



Title	Biased usage of T cell receptor $\beta$ -chain variable region genes of Wilms' tumor gene (WT1)-specific CD8+ T cells in patients with solid tumors and healthy donors
Author(s)	森本, 創世子
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59068">https://hdl.handle.net/11094/59068</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">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">ご参照</a> ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名	もりもと 森本 創世子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第 25113 号
学位授与年月日	平成24年3月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科内科系臨床医学専攻
学位論文名	Biased usage of T cell receptor $\beta$ -chain variable region genes of Wilms' tumor gene (WT1)-specific CD8 <sup>+</sup> T cells in patients with solid tumors and healthy donors (固形癌患者及び健康人での癌抗原 WT1 特異的 CD8 <sup>+</sup> 細胞の T 細胞受容体 $\beta$ 鎖可変領域遺伝子ファミリーの偏り)
論文審査委員	(主査) 教授 熊ノ郷 淳 (副査) 教授 竹田 潔 教授 野口眞三郎

## 論文内容の要旨

## 〔 目 的 〕

WT1 (Wilms' tumor gene 1) 遺伝子産物であるWT1蛋白は多くの癌で高発現している、いわゆる癌抗原であり、拒癌患者ではWT1特異的CD8<sup>+</sup>T細胞が高頻度に検出される。そこで、癌免疫のメカニズムをより深く理解するために、癌細胞が細胞表面に提示する、HLA class I分子とWT1ペプチドの複合体を特異的に認識するWT1特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の免疫動態を調べることを目的とした。先行研究では、日本人に最も多いHLA-A\*2402に拘束性のWT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞に対する免疫学的解析が行われた。そして本研究では、異なるHLA-A class I型に対するWT1特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の免疫応答について調べるため、日本人では2番目に多く、また白人では最多のHLA class I型であるHLA-A\*0201に拘束性のWT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞について解析を行った。

## 〔 方法ならびに成績 〕

HLA-A\*0201陽性固形癌患者6名とHLA-A\*0201陽性健康人5名の末梢血を解析対象とした。WT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の検出、そしてその頻度や細胞表面抗原による分化段階の解析には、WT1<sub>126</sub>tetramerを用いたフローサイトメトリー法を行った。さらに、それらWT1<sub>126</sub>tetramer<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞をsingle cell RT-PCR法によって、1細胞レベルでT細胞受容体 $\beta$ 鎖可変領域遺伝子ファミリー (TCR-BV gene family) を解析した。

その結果、WT1<sub>126</sub>tetramer<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞の頻度に関しては、固形癌患者と健康人で明らかな差はなかった。しかし、それらは固形癌患者で有意に分化が進んだ状態であった。このように、分化段階は固形癌患者と健康人で明らかに異なっているにもかかわらず、それらがdominantに使用しているTCR-BV gene familyに関しては、固形癌患者と健康人の間で類似の偏りが認められた。

## 〔 総 括 〕

本研究より、特定のTCR-BV gene familyを持つWT1特異的CD8<sup>+</sup>T細胞が、健康時の癌に対する免疫監視に重要であり、またそれらは、癌発症後も腫瘍免疫において重要な役割を果たしていることが示唆された。さらに、先行研究で行った、HLA-A\*2402に拘束性のWT1<sub>126</sub>tetramer<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T細胞についての解析でも同様の結果であった。つまりこれらのことより、

HLA class Iの型に関係なく、特定のTCR-BV gene familyを持つ、健常時に癌に対して免疫監視を担う細胞が、病発症後も腫瘍免疫において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

Wilms' tumor gene 1 (*WT1*) 遺伝子産物であるWT1蛋白は、多くの癌で高発現しており、担癌患者ではWT1特異的CD8<sup>+</sup>T細胞が高頻度に検出される。先行研究において、日本人に最も多いHLA class I型であるHLA-A\*2402拘束性のWT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞に対する免疫学的解析が行われた。そこで本研究では、癌免疫のメカニズムをより深く理解するために、異なるHLA-A class I型に対するWT1特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の免疫応答を調べることを目的とし、日本人で2番目に多く、白人では最多のHLA class I型であるHLA-A\*0201拘束性のWT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞について免疫学的解析を行った。

固形癌患者と健常人の末梢血中単核球を用いての、WT1<sub>126</sub>tetramerによるフローサイトメトリー法では、WT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞の頻度に有意な差は認められなかったが、それらの分化段階は固形癌患者で有意に分化が進んだ状態であった。

さらに、WT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞のT細胞受容体β鎖可変領域遺伝子ファミリー (TCR-BV gene family) をsingle cell RT-PCR法を用いてT細胞レベルで解析した結果、固形癌患者と健常人で使用しているファミリーに類似の偏りが認められた。これは異なるHLA class I型について行われた先行研究と同様の結果であった。

以上の結果より、HLA class I型に関係なく、特定のTCR-BV gene familyを持つWT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞が健常時のみならず、発癌後も腫瘍免疫において重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

Single cell levelで固形癌患者を対象に、HLA-A\*0201拘束性WT1<sub>126</sub>特異的CD8<sup>+</sup>T細胞のTCR-BV gene familyを解析したのは本研究が初めてであり、その研究成果は博士（医学）の学位授与に値すると考えられる。