



Title	Synthetic and Biological Studies on Tumor Vaccine Candidates Using α -Gal Epitope as an Adjuvant
Author(s)	李, 昊晟
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/54030
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、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

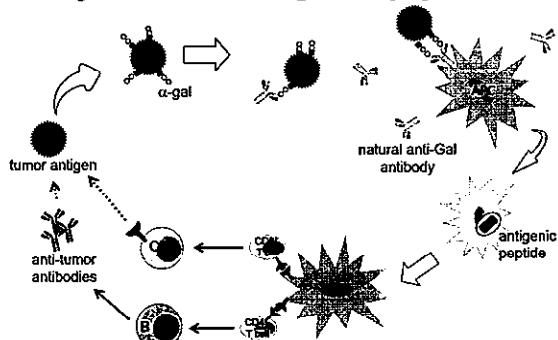
氏名 (李昊晟)

Synthetic and Biological Studies on Tumor Vaccine Candidates Using α -Gal Epitope as an Adjuvant

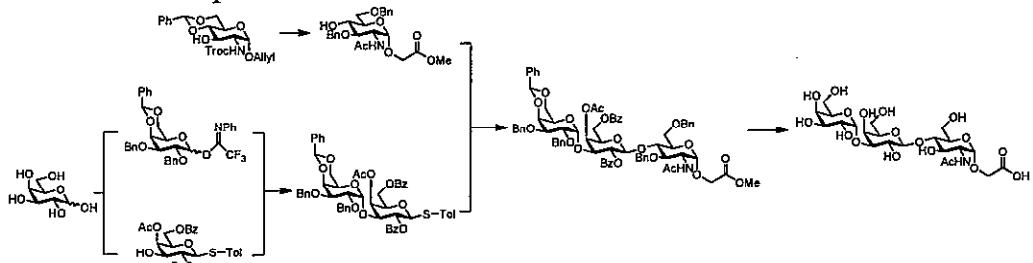
論文題名 (α -galエピトープをアジュバントとして用いた抗がんワクチン候補の合成及び生物活性研究)

論文内容の要旨

Immunotherapy is the use of human's immune system to treat cancer as a reason that tumor antigens expressed on tumor cells can induce anti-tumor immune response. However antigenicity of tumor antigens is weak. Enhancement of the immunogenicity of weakly immunogenic tumor antigens is a very important theme in exploration of anti-tumor vaccines with high efficiency. Promotion of the uptake of tumor antigens by APCs is one of the promising ways to increase the immunogenicity. The α -gal epitope therefore has attracted attention as a new-type of adjuvant, since α -gal-conjugated cells and proteins should be efficiently taken up by APC through anti-Gal/ α -gal interaction (Fig.1). However, bio-synthetic method, which utilized α 1,3GT to express α -gal epitopes on tumor cells, has the apparent limitation, since α -gal can be introduced to only cells and proteins expressing the precursor carbohydrate structures. On the other hand, chemical synthesis of α -gal epitope provides a versatile and promising strategy by conjugating α -gal with a variety of tumor antigens.

Fig.1 α -gal epitope as a vaccine adjuvantI. Synthetic studies of α -gal epitope

I developed an efficient synthetic route of α -gal trisaccharide (Fig.2). Compared to my previous work, total yield of α -gal epitope was greatly improved from 0.7% to 6.9%, and reaction steps was reduced from 19 to 13 as well. By using this route, α -gal with high purity can be prepared in large scale within a short period.

Fig.2 synthetic route of α -gal trisaccharide

II. Investigation of synthesis of α -gal conjugates

I developed an efficient method that can conjugate synthetic α -gal to various antigens (Fig.3). After conversion of α -gal to its NHS ester, the epitope can be readily conjugated to BSA under a mild buffer condition. Strategy of chemical conjugation also provides a possibility to control the amount of α -gal conjugated to an antigen, and a possibility to change the linker between α -gal and antigens as well.

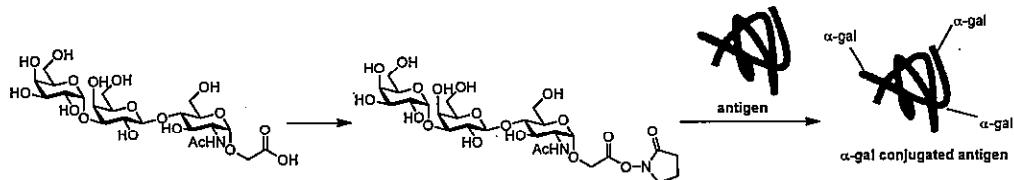


Fig.3 conjugation of α -gal to antigens

III. Biological studies of synthetic α -gal epitope

Biological investigations of synthetic α -gal were carried out to evaluate its effect as a vaccine adjuvant (Fig.4). In *in vitro* investigations, antigenicity of synthetic α -gal was confirmed with both monoclonal anti-Gal Abs M86 and natural anti-Gal Abs in the serum of α 1,3GT KO mice. In *in vivo* investigations, immunization with α -gal-BSA increased the production of anti-BSA Abs, showing that α -gal induced effective antigen presentation of BSA. However, vaccination of α -gal-PANC1 failed to increase the production of anti-PANC1 Abs. I hypothesized that it might be caused by a competition of antibody production of non-tumor-associated-antigen. On the other hand, vaccination of α -gal-MUC1 strongly induced the production of anti-MUC1Abs.

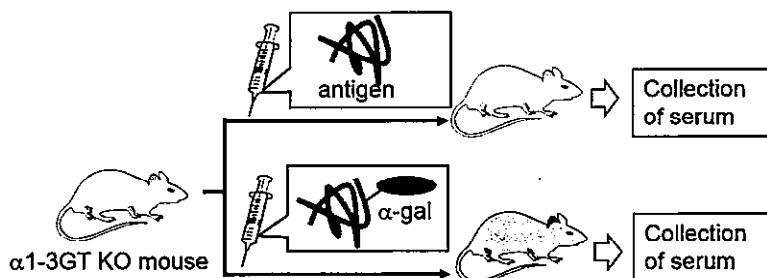


Fig.4 bio-investigation of synthetic α -gal

IV. Synthetic studies of other vaccine candidates with α -gal

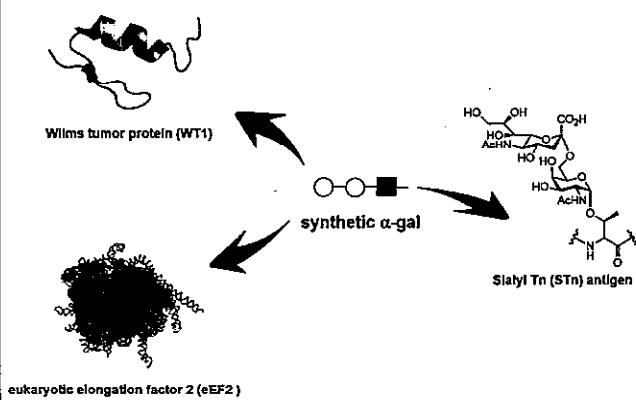


Fig.5 synthesis of vaccine candidates with α -gal

Using chemical conjugation, I synthesized a wide range of tumor vaccine candidates with synthetic α -gal (Fig.5). I conjugated α -gal to tumor-associated protein antigens (WT1, eEF2) and tumor-associated carbohydrate antigen (STn).

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名 (李昊晟)		氏名
論文審査担当者	(職)	
	主査	教授
	副査	教授
	副査	教授
		深瀬 浩一 加藤 修雄 梶原 康宏

論文審査の結果の要旨

李昊晟は、「 α -gal エピトープをアジュバントとして用いた抗がんワクチン候補の合成及び生物活性研究」と題した以下の研究を行った。

がんのワクチン療法は手術、抗がん剤、放射線療法の三大療法に続く、副作用の少ない第四の療法として期待されているが、標準的治療としては確立されていない。これは、全身状態不良のがん患者では免疫機能が低下していること、がんが免疫回避の機構を持っていることなどが原因である。そこで効果的ながんワクチンの開発のために、免疫細胞へのがん抗原の取り込みを促進させることにより、効率的な抗原提示を行う手法が考案されている。

本研究においては、自然抗体（抗 α -gal 抗体）とそのリガンド（ α -gal）との相互作用を利用する新手法の開発について検討した。 α -gal と呼ばれる三糖から成る糖鎖抗原は、多くの哺乳類で広く発現しているものの、ヒトはその合成酵素が変異を受けて失活しており、この糖鎖構造を持たない。その代わりに、ヒトは自然抗体として大量の抗 α -gal 抗体を有しており、その量はヒトの自然抗体の中で最も多い。これをを利用して、本研究では α -gal のアジュバント（ワクチンの抗原性を増強する化合物）としての利用を検討した。 α -gal とがん抗原の複合体を用い、抗 α -gal 抗体を介した抗原提示細胞への取り込みを促進することにより、がん抗原に対する免疫反応を賦活化するというものである。

まず、 α -gal 三糖の効率的な化学合成法を開発し、次にこの三糖をペプチド抗原やタンパク質抗原に導入する方法を確立し、種々の α -gal アジュバント-抗原複合体を合成した。得られた α -gal アジュバント-抗原複合体は抗 α -gal 抗体によって認識されることを示した後、 α -gal-ウシ血清アルブミン (BSA) ならびに完全化学合成した α -gal-がん抗原 MUC1 複合体を α -gal ノックアウトマウスに接種した。その結果 α -gal を導入することにより、接種した抗原に対する抗体の産生量が顕著に増加することを見出した。以上の結果は、 α -gal をアジュバントとして用いることにより、抗がんワクチンの効力が上がることを示すものであり、抗がんワクチンの実用化に向けた新しい試みとして評価できる。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。

