Osaka University Knowledge Archive

Title	Synthesis and functional studies of self-adjuvanting cancer vaccine containing B cell epitope derived from HER2
Author(s)	Feng, Qi
Citation	大阪大学, 2017, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/67106
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

Form 3

Abstract of Thesis

Name (Feng Qi)	
Title	Synthesis and functional studies of self-adjuvanting cancer vaccine containing B cell epitope derived from HER2 (HER2由来B細胞エピトープを含むアジュバント複合化がんワクチンの合成および機能研究)

Abstract of Thesis

The overexpression of HER2 is an important factor for the currency of breast cancer, which makes it become not only a popular target for passive immunotherapy, but also the main source of immunogenic peptide epitope for active immunotherapy (cancer vaccine). Linear peptide epitopes derived from HER2 protein can hardly induce a robust immune response for their inherent low immunogenicity. Self-adjuvanting strategy (Figure 1), which plays an important role in cancer vaccine design for the promotion of the uptake of tumor antigens by antigen presenting cells (APCs) *via* chemical conjugation of tumor antigens and adjuvants (e.g. TLRs agonist), can be used to enhance the immunogenicity of weakly immunogenic tumor antigens as well as break the immunosuppression of immune system.

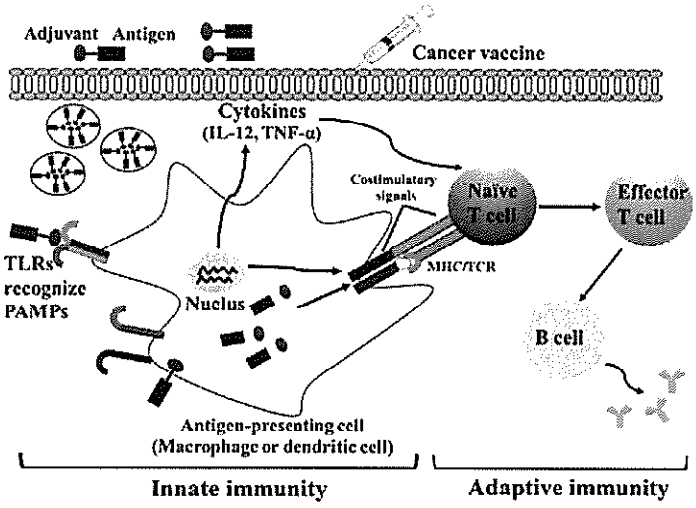

Figure 1. The mechanism of action of self-adjuvanting cancer vaccine

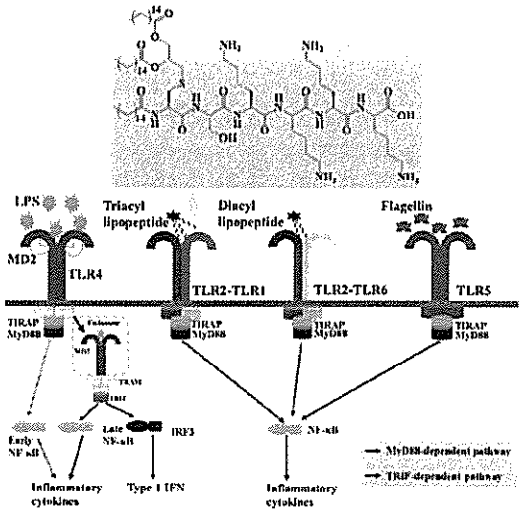

Figure 2. The structure of Pam_3CSK_4

Pam_3CSK_4 (Figure 2), a strong immune modulator that activate innate immune response *via* TLR2/1 heterodimers, can be used as a potential immunoadjuvant as well as has passed phase I/II clinical trials without side effects. A 9-mer peptide epitope was considered as a prioritized immunodominant peptide epitope of HER2 protein can be used as B cell epitope for cancer vaccine design. In previous studies, people developed linear cancer vaccine *via* the conjugation of B cell epitope with Pam_3CSK_4 or the multiplied antigen peptides conjugation with or without T cell epitope. In this thesis, the author firstly attempted to develop the two component cancer vaccine candidates by conjugating the 9aa peptide epitope and its tandem repeats to Pam_3CSK_4 through an oligo ethylene glycol linker as well as evaluated their immune potential (Figure 3).

Figure 3. Two-component cancer vaccine

Male balb/c mice were used for *in vivo* immunization with two-component vaccine candidates. The immunological evaluation was carried out by ELISA assay to investigate the production of anti-9aa antibodies in collected plasma. The results showed the conjugation of adjuvant with natural peptide epitope can induce a significant immune response as well as the conjugation of adjuvant with tandem repeats induced very weak immune response, which support the evidence for future cancer vaccine design. Moreover, it proved 9aa is a potential peptide epitope for future anti-HER2 cancer vaccine design.

様式 7

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　Feng Qi　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	深瀬　浩一
	副 査	教授	梶原　康宏
	副 査	教授	北條　裕信

論文審査の結果の要旨

Feng Qi 君は、乳がん等で高発現している HER2 をターゲットとした合成抗がんワクチンの合成とその活性について研究を行った。

HER2 は、細胞表面に存在する受容体型チロシンキナーゼの一種である。HER2 は細胞増殖、分化などの調節に関与し、多くのがんで高発現している。HER2 は抗体医薬のターゲットであり、例えば、Herceptin は、HER2 のドメイン IV を、Pertuzumab は、ドメイン II を認識し、それぞれ抗体医療に利用されている。近年、HER2 の細胞外ドメイン I に新しい B 細胞エピトープが見出され、バイオインフォマティックスの手法を用いてそこから 9 残基のペプチドが HLA-A2 に対する高い親和性を持つエピトープとして提唱された。そこで、Qi 君はこの配列を利用して合成ワクチンのデザインとその合成を行った。

まず、adjuvant となるリポペプチド (Pam3CSK4) と 9 残基のエピトープ配列を PEG リンカーにより結合した複合体をワクチン候補として合成した。またエピトープを 2 回、あるいは 3 回繰り返し配列を持つタンデムリピートとリポペプチドの複合体も合成した。リポペプチド部分は当研究室で確立したルートに従い合成し、ペプチドに関しては、固相法により合成を行った。脂質とペプチドとの結合の際には、溶解性の問題が生じ、NMP/DCM の系のみが目的物を与えることを明らかにした。ついで合成ワクチンをマウスに免疫し、ELISA により抗体価を評価した。その結果、9 残基のエピトープを adjuvant と結合したものは 9 残基のエピトープに対する抗体産生能が高かったのに対し、エピトープを 2-3 回繰り返したタンデムリピートは、9 残基のエピトープならびにタンデムリピートともに抗体産生能は低いことがわかった。さらに得られた抗体は、HER2 高発現細胞を認識することを示した。さらに T-cell エピトープをもつ 3 component ワクチンの合成も行った。

本研究において、Feng Qi 君はアジュバント-ペプチド抗原複合体の優れた合成手法を確立し、バイオインフォマティックスで見出されたエピトープが実際に抗がんワクチン候補として優れていること、PEG がリンカーとして優れていること、効率的に抗体を誘導するにはアジュバントと抗原を結合させることが必須であることなどを見出した。したがって、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。