

Title	Pancreatic cancer immunotherapy using a tumor lysate vaccine, engineered to express α -gal epitopes, targets pancreatic cancer stem cells
Author(s)	谷田, 司
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51889
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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 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

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	谷田 司
論文題名 Title	Pancreatic cancer immunotherapy using a tumor lysate vaccine, engineered to express α -gal epitopes, targets pancreatic cancer stem cells (異種糖鎖抗原 α -gal epitopes発現膵癌腫瘍片を応用した膵癌幹細胞に対する新しい免疫療法の開発)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 膵癌は、消化器癌の中で最も予後不良な難治性癌である。現在、膵癌補助療法の一つとしてMucin1 (MUC1)などを標的分子とした膵癌免疫療法の臨床研究が進められているが、ワクチンとして投与する癌抗原自身の抗原性が低い点や、癌末期の担癌患者ではワクチンによる抗体産生能や細胞障害性T細胞の機能が低下している等の問題点があり臨床的有効性はいまだ確認されていない。われわれはブタからヒトへの異種移植においてみられる超急性拒絶反応を応用した新しい癌ワクチン療法を提案し、その臨床応用への可能性を検討している。この超急性拒絶反応のメカニズムは、ブタ細胞に多量に発現している異種糖鎖抗原α-gal epitopes(Galα1, 3Galβ1, 4GlcNAc-R) とこのエピトープを特異的に認識するヒト自然抗体：抗α-Gal抗体(Anti-Gal)との激しい抗原抗体反応である。α-gal epitopesはα1,3ガラクトース糖転移酵素(α1,3GT)により生合成されるタンパクおよび脂質糖鎖の末端構造である。α-gal epitopesは哺乳類で通常、発現しているが、ヒト、旧世界ザルではα1,3GT遺伝子は偽遺伝子となっており、酵素活性は失活しα-gal epitopesを生合成できない。その代わりにα-gal epitopes を認識する自然抗体Anti-Galを多量に産生する(循環IgGの約1%)。われわれはこの強力な免疫反応を膵癌免疫療法に応用することに着目し、ヒト膵癌細胞の癌抗原タンパク：MUC1の糖鎖末端にα-gal epitopesを発現させ、癌ワクチンとして投与することでAnti-Galとの免疫反応を介し、従来のMUC1ワクチンより効率的に抗腫瘍免疫を誘導できることを報告した (Cancer Research 2010)。今回、多数の癌抗原を含む膵癌腫瘍片(tumor lysate)をワクチンマテリアルとし、そのtumor lysateにα-gal epitopesを発現させたα-gal tumor lysateを作成し、強力な抗腫瘍免疫を惹起できるかを解析した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 癌抗原MUC1を発現するヒト膵癌細胞株parental PANC1 およびα-gal epitopesを発現するα-gal PANC1をNOD/SCIDマウスに皮下注射し膵癌腫瘍を作成、ホモジナイザーでtumor lysateとした。一方、ヒトと同レベルのanti-Gal抗体価を有するα1,3GTノックアウトマウス(KO mice)にparental PANC1(control群)、α-gal PANC1(α-gal tumor群)のtumor lysateを10 mg/ip$\times$5回投与し、抗腫瘍効果を比較した。 ELISAにて抗PANC1抗体はα-gal tumor群でcontrol群に比し16-64倍強く誘導され、MUC1抗体でも16倍強く誘導できた。さらにELISPOTにてα-gal tumor群では抗MUC1抗体産生B細胞は2.2倍、MUC1特異的CTLは3.5倍強く誘導された。抗腫瘍免疫反応が膵癌特異的であるか否かをCarboxy fluorescein Succinimide Ester (CFSE) assayで解析すると、MUC1 peptide、PANC1 tumor lysateの刺激に対してのみリンパ球分化誘導反応を認め、その強さはα-gal tumor群で有意に強かった。<i>In vivo</i>ではワクチン化したKO miceのsplenocytes 3×10^7個/ip$\times$3回にてNOD/SCIDマウスにadoptive transferし、parental PANC1細胞を皮下注射した。また、これまでの研究で有効としたPANC1 cell/ip$\times$5回のα-gal PANC1 whole cell ワクチン(α-gal cell 群)との比較も行った。その結果、α-gal cell 群、α-gal tumor群はcontrol群に比し、α-gal tumor群はα-gal cell 群に比し腫瘍増大抑制効果と生存期間の有意な延長を認めた[control群; 48.0 ± 6.7日 vs α-gal cell群; 57.0 ± 12.6日 ($p=0.0077$), control群 vs α-gal tumor群; 82.5 ± 21.9日 ($p<0.0001$), α-gal cell群 vs α-gal tumor 群($p=0.010$)。さらに膵癌の癌幹細胞分画としてCD44⁺CD24⁺ PANC1 細胞を皮下注射した。その結果、α-gal cell 群はcontrol群に比し腫瘍抑制効果が見られなかったが、α-gal tumor群では腫瘍形成は完全抑制でき、control群、α-gal cell 群に比し生存期間も有意に延長できた[control群; 49.3 ± 14.3日 vs α-gal cell群; 60.0 ± 16.8日(NS), control群 vs α-gal tumor群; 85.0 ± 20.8日($p=0.0002$), α-gal cell 群 vs α-gal tumor 群($p=0.018$)。] 〔総括(Conclusion)〕 α-gal epitopesを生合成しブタ型糖鎖に改変したtumor lysateを応用した膵癌免疫療法は、分化した膵癌細胞、膵癌幹細胞の両者を制御できた。今後は、ヒト膵癌切除標本をワクチンマテリアルとしα1,3GT酵素を用いてα-gal tumor lysateを生合成し、その有効性を検証し、臨床応用への可能性を探索していく。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 谷田 司	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 土岐 祐 郎
	副 査 大阪大学教授 石井 香 始
	副 査 大阪大学教授 奥村 明之 達
論文審査の結果の要旨	
膵癌は消化器癌の中で最も予後不良な癌の一つであり、免疫療法の臨床的有効性も明らかではない。我々はα1,3ガラクトース糖転移酵素遺伝子を導入し、α-gal epitopesを発現させた膵癌腫瘍片(α-gal tumor lysate)を作成した。α-gal epitopesを発現させることで腫瘍の抗原性は向上し、ワクチンによりheterogeneousで悪性度の高い膵癌をより効果的に制御できると考えた。結果、α-gal tumor lysateを用いた膵癌免疫療法は、分化した膵癌細胞、膵癌幹細胞の両者を制御できた。α-gal epitopesを発現させた膵癌腫瘍片を用いた免疫療法で得られた知見は今後の臨床応用に向けて大変意義深く、本研究内容は学位授与に値するものとする。	