

報告書

平成13年度 丸木記念特別奨学研究費A 研究実績報告書

末梢血幹細胞移植併用化学療法を補完する進行卵巣癌に対する
新たな細胞治療

受賞者 大久保 光夫(埼玉医科大学総合医療センター 輸血・細胞治療部門)

共同研究者 竹田 省¹⁾, 前田 平生²⁾

本研究は①自己末梢血幹細胞移植: Peripheral blood stem cell transplantation (以下PBSCT) 併用化学療法, ②腫瘍抗原に反応するT細胞の認識するエピトープの検出法, ③合成ペプチドとサイトカインによるTh1細胞の*ex vivo*での活性化法を確立し, 進行卵巣癌に対する新たな細胞治療を計画する事を目的とした。ここに, 丸木記念特別奨学研究費を授与していただいたことに感謝し, 研究実績の概要を報告する。

我々は進行卵巣癌に対して, auto-PBSCTを併用したcarboplatin (AUC: 8.75) とetoposide (960 mg/m²)によるcyclic semi-high dose chemotherapyとこれらに引き続いてcytoreductive surgeryを63例に行った。このうち17例が5年間の経過観察期間に達した。その結果, overall response rate は70.6%, 5年生存率は52.9%と良好であった。(K. Ikeba, M. Okubo, S. Takeda, K. Kinoshita, H. Maeda. Five-year results of cyclic semi-high dose neoadjuvant chemotherapy supported by autologous peripheral blood stem-cell transplantation in patients with advanced ovarian cancer. Int. J. Clin. Oncol. 9: 113-119. 2004.) しかし, 22%の症例に再発が認められたことから, この療法を補う細胞治療の研究を行った。

従来のPBSCT療法ではCD34陽性細胞で代表される造血幹細胞のみが使われているに過ぎなかった。しかし, CD34陽性細胞動員療法で得られた末梢血単核球分画をCD3, CD4, CD8, CD14, CD19, CD25, CD45RO, CD45RAについてフローサイトメトリーで解析すると, 動員された末梢血単核球分画にはCD4陽性CD45RA陽性T細胞が多く含まれている事が明かとなった。この細胞群を活性化できれば, CD4陽性T細胞による抗原特異的な免疫反応の機構を利用した細胞療法が可能であると考えられた。

CD4陽性T細胞が認識する癌抗原のエピトープを検索する方法を確立するためには, HLA-DR分

子と癌抗原が固定されたモデルとなる実験系が必要であった。そこで我々は, 子宮癌関連抗原のヒトパピローマウイルスタイプ16 E7蛋白(以下E7)内に, HLA-DRに提示されCD4陽性T細胞が認識するepitopeを検出する実験法を確立した。この実験により, E7のアミノ酸配列のうち, HLA-DRB1*0901と親和性の高いmotifを内包するE7 61-80アミノ酸配列: CDSTLRLCVQSTHVDIRTLEで単核球を刺激すると, Th2タイプT細胞が0.3-2.4%にまで増加することが確認できた。さらに, 単核球をこのepitope peptideとIL-12とともに培養するとTh1タイプのT細胞の増加が認められた。これらの結果から, 癌抗原にはTh1とTh2タイプのT細胞に共通なepitopeが存在し, IL-12刺激で細胞障害活性をもつTh1タイプT細胞を誘導できる事から, 抗原特異的CD4陽性Th1タイプT細胞による癌の治療が可能であると考えられた。(M. Okubo, M. Sato, H. Inoku, R. Hirata, M. Yanagisawa, S. Takeda, K. Kinoshita, H. Maeda. Analysis of HLA-DRB1*0901-binding HPV-16 E7 helper T cell epitope. J. Obstet. Gynaecol. Res. 30: 120-129. 2004.)

共通するHLAなどの遺伝子背景が明らかではない卵巣癌において, 特異的な癌抗原を探索するのは当初困難であったが, 対象をcarcinogenic antigenから卵巣癌特異的tumor marker分子として, その卵巣癌腫瘍マーカーのアミノ酸配列のうち, 既報のalgorithmからCD4陽性T細胞のepitopeを推定し, これをcodeする合成peptideを作成し上記のE7 peptide刺激と同様の実験系で解析したところ, 10例中8例の卵巣癌患者でCD4陽性Th1タイプT細胞が認識する共通のepitopeを決定できた。このことから, 抗原ペプチドpeptideとcytokine刺激を*ex vivo*にて行い, 活性化したT細胞を体内に戻すことによって, 抗腫瘍効果, 特に主な癌組織(臓器)を切除した後の転移の抑制に対しての治療が可能となると思われた。

1) 埼玉医科大学総合医療センター総合周産期母児医療センター, 2) 同総合医療センター 輸血・細胞治療部門