



Title	Two distinct effector memory cell populations of WT1(Wilms' tumor gene 1)-specific cytotoxic T lymphocytes in acute myeloid leukemia patients
Author(s)	中江, 吉希
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51990
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 〈/a〉 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	中江 吉希
論文題名 Title	Two distinct effector memory cell populations of WT1 (Wilms' tumor gene 1) -specific cytotoxic T lymphocytes in acute myeloid leukemia patients (急性骨髄性白血病患者のWT1特異的細胞障害性T細胞のeffector memory分画は二つに分類される)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>WT1タンパクは、癌遺伝子であること、汎腫瘍抗原であること、強い免疫原性があることから抗原特異的癌免疫療法の標的として期待される。我々は2001年よりWT1ペプチドワクチンを用いた医師主導型臨床試験を開始し、これまでに750例以上の担癌患者に投与を行っている。これら患者において臨床効果が得られた例と乏しい例が存在し、これらを見分けること（特にワクチン投与前において）が急務と考えられる。過去の研究より進行期膀胱癌患者に対してWT1ペプチドワクチンを投与した場合、末梢血にWT1特異的CTL（WT1テトラマー陽性CD8T細胞）が豊富であることと、これら細胞のmemory分画が高頻度であることが長期生存群で認められた。</p> <p>本研究では、血液学的寛解期の急性骨髄性白血病患者を対象としてWT1ペプチドワクチン投与による免疫動態の変化を継時的に観測し臨床効果との関連を検討した。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>WT1ペプチドワクチン（週1回もしくは週2回皮下投与）臨床試験に参加した血液学的寛解期の急性骨髄性白血病患者9名（responder5名、non-responder4名）の末梢血サンプルを用いた。このサンプルはワクチン投与前、投与1か月後、投与3か月後時点のものを使用した。WT1特異的CTLの頻度、これら細胞のphenotypeの比較、effector memory分画細胞のsingle cell levelでの83種類の遺伝子各々の発現について検討を行った。PhenotypeはCD45RA、CCR7の発現により定義（naïve: CD45RA+, CCR7+, central memory: CD45RA-, CCR7+, effector memory: CD45RA-, CCR7-, terminal effector: CD45RA+, CCR7-）した。実験方法はFACS Aria®を用いて検討およびsingle cell sortを行い、採取した細胞の遺伝子発現はBiomark®を用いて検討を行った。また得られた遺伝子発現の結果は、Jmp10®を用いてクラスター解析、主成分分析を行い、TargetMine®を用いてGene Ontology解析を行った。</p> <p>過去の膀胱がんでの報告とは異なり、WT1特異的CTLの頻度およびphenotypeについては、responderとnon-responderでは差を認められなかった。一方、各々の患者由来のWT1特異的CTL effector memory分画細胞のsingle cell levelでの遺伝子発現は、明らかに2つのグループに分類されることが明らかとなった。これら2つのグループ（Group A、Group B）はワクチン投与前においてresponderとnon-responderとは合致しなかった。しかし、各患者における継時的な変化を比較すると、responderはGroup B、non-responderはGroup Aに属することが明らかとなった。</p> <p>これらGroup AとGroup Bの生物学的な意義を検討するために、各々のGroupに寄与する割合の高い遺伝子を抽出した後に、これらを用いてGene Ontology解析を行った。この結果よりGroup A（non-responderパターン）は活性化しており細胞移動が活発に行われている（activated state）ことが示唆され、Group B（responderパターン）はオートファジーやタンパク分解が行われている（quiescent state）ことが示唆された。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>WT1 特異的CTL effector memory分画は遺伝子発現パターンにより2つに分類できた。これらはGene ontology解析よりactivated state、quiescent stateを反映していると推察され、臨床経過に伴い、WT1特異的CTL effector memory分画は、responderはquiescent stateへ、non-responderはactivated stateへと変化を認めた。WT1 特異的 CTLの頻度、分画、今回行ったWT1特異的CTL effector memoryの遺伝子発現パターンを用いても、ワクチン投与前に予後予測はできなかったが、急性骨髄性白血病の病勢変化に伴うWT1 特異的CTL effector memory分画の遺伝子発現変化を追うことができた。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 中江 吉希

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 熊 御 淳
	副 査	大阪大学教授 金 倉 護
	副 査	大阪大学教授 竹 田 潔

論文審査の結果の要旨

WT1ペプチドワクチンを用いた医師主導型臨床試験が既に当院で行われており、臨床効果が得られた例 (responder) と乏しい例 (non-responder) を早期に見分けることが急務である。本研究では血液学的寛解期の急性骨髄性白血病患者を対象としてWT1ペプチドワクチン投与による免疫動態の変化を継時的に観測し臨床効果との関連を検討した。WT1特異的細胞障害性T細胞の頻度およびphenotypeについては、responderとnon-responderでは差を認められなかった。しかし、WT1特異的細胞障害性T細胞effector memory分画細胞のsingle cell levelでの網羅的遺伝子発現結果より、この細胞分画は活性化している場合と静止している場合の2つに分類され、継時的に追うとresponderは静止、non-responderは活性化に最終的になると考えられた。抗原特異的細胞障害性T細胞のsingle cell levelでの網羅的遺伝子解析の報告は未だ乏しく、癌免疫の分野においては、本報告が初めてとなる。以上より、学位に値するものと認める。