

# 学位論文抄録

肺癌の免疫療法に有用な新規腫瘍関連抗原の同定と免疫学的解析  
(Identification and characterization of novel tumor-associated  
antigens useful for lung cancer immunotherapy)

富田 雄介

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻呼吸器病態学

指導教員

興梠 博次 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻呼吸器病態学

西村 泰治 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻免疫識別学

## 学位論文抄録

【目的】肺癌は最も予後不良な癌の一つであり、肺癌による死亡率は、本邦において悪性腫瘍の死亡原因の第一位である。手術、化学療法や放射線療法を中心とした治療が行われているが、進行癌に対しては治療が困難な例も多く、免疫療法を含めた新たな治療法の確立が望まれている。本研究は肺癌における新規の腫瘍関連抗原を同定し、抗腫瘍免疫応答を誘導する腫瘍免疫療法への応用の可能性を探ることを目的とする。

【方法】共同研究者である中村祐輔先生らにより行われたcDNAマイクロアレイ解析結果をもとに、新規腫瘍関連抗原候補の同定を行った。cDNAマイクロアレイ解析においては、まず肺癌症例の腫瘍組織からLaser Capture Microdissection system を用いて癌組織と正常肺組織を分離した。これらの組織を用いて27,648種類の遺伝子についてcDNAマイクロアレイ解析を行い癌部と非癌部での発現を比較し、非癌部と比較して癌部で高発現する遺伝子を2種類同定した。さらに、これらの遺伝子の21~25種類の成人正常組織および3~4種類の正常胎児組織における遺伝子発現をcDNAマイクロアレイ解析により検討し、正常組織における発現が低いことを確認した。その結果、cell division cycle 45-like (CDC45L) とinsulin-like growth factor-II mRNA binding protein 3 (IMP-3) を新規腫瘍関連抗原の候補とした。次に、そのアミノ酸配列を、BIMAS解析ソフトウェアを用いて解析し、HLA-A24 (A\*24:02)、もしくはHLA-A2 (A\*02:01) に対し、高い結合能を持つと予想される構造モチーフを有するペプチドを選択して合成した。これらのペプチドを数種類ずつ混合して、健常人の末梢血単核細胞 (PBMC)、あるいはHLA-A2 (HHD) トランスジェニックマウス (HLA-A2 Tgm) を用いてスクリーニングを行い、IFN- $\gamma$  ELISPOT法でペプチド特異的細胞傷害性T細胞 (CTL) の免疫応答を観察し、3~5種類のCTLエピトープ候補を決定した。これらのペプチドを健常人ならびに肺癌患者のPBMCから分離したCD14陽性細胞から誘導した樹状細胞 (DC) に負荷してCD8陽性細胞を1回刺激し、その後ペプチドを負荷したPHAblastで2回追加刺激を行い、IFN- $\gamma$  ELISPOT法、CD107a mobilization assay、およびCr放出試験で抗原特異的CTL応答の評価を行った。

【結果】cDNAマイクロアレイ解析により、CDC45Lは肺癌18例中16例、IMP-3は22例中17例に癌部において高発現しており、肺癌に高発現する新規腫瘍関連抗原としてCDC45LとIMP-3を同定した。これら2種類の肺癌関連抗原は、成人正常臓器においてほとんど発現を認めなかった。健常人のPBMCを用いたスクリーニングにより、HLA-A24拘束性ヒトCTLを誘導可能なCDC45L 由来エピトープ候補を5種類、HLA-A2 Tgmを用いたスクリーニングにより、HLA-A2拘束性マウスCTLを誘導可能なIMP-3由来エピトープ候補を3種類同定した。それぞれのペプチドを用い、健常人および肺癌患者のPBMCから、抗原特異的なHLA-A24もしくはA2拘束性CTLを誘導し、*in vitro*で抗原特異的かつHLA拘束性の細胞傷害活性を示すCTLを誘導できるCTLエピトープを、最終的にCDC45Lにおいて3種類、IMP-3において2種類同定した。さらに、誘導したCDC45L特異的ヒトCTLを、ヒト肺癌細胞株Lu99を移植した免疫不全マウスに養子免疫することにより、*in vivo*実験においても著明な抗腫瘍効果を示した。

【結論】肺癌に高発現する新規腫瘍関連抗原として、CDC45LとIMP-3を同定した。CDC45LおよびIMP-3由来のHLA-A24あるいはA2に結合能を有するCTLエピトープを同定し、これを用いて誘導したCTLは、*in vitro* および *in vivo* において、癌細胞株に対して抗原特異的かつHLA拘束性の細胞傷害活性を示した。以上より、CDC45LおよびIMP-3を標的とした抗腫瘍免疫療法が有用性である可能性が示された。