



Title	Enhanced antitumor activity of a novel, oral, helper epitope-containing WT1 protein vaccine in a model of murine leukemia
Author(s)	皆川, 光
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92052
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

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	皆川 光
論文題名 Title	Enhanced antitumor activity of a novel, oral, helper epitope-containing WT1 protein vaccine in a model of murine leukemia (ヘルパーエピトープを含む新規WT1蛋白経口がんワクチンによる抗腫瘍活性の増強効果についてのマウス白血病モデルを用いた検討)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 Wilms腫瘍の原因遺伝子として単離された<i>WT1</i>遺伝子は、様々な遺伝子の転写を制御する転写因子をコードしており、白血病や固形腫瘍など多様な腫瘍で発現していることが知られている。その産物であるWT1蛋白を標的としたがん免疫療法は様々な腫瘍に対して有望視されており、これまでにWT1ペプチドワクチンが開発され皮下注射の形でその効果が検証されてきた。またWT1蛋白経口がんワクチンである<i>Bifidobacterium longum</i> (<i>B. longum</i>) 420は、WT1蛋白質のベクターとしてビフィズス菌を用いて、内服により細胞障害性Tリンパ球 (CTL) およびその他の免疫担当細胞からなる細胞性免疫を介して腸管粘膜下の免疫応答を誘発させる。これまでに動物実験において<i>B. longum</i> 420がマウス白血病細胞に対して抗腫瘍効果を発揮することが報告されているが、この経口ワクチンにはWT1特異的なTh1反応を引き起こすためのヘルパーエピトープ (WT1₃₅₋₅₂) を含んでいないことが問題点であった。そこで今回我々はヘルパーエピトープ (WT1₃₅₋₅₂) を含む新規のWT1経口ワクチン<i>B. longum</i> 2656を開発し、<i>B. longum</i> 420と併用投与することで、マウス白血病モデルにおいてCD4⁺T細胞ヘルプを介して抗腫瘍活性がさらに増強されるかどうかを検証した。	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 WT1を発現するように改変したマウス白血病細胞株であるC1498-murine WT1を腫瘍細胞として用いた。マウスは<i>B. longum</i> 420単独群、2656単独群、および420/2656併用群に割り付けられた。腫瘍の皮下接種日をday 0とし、day 8からワクチンの経口投与を開始した。腫瘍体積、末梢血および腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) のCD8⁺T細胞中のWT1特異的CTL割合とそのフェノタイプをフローサイトメトリー法を用いて経時的に測定した。また脾臓細胞とTILをWT1₃₅₋₅₂ペプチドで刺激し、WT1₃₅₋₅₂ペプチド特異的なINF-γを産生するCD3⁺CD4⁺T細胞の割合を測定した。 腫瘍体積はday 24に<i>B. longum</i> 420/2656併用群で<i>B. longum</i> 420群に比べ有意に小さかった ($p < 0.01$)。末梢血中のWT1特異的CTLの割合は、<i>B. longum</i> 420/2656併用群で<i>B. longum</i> 420群に比べ、4週目 ($p < 0.05$) および6週目 ($p < 0.01$) において有意に高かった。抗腫瘍効果と末梢血中のWT1特異的CTL割合の間には相関関係が見られた。末梢血中のWT1特異的エフェクターメモリーT細胞割合は、<i>B. longum</i> 420/2656併用群で<i>B. longum</i> 420群に比べ、4週目 ($p < 0.05$) および6週目 ($p < 0.05$) に有意に増加した。脾臓細胞中のWT1₃₅₋₅₂ペプチド特異的なINF-γ産生CD3⁺CD4⁺T細胞の割合は、<i>B. longum</i> 2656単独群および<i>B. longum</i> 420/2656併用群で<i>B. longum</i> 420群に比べ有意に増加した。TIL中CD8⁺T細胞におけるWT1特異的CTLの割合およびTIL中CD4⁺T細胞におけるINF-γ産生CD3⁺CD4⁺T細胞の割合は、<i>B. longum</i> 420/2656併用群で<i>B. longum</i> 420群に比べ有意に増加した。	
〔総 括(Conclusion)〕 マウス白血病モデルにおいて、<i>B. longum</i>をプラットフォームとしてがん抗原であるWT1蛋白を発現させたWT1経口がんワクチンである<i>B. longum</i> 420と<i>B. longum</i> 2656の併用投与では<i>B. longum</i> 420の単独投与と比較して強い抗腫瘍効果が認められた。<i>B. longum</i> 2656が有するCD4⁺T細胞ヘルプを通してWT1特異的CTL中のエフェクターメモリーT細胞の割合の増加と機能が強化され、結果として抗腫瘍効果の強いWT1特異的CTLが腫瘍へ到達して十分な抗腫瘍活性を発揮することが明らかとなった。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 皆川光				
論文審査担当者	(職)		氏 名	
	主 査	大阪大学教授	大 藺 東 一	署 名
	副 査	大阪大学教授	奥 山 宏 臣	署 名
	副 査	大阪大学教授	森 井 英 一	署 名
論文審査の結果の要旨				
WT1蛋白経口がんワクチンである<i>Bifidobacterium longum</i> (<i>B. longum</i>) 420は、WT1蛋白質のベクターとしてビフィズス菌を用いており、内服により腸管粘膜下の免疫応答を誘発させ抗腫瘍効果を発揮する。今回WT1特異的なTh1反応を引き起こすためのヘルパーエпитープ (WT1₃₅₋₅₂) を含む新規のWT1経口ワクチン<i>B. longum</i> 2656を開発し、<i>B. longum</i> 420と併用する実験を行った。マウス白血病モデルにおいて本2剤を併用投与した場合、<i>B. longum</i> 2656が有するCD4⁺T細胞ヘルプを通してWT1特異的CTL中のエフェクターメモリーT細胞の割合の増加と機能が強化され、結果として抗腫瘍効果の強いWT1特異的CTLが腫瘍へ到達してより高い抗腫瘍活性を発揮することが明らかとなった。本論文は学位に値するものと認める。				