された。
3. E04.1 は WT1 を内因性に発現する腫瘍細胞を認識することができた。さらに、E04.1 はアポトーシスを誘導された WT1 を発現する腫瘍細胞を貪食した DC によって活性化された。これらの結果より、WT1<sub>332</sub> は細胞内で自然に processing をうけて細胞表面に DRB1\*0405 分子とともに提示されるペプチド、つまり natural epitope であることがわかった。
4. *in vitro* で PBMC を WT1 タンパク由来の CTL エピトープ (WT1<sub>235</sub>) で刺激する際に、WT1<sub>332</sub> やその刺激

で誘導された CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を加えると WT1<sub>235</sub> 特異的 CTL の誘導・活性化が顕著に増強した。

〔総括〕

WT1 特異的 CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を誘導できる HLA-DRB1\*0405 拘束性ペプチド WT1<sub>332</sub> をはじめて同定した。また、この WT1<sub>332</sub> は細胞内で自然に processing を受けて産生される natural epitope であった。それに加え、WT1<sub>332</sub> は抗腫瘍免疫反応に有利に働く Th1-type CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を誘導しやすいものであると考えられた。実際、*in vitro* で WT1 特異的 CTL を誘導する際、WT1<sub>332</sub> や WT1<sub>332</sub> 特異的 CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を加えると、CTL の誘導・活性化が顕著に増強された。以上の結果より、今回同定された WT1<sub>332</sub> を現在進行中の WT1 特異的 CTL を誘導できるペプチドを用いた癌ワクチンに加えることで、癌ワクチンの効果を増強することが期待できる。

### 論文審査の結果の要旨

近年、数多くの癌抗原が同定されるようになり、それらを標的とした癌免疫療法の臨床試験・トランスレーショナルリサーチが世界中で行われている。しかしながら、それらの多くは CD8<sup>+</sup> 細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導・活性化にのみ重点をおき、理想的な免疫反応に重要な CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞についての報告は未だ乏しい。実際、我々も WT1 特異的 CTL を誘導できる WT1 ペプチドを用いた癌ワクチン療法を現在進行しているが、癌ワクチンの効果増強のため、さらには包括的な抗腫瘍免疫反応の解析のために WT1 特異的 CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を誘導できる HLA class II 拘束性ペプチドの同定が求められた。

本研究では、WT1 特異的 CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を誘導できる HLA-DRB1\*0405 拘束性ペプチド WT1<sub>332</sub> (KRYFKLSHLQMHSRKH) をはじめて同定し、その有用性について検討した。その結果、同定された WT1<sub>332</sub> は生体内で免疫反応を誘起できる natural epitope であり、こう腫瘍免疫反応に有利に働く Th1-type CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を誘導・活性化しやすいものであることが示唆された。実際、この WT1<sub>332</sub> や WT1<sub>332</sub> 特異的 CD4<sup>+</sup> ヘルパーT 細胞を用いることによって *in vitro* で WT1 特異的 CTL を誘導・活性化を増強できることを示している。

以上の結果は将来の新しい癌ワクチンの開発や今まで未知であった担癌患者、もしくは被癌ワクチン投与患者の包括的な抗腫瘍免疫反応の解析法の開発に発展すると考えられ、医学的・社会的に大きく貢献できるものである。よって、本論文は、博士 (保健学) を授与するに値すると認める。