

Title	Soluble HLA-associated peptide from PSF1 has a cancer vaccine potency
Author(s)	吉田, 真理
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/69452
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 吉田 真理		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 駒倉 輝幸
	副 査	大阪大学教授 原 英二
	副 査	大阪大学教授 岡田 雅人
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>がん組織において、がん細胞に分化する未分化能を有するがん幹細胞が存在すること、がん幹細胞が薬剤抵抗性を有し、がん治療後の再発に関与することなどが知られている。また、近年の研究で、胎児期の造血幹細胞に高発現するタンパク質であるpartner of sld five 1(PSF1)が、がん幹細胞においても高発現することなどが明らかとなった。以上の知見から、申請者らは、がん幹細胞を標的としたワクチン療法の開発を目的として、ワクチンに適したPSF1由来ペプチドの探索を行った。</p> <p>申請者は、質量分析装置を用いて可溶性ヒト白血球型抗原に捕捉されるPSF1由来ペプチドの探索を行い、がん抗原となり得るペプチド配列、PSF1₇₉₋₈₇ペプチドを決定した。次に、ヒト白血球型抗原発現マウスに対しPSF1₇₉₋₈₇ペプチドを投与し、マウスにおいて細胞傷害性T細胞(CTL)が誘導されることを確認した。さらに、健常人血漿から分離した末梢血単核細胞を用いて、ヒトにおいてもCTLが誘導されること、誘導したCTLが細胞傷害活性を有することを明らかとした。</p> <p>本研究は、PSF1₇₉₋₈₇ペプチドによる新規ワクチン療法の可能性を示唆しており、学位論文に値する研究と認める。</p>		

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	吉田 真理
論文題名 Title	Soluble HLA-associated peptide from PSF1 has a cancer vaccine potency (可溶性HLAに捕捉されたPSF1由来ペプチドはがんワクチンとなる可能性がある)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>正常組織の幹細胞同様、がん組織においても、未分化性を維持し、がん細胞に分化する能力を有するがん幹細胞が存在することが知られている。がん幹細胞は、薬剤抵抗性を有し、がん治療後の再発に関与することが明らかとなっている。これまでの研究より、PSF1(partner of sld five 1)は、胎児期の造血幹細胞では高発現し、休眠状態の骨髄の造血幹細胞では発現が低下することや、がん幹細胞のような悪性度の高いがん細胞において高発現であることなどが見出されている。酵母において、PSF1は、SLD5、PSF2、PSF3とともにGINSと呼ばれる複合体を形成し、DNA複製フォークで重要な働きをする分子である。また、造腫瘍能や転移形成能などのがん幹細胞様の性質との関連や、PSF1高発現細胞の多くが、CD31に染色される血管近傍に存在することなども報告されている。以上の知見から、PSF1はがんワクチンとして有望なターゲットであると考えられる。</p> <p>本研究では、悪性度の高いがんに対するワクチンの開発を目的に、ワクチンに適したPSF1由来ペプチドの探索を行った。また、同定されたペプチドのワクチンとしての可能性を検証するために、そのCTL誘導能を検証した。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>まず、可溶性ヒト白血球型抗原(sHLA)に捕捉されるPSF1由来ペプチドの探索を行った。sHLAおよびPSF1をヒト乳がんの1種であるMDA-MB-231細胞に一過性発現し、培養上清を回収した。続いて、免疫沈降によってsHLA-PSF1ペプチド複合体を回収した。この複合体より、PSF1ペプチドを遊離し精製した後、質量分析装置によりペプチド配列を決定した(PSF1₇₉₋₈₇ペプチド)。</p> <p>次に、CB6F1-Tg (HLA-A*02:01/H2-Kb)マウスに対しPSF1₇₉₋₈₇ペプチドを投与し、2週間後に脾臓を摘出しEnzyme-Linked ImmunoSpot (ELISPOT) assayのeffector細胞とした。PSF1₇₉₋₈₇ペプチドを提示したT2細胞をtarget細胞とし、ELISPOT assayを行った。その結果、ネガティブコントロールペプチドを添加した群と比較し、PSF1₇₉₋₈₇ペプチドを添加した群ではPSF1特異的なIFN-γ産生を認め (P<0.01)、PSF1₇₉₋₈₇ペプチド特異的なCTLが誘導されることを見出した。</p> <p>最後に、ヒト細胞傷害性T細胞(CTL)誘導実験を行った。HLA-A*02:01を有する健常人ボランティア血漿より末梢血単核細胞(PBMC)を回収した。PBMCよりCD14陽性細胞を単離し、単球由来樹状細胞(Mo-DC)へ分化誘導を行った。また、PBMCよりCD8陽性細胞を単離し抗原刺激を行い、Mo-DCと共培養しCTLを誘導した。誘導したCTLが細胞傷害活性を有するか検証するために、PSF1₇₉₋₈₇ペプチドに対するtetramerを作製し、細胞傷害性試験を実施した。その結果、共培養した細胞比率依存的に、PSF1₇₉₋₈₇ペプチド特異的なCTLによる細胞傷害活性が認められた (P<0.05)。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>本研究により、HLA-A*02:01陽性がん患者において、がん細胞を傷害しうるCTLの誘導が可能なPSF1₇₉₋₈₇ペプチドを見出した。PSF1₇₉₋₈₇ペプチドは、HLA-A*02:01陽性がん患者に対するワクチン療法を可能にすると考えられる。</p>	