

Title	Frequent Immune Responses to a Cancer/Testis Antigen, CAGE, in Patients with Microsatellite Instability-Positive Endometrial Cancer
Sub Title	癌精巢抗原CAGEに対する抗体は、マイクロサテライト不安定性陽性の子宮体癌患者において高頻度に検出される
Author	岩田, 卓
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.1 (2007. 3) ,p.3-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070302-0003

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.

Frequent Immune Responses to a Cancer/Testis Antigen, CAGE, in Patients with Microsatellite Instability-Positive Endometrial Cancer

(癌精巢抗原CAGEに対する抗体は、マイクロサテライト不安定性陽性の
子宮体癌患者において高頻度に検出される)

岩 田 卓

内容の要旨

SEREX法 (Serological Analysis of Recombinant cDNA Expression Libraries) は血清中の抗体が認識する抗原を同定する方法で、この方法で得られた抗原の多くがペプチド療法や樹状細胞療法などの癌免疫療法に臨床応用されている。今回の研究ではSEREX法を用いて癌精巢抗原に属するCAGEを同定し、CAGEタンパクの癌特異的な発現を報告するとともに各種癌患者血清中の抗CAGE抗体の抗体価と臨床病理学的因子との関連について検討した。

3種の子宮体癌細胞株 (Ishikawa, Hec-1b, SNG-II) から作成したcDNA expression libraryと7人の子宮体癌患者血清を用いてSEREX法を行い、59種の遺伝子を得た。これらの遺伝子の正常組織および各種癌での発現を検討した結果、癌精巢抗原様の発現様式を示すCAGEを同定した。CAGEは精巢組織より作成したcDNA expression libraryと樹状細胞療法を行ったメラノーマ患者の血清を用いてSEREX法でも同定された。CAGEはX染色体p22.13領域に位置し、221個のアミノ酸からなる分子量31.1kDaのタンパクをコードしていた。申請者はCAGEタンパクの子宮体癌細胞株での発現を確認し、さらにFrag-tagを用いた遺伝子導入実験により細胞質に局在することを明らかにした。各種癌患者での抗CAGE抗体保有率をWestern blot法によって検討したところ、陽性率は健康人コントロール (0/40)、子宮体癌 (5/45)、メラノーマ (2/24)、大腸癌 (2/33) であった。特に大腸癌患者のうち陽性の2例はともにMSI-H (Microsatellite Instability-High) の症例であったため、子宮体癌患者血清中の抗CAGE抗体価とMSI statusを含めた臨床病理学的因子との関連をELISA法を用いて検討したところ、年齢、進行期、分化度、血清中CA602値との関連は認めなかったが、MSI statusについてはMSI-H症例での陽性率が53.8% (7/13) であったのに対し、MSIが検出されなかったMSS (Microsatellite Stable) 症例では0% (0/19) で、MSI-H症例で有意に抗CAGE抗体保有率が高かった (P=0.001)。

MSI陽性症例では、高頻度に遺伝子変異が生じる結果、多くの変異タンパクが産生されると考えられている。したがってMSI陽性症例のみに抗CAGE抗体が産生される機序としてCAGEが標的遺伝子となって変異タンパクが産生され、それを免疫系が認識して抗体を産生するシナリオが想定される。そこで抗CAGE抗体陽性であったMSI-H症例全例で癌組織と体細胞でのCAGEの塩基配列を検討し、遺伝子変異の検出を試みたが遺伝子変異は検出されなかった。現在のところ、なぜMSI陽性症例特異的に抗CAGE抗体が検出されるのか不明であるが、その機序の研究はMSI陽性癌における免疫応答の解明に繋がると予想され、今後の課題であると思われる。

癌精巢抗原であるCAGEは免疫療法への応用が期待されるとともに、MSI陽性を予測するマーカーとして有用である可能性が考えられた。現在のところ、MSIの検出はシーケンシングが唯一の方法であるが、CAGEと同様、MSI陽性症例特異的に抗体を産生させる抗原を同定し、組み合わせることで抗体を検出することであり簡便にMSI陽性症例をスクリーニングする可能性を示した。

論文審査の要旨

癌精巢抗原は種々の癌で発現する一方、正常組織では精巢のみに発現を認める抗原群であり、一般に免疫原性が高いことから樹状細胞療法やペプチド療法などの免疫療法に活用されている。本研究ではまず、癌免疫療法に活用可能な新規癌精巢抗原の同定をSEREX法によって試み、CAGEを同定した。次に子宮体癌細胞株でのCAGEタンパクの発現をウェスタンブロット法で確認した上で、FLAG融合CAGEタンパクの一過性発現ベクターをCOS7細胞に遺伝子導入してタンパクを強制発現させ、CAGEタンパクが細胞質に局在することを示した。さらに各種癌患者血清中の抗CAGE抗体の検出を行い、臨床病理学的因子との関連を検討したところ、MSI-H (microsatellite instability-high) の症例で有意に抗CAGE抗体の保有率が高いことが示された。

審査においてはまず、SEREX法で多くの抗原が同定された中でCAGEを選択した過程について質問がなされた。これに対して、研究を開始した当時、遺伝子データベースは未完了でCAGEを含めて多くの遺伝子が未報告であったこと、その全ての候補遺伝子に対してRT-PCR法によって発現プロファイルを検討した結果、癌精巢抗原様の発現様式を示すCAGEを選択したと回答された。ついてCAGEタンパクにはHelicaseドメインが存在し核タンパクとの印象を持つが、当研究で細胞質に局在するとの結果であったことに対して質問された。これに対し、CAGEが属するDEAD boxファミリーには現在38種の遺伝子があり、そのほとんどがHelicaseドメインとRNA結合部位であるKHドメインとを有していること、それらは核タンパクとしてmRNAのスプライシングに関与しているもののほかに核から細胞質へのmRNA輸送に関与するものや細胞質においてmRNAの分解に関与するものなど様々な過程でmRNAに作用すると報告されており、CAGEが細胞質に局在してもこれらの報告と矛盾しないと回答された。さらに今後CAGEを免疫療法に活用する上での課題として、当研究でのCAGEタンパクの発現は培養細胞系での検討であり、組織中の腫瘍細胞における発現を証明する必要があると指摘された。ついてMSI-H症例でのみ血清中にCAGE抗体が産生される機序について質問された。これに対して、MSI-H症例においてCAGE遺伝子の変異を検討したが変異を認めなかったこと、さらにMSI-H症例とMSIを認めない症例においてCAGE遺伝子の発現量を定量的PCR法で検討したが発現量の差を認めなかったことから、現時点ではMSI-H症例における抗CAGE抗体の特異的産生の機序は不明である、しかしながら一般にMSI-H症例ではCTLやCD4陽性T細胞などの免疫担当細胞が腫瘍組織内に密に浸潤しており、このような免疫応答の賦活化が抗CAGE抗体の産生と関連しているのではないかと回答された。

以上のように、本研究はいくつかの検討課題を残しているものの、MSI陽性癌に対する生体内での特異的な抗体産生を検出したとする画期的な報告であり、今後MSI陽性癌に対する免疫応答の解明のみならず、MSI statusの新たな診断法に繋がる可能性を示したという点で有意義な研究であると評価された。

論文審査担当者 主査 産婦人科学 齊木 大輔
産婦人科学 吉村 泰典 病理学 坂元 亨字
病理学 岡田 保典
学力確認担当者: 池田 康夫
審査委員長: 吉村 泰典

試問日: 平成18年11月13日