

| | |
|------------------|---|
| Title | 膀胱癌患者血清中のIgG抗体が認識する新しい膀胱癌抗原の同定 |
| Sub Title | |
| Author | 伊藤, 敬一 |
| Publisher | 慶應医学会 |
| Publication year | 2004 |
| Jtitle | 慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.81, No.4 (2004. 12) ,p.11- |
| JaLC DOI | |
| Abstract | |
| Notes | 号外 |
| Genre | Journal Article |
| URL | https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20041202-0011 |

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

膀胱癌患者血清中のIgG抗体が認識する新しい膀胱癌抗原の同定

伊藤 敬一

内容の要旨

表在性膀胱癌に対する*Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) の膀胱内注入療法は、治療法としても再発の予防法としても有効であり、その抗腫瘍効果の機序として免疫反応との関連性が示唆されている。一方、転移を有する進行性膀胱癌の治療には多剤併用化学療法が用いられるが、治療成績は満足すべき状態ではなく新しい治療法の開発が望まれる。進行性膀胱癌に対しても免疫治療は有効である可能性がある。申請者は進行性膀胱癌の免疫治療に応用しうる癌抗原の同定するため serological identification of recombinant cDNA expression cloning (SEREX) 法を用いた。細胞異型度の高い膀胱癌のリンパ節転移巣から申請者の教室で樹立したFY細胞株からmRNAを抽出し、ファージをベクターとしたcDNAライブラリーを作成した。このcDNAライブラリーを用いてタンパクを発現させ、同一の膀胱癌患者の血清中のIgG抗体が認識する蛋白をコードするファージクローンを単離した。各陽性クローンのコードする塩基配列を決定し、遺伝子を同定した。48種類の分子が単離され、36種類の既知分子と12種類の未知分子であった。これらの各分子に対するIgG抗体が存在するかどうかを、健康人ならびに膀胱癌患者を含めた癌患者血清において検討した。また各抗原に対する組織特異的なmRNAの発現パターンをRT-PCRおよびノーザンブロットを用いて検討した。これらの検討の結果、KU-BL-1とKU-BL-2が膀胱癌の患者において免疫原性が高く、膀胱癌組織に高発現している有力な膀胱癌抗原候補と考えられた。KU-BL-1は特徴的なCXXXCXXCというモチーフを有し、ヒト lipoic acid synthetase の一つと考えられた。KU-BL-1は検討した多くの膀胱癌細胞株や膀胱癌組織に発現し、正常組織においては正常膀胱粘膜や精巣に発現していた。KU-BL-1に対するIgG抗体は膀胱癌患者血清中28例中2例に認められたが、健康人30人では認められなかった。KU-BL-2はショウジョウバエの *kelch* 蛋白に相同性があり *kelch-like protein* の一つと推定された。特徴的なBTB/POZドメインや6つの *kelch repeat* を認めた。KU-BL-2は検討した多くの膀胱癌細胞株や膀胱癌組織に発現し、正常組織においては精巣や心臓に発現していたが正常膀胱粘膜には認められなかった。KU-BL-2に対するIgG抗体は膀胱癌患者血清中28例8例に認められ検討した分子の中で最多であったが、健康人16人では認められなかった。KU-BL-1とKU-BL-2のアミノ酸配列に由来するHLA-A24高親和性ペプチドを用いて、健康人の末梢血リンパ球から腫瘍反応性T細胞の誘導を試みた。同一人の末梢血単核球から樹状細胞を誘導し、ペプチドをパルスして抗原提示を行った。KU-BL-2のペプチドであるVYILGGSQLにおいて8例中1例で腫瘍反応性T細胞を誘導することができた。以上の結果からKU-BL-1とKU-BL-2は膀胱癌に高発現する免疫原性のある分子であり、膀胱癌の診断や免疫細胞治療に応用しうる抗原であると考えられた。

論文審査の要旨

膀胱癌の治療や診断に応用しうる癌抗原を同定することを目的とした。抗原の同定にはSEREX法を用いた。すなわち、膀胱癌のリンパ節転移巣から樹立したFY細胞株を用いcDNAライブラリーを作成した。タンパク発現系において、膀胱癌患者の血清中のIgG抗体が認識するタンパクをコードするファージクローンを単離した。塩基配列を決定した結果、36種類の既知分子と12種類の未知分子であった。健康人と癌患者血清中の抗体の存在、mRNAの発現パターンを検討した結果、KU-BL-1とKU-BL-2が膀胱癌患者で免疫原性が高く膀胱癌組織や細胞株に高発現している有力な抗原候補と考えられた。KU-BL-1はヒト lipoic acid synthetase の一つと考えられた。またKU-BL-2はショウジョウバエの *kelch* 蛋白に相同性があり *kelch-like protein* の一つと推定された。KU-BL-1とKU-BL-2に由来するHLA-A24高親和性ペプチドを用いて、健康人の末梢血リンパ球から腫瘍反応性T細胞の誘導を試みた。KU-BL-2由来のペプチドであるVYILGGSQLにおいて健康人8例中1例で腫瘍反応性T細胞を誘導することができた。以上の結果からKU-BL-1とKU-BL-2は膀胱癌の診断や免疫療法に応用しうる抗原であると結論した。

審査においては、単離された48遺伝子からどのような基準でKU-BL-1とKU-BL-2を選択するに至ったかという質問がなされた。健康人の血清中に抗体が産生されている分子を検討から除外し、選別された24遺伝子のRT-PCRとノーザンブロットによる組織発現の検討の結果を重要視し、特異的な発現パターンのある分子を選択したと回答された。KU-BL-2のノーザンブロットで認めた約2.0kbのバンドに対する検討がなされたかという指摘があり、KU-BL-2のsplice variantの可能性があると回答された。KU-BL-1が正常膀胱に発現する事が治療に応用する際に問題にならないかという質問があり、膀胱が切除された症例では問題とはならないが、未切除例においては膀胱炎などの副作用の可能性があると回答された。単離された α -actinin 4, mitotin, 癌遺伝子関連遺伝子などの興味深い既知分子や、KU-BL-1, 2などの未知分子の今後の臨床応用の可能性に対する質問があった。これらの遺伝子の発現と膀胱癌の悪性度や予後が相関する可能性があること、血清中の抗原タンパクやそれらに対する抗体の存在が腫瘍マーカーとして診断や進行度の推定に役立つ可能性があることと回答された。抗体を用いて同定した抗原に対して、CD4+T細胞ではなくCD8+T細胞に認識される抗原の検討が最初になされたのはなぜかという質問があった。生体内の腫瘍の拒絶に重要であるCD8+T細胞に認識される抗原を同定する事が本研究の第一の目的であり、その手法としてSEREX法を用いたと回答された。

KU-BL-1, KU-BL-2の機能に関する検討、単離された分子の膀胱癌との関連性、さらには臨床応用の可能性など多くの研究すべきテーマは残されているものの、新規の膀胱癌抗原を同定したこと、膀胱癌の免疫療法に応用しうるペプチドを同定したという点において有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 泌尿器科学 村井 勝
先端医科学 河上 裕 病理学 坂元 亨宇
微生物学・免疫学 小安 重夫
学力確認担当者: 北島 政樹、河上 裕
審査委員長: 河上 裕

試問日: 平成16年 7月 6日