

Title	Immunotherapy of Murine Colon Cancer Using Receptor Tyrosine Kinase EphA2-derived Peptide-pulsed Dendritic Cell Vaccines
Author(s)	山口, 真二郎
Citation	大阪大学, 2008, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/49051">https://hdl.handle.net/11094/49051</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	やまぐち しんじろう 山 口 真 二 郎
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学位記番号	第 2 1 8 7 2 号
学位授与年月日	平成 20 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科未来医療開発専攻
学位論文名	Immunotherapy of Murine Colon Cancer Using Receptor Tyrosine Kinase EphA2-derived Peptide-pulsed Dendritic Cell Vaccines. (マウス大腸癌に対するチロシンキナーゼレセプターEphA2 由来ペプチドを用いた樹状細胞による免疫療法の有用性)
論文審査委員	(主査) 教授 林 紀夫  (副査) 教授 川瀬 一郎 教授 金倉 譲

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 【目的】

進行大腸癌は、各種治療法（手術、化学療法、放射線療法）の進歩により治療成績の向上が見られているが、依然として予後不良である。近年、樹状細胞（DC）による癌免疫治療は新たな治療法として期待されており、CEAを用いた DC 療法などが臨床応用されているが、いまだ十分な結果ではない。Tyrosine kinase family の一つである Erythropoietin-producing hepatocellular receptor A2 (EphA2) は大腸癌、食道癌、腎癌、肺癌、乳癌、卵巣癌、メラノーマなど様々な種類の進行癌で発現が亢進しており、新規癌抗原として期待されている。我々はピッツバーグ大学との共同研究にて EphA2 由来のペプチドを同定しており、今回マウス大腸癌細胞皮下腫瘍に対する EphA2 由来ペプチドを用いた DC ワクチン療法の有用性について検討した。

#### 【方法ならびに成績】

C57/BL6 マウスから採取した骨髓細胞に interleukin-4 (IL-4) と granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) を加え、9日間培養した。Flow cytometry にて co-stimulatory molecule (CD40、80、86)、MHC class II の発現にて、成熟 DC であることを確認した。さらに、その DC に EphA2 由来ペプチドを添加し、2時間培養し、EphA2 derived peptide-pulsed DC (Eph-DC) を作成した。C57/BL6 マウスに Eph-DC を投与し、EphA2 特異的 CTL の誘導を IFN $\gamma$  の ELISPOT 法にて評価したところ、unpulsed DC 群、PBS 群に比し、Eph-DC 群で有意に EphA2 特異的 CTL が誘導されていた。次に、Western blotting 法で EphA2 の発現を確認した大腸癌細胞株 MC38 と EphA2 の発現していないメラノーマ細胞株 BL6 をそれぞれ C57/BL6 マウスに皮下接種し、Eph-DC ワクチンの抗腫瘍効果を検討した。MC38 皮下腫瘍に対しては、Eph-DC 群は、unpulsed DC 群、PBS 群に比して有意に強い抗腫瘍効果を示し、腫瘍の形成はほぼ抑制されていたが、BL6 皮下腫瘍に対しては Eph-DC 群と unpulsed DC 群の 2 群間に差は認めなかった。Eph-DC による治療 2 週間後の脾細胞を用いて、<sup>51</sup>Cr リリース法にて腫瘍特異的 CTL の誘導を検討した。Eph-DC 群では unpulsed DC 群、PBS 群に比して有意に細胞障害活性の高い CD8<sup>+</sup> CTL の誘導が確認された。また、Eph-DC ワクチンによる抗腫瘍効果における NK 細胞、T 細胞の関与を解析する目的で、抗アシアロ GM1 抗体、抗 CD4 及び CD8 抗体を用いてそれぞれを除去し Eph-DC ワクチンの抗腫瘍効果を検討したとこ

る、NK細胞ではなく、CD4<sup>+</sup> 及び CD8<sup>+</sup> T細胞が主に腫瘍細胞排除に関与していた。更に、Eph-DCによるMC38皮下腫瘍に対する治療6週間後に、別の部位に同腫瘍細胞を皮下接種し、抗腫瘍効果の持続を検討したところ、治療6週間後に接種した皮下腫瘍に対してもEph-DCワクチンの抗腫瘍効果は維持されていた。

#### 【総括】

本研究において、大腸癌皮下腫瘍に対する新規癌抗原 EphA2 由来ペプチドを用いた DC ワクチン療法の有用性が示唆された。以上の結果より、大腸癌の進行に伴い発現が亢進してくるという特徴を持つ EphA2 を標的とした免疫治療は、既存の DC ワクチン治療に新たな選択肢を増やすことになり、今後の臨床応用が期待される。

### 論文審査の結果の要旨

近年、進行大腸癌に対して、CEA や MAGE3 などの癌抗原由来のペプチドを用いた免疫治療が臨床応用されているが、今のところ期待されたほどの結果ではない。そこで、大腸癌の進行に伴い発現が亢進してくるという特徴を持つ新規癌抗原である EphA2 由来ペプチドを我々は同定し、マウス大腸癌皮下腫瘍モデルに対する EphA2 由来ペプチドを用いた樹状細胞 (Eph-DC) 療法の有用性を検討した。Eph-DC によるワクチンは、大腸癌皮下腫瘍に対して有意に抗腫瘍効果を認め、大腸癌に対する新規癌抗原 EphA2 由来ペプチドを用いた DC ワクチン療法の有用性が示された。

以上の結果は大腸癌に対する新たな癌免疫治療の選択肢を増やすことになり、今後の臨床応用が期待される。現在まで EphA2 による癌免疫治療の報告は少なく、学位の授与に値するものと考えられる。