

平成21年 4月 21日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19791246
 研究課題名（和文） 癌抗原ペプチドとOK432局所投与による頭頸部扁平上皮癌への
 抗腫瘍効果の誘導
 研究課題名（英文） Cytotoxic T lymphocytes induced by SCCA derived peptides
 研究代表者 小野 剛治（ONO TAKEHARU）
 久留米大学・医学部・助教
 研究者番号：70449916

研究成果の概要：頭頸部癌患者の抗ペプチド抗体価（IgA, IgG）は健常人と比較して高い傾向であることがわかった。抗体価の高い患者の末梢血単核球をSCCAペプチドで刺激するとCTL誘導能が優れていることがわかった。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,000,000	0	1,000,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	270,000	2,170,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学

キーワード：免疫学、癌

- 研究開始当初の背景
 がん治療は大きく手術、放射線治療、化学療法の3つの柱がある。それらの治療に加えて副作用の少ない免疫療法実現の可能性について検討し、臨床応用を期待している。
- 研究の目的
 ① 頭頸部癌の治療は外科的治療、放射線療法、化学療法が主体である。これに免疫療法を組み合わせることで予後を改善させることができると考えた。頭頸部領域の免疫療法としては悪性黒色腫の養子免疫療法が効果を上げているが、扁平上皮癌に関しての効果

は明らかでない。本研究の目的は頭頸部扁平上皮癌に対するペプチドワクチン療法を行うために、SCCA(扁平上皮癌抗原)由来のHLA-A24拘束性のCTL (Cytotoxic T lymphocyte) ペプチドを同定し、臨床応用への可能性を探ることにある。これらのペプチドが頭頸部癌患者末梢血単核球からCTLを誘導できるか、全身、局所での抗SCCAペプチド抗体 (IgG, IgA) の関与があるかを検討し、抗腫瘍効果による頭頸部癌での臨床応用に結び付けたい。

- ② 頭頸部扁平上皮癌患者の末梢血単核球からのSCCA由来のペプチドによるCTL誘導能、血清中のSCCAペプチド特異的IgG、唾液中のS

CCAペプチド特異的IgAの解析を行い、細胞性免疫、液性免疫の両方からその頭頸部扁平上皮癌患者に効果的なペプチドを解析することである。

当科にて入院加療を行った頭頸部扁平上皮癌症例から採取した末梢血単核球を2種類のSCCA由来のペプチドで刺激しCTL誘導を行った。それぞれ2種類のペプチドをC1R-A24細胞に抗原提示させ、刺激した細胞と反応させた結果、それぞれ頭頸部癌患者9名中6名、9名中5名でIFN-gammaの有意味な産生を認めた。またSCCAを発現している頭頸部癌細胞系を用いCrリリースアッセイを行った結果、SCCAペプチドにより誘導されたCTLはHLA-A24拘束性にSCCA発現癌細胞に対し細胞傷害性を示した。これにより、SCCAペプチドの投与で臨床的に抗腫瘍効果を得る可能性が示唆された。本研究の独創的な点は、CTLだけでなく抗SCCAペプチド抗体(IgG, IgA)の関与が、抗腫瘍効果に結びついていることを推定し、血清中や局所粘液中の抗体(IgG, IgA)を測定・解析することにある。また抗SCCAペプチド抗体が頭頸部癌の腫瘍マーカーとして有用であるかを健常人と比較検討する。本研究の成果は、頭頸部癌患者の早期発見の可能性や、外科的治療、放射線療法、化学療法に加えて副作用の少ない免疫療法の実現に繋がる可能性を秘めている。

3. 研究の方法

<平成19年度>

頭頸部扁平上皮癌症例の中で本研究の主旨に同意の得られた症例を対象とする。標本採取は治療を開始する前に行い、著しい貧血、また血小板減少のある症例は除外する。

① 対象症例に対して採血を行い、HLAのタイピングを行う。A24陽性患者を選択し、末梢血単核球を分離、SCCAペプチドで刺激し、SCCAペプチドでCTL誘導ができたことを、IFN-gamma産生、Crリリースアッセイを行い検討する。同時に血清中の抗SCCAペプチド抗体(IgG, IgA)を測定、また腫瘍周囲の粘液(唾液、咽頭ぬぐい)を採取し抗SCCAペプチド抗体(IgG, IgA)を測定する。

② 研究代表者(小野剛治)がタイピング、刺激、抗体測定を行い他4名の協力者にデータ解析をしていただく。

<平成20年度>

① 前年度に引き続き、対象症例の集積に努め、A24陽性患者を選択し、末梢血単核球を分離、SCCAペプチドで刺激、IFN-gamm

a産生、Crリリースアッセイを行い、血清中、腫瘍周囲の粘液から抗SCCAペプチド抗体(IgG, IgA)を測定する。癌のステージによる抗体、CTL活性を比較する。手術時に採取した腫瘍から腫瘍浸潤リンパ球を取り出し、SCCAペプチドの対しての特異性を調べ、末梢血レベルでのCTL活性と局所レベルでのCTL活性を比較検討する。

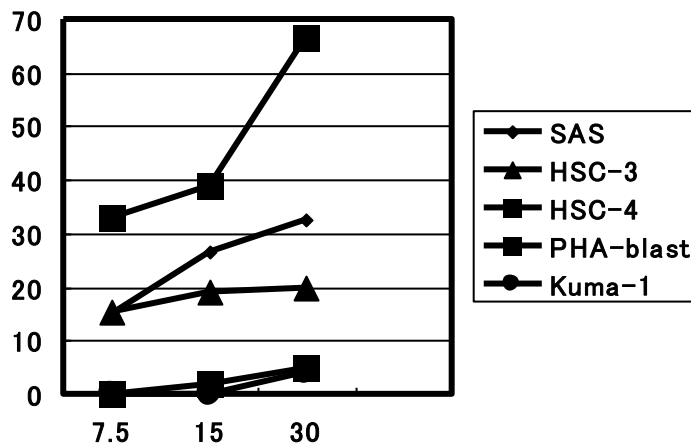
② 研究代表者(小野剛治)がタイピング、刺激、抗体測定を行い他4名の協力者にデータ解析をしていただく。

以上の作業は、すでに当研究室内に設置した検査・解析装置で可能であり、一般試薬の消耗品を購入することや採取組織のSRL依頼を行うことで研究を実施できる。

4. 研究成果

HLA-A24陽性頭頸部癌患者10例、健常人3名より血清、下咽頭、喉頭の腫瘍周囲の粘液(唾液、咽頭ぬぐい)を採取して抗SCCAペプチド抗体(IgA, IgG)を測定した。測定法には、ELISA法を用いた。健常人と比較して、癌患者はIgA, IgGの抗SCCAペプチド抗体価が高い傾向にあった。これらは頭頸部癌患者の腫瘍局所でペプチド特異的抗体反応が生じているのではと考えた。IgA, IgGの抗SCCAペプチド抗体価が高い患者の末梢血単核球をペプチドで刺激するとCTL誘導能が優れていることが判明した。この結果により、抗体価を測定することで、実際患者に投与した際の臨床効果を予測できるのではないかと考えた。手術により採取した腫瘍から腫瘍浸潤リンパ球を取り出すことは可能であったが、これを増殖させることは困難であり、腫瘍浸潤リンパ球からペプチド特異的CTLを誘導することはできていない。そのため末梢血レベルでのCTL活性と局所レベルでのCTL活性の比較検討は今後の課題である。

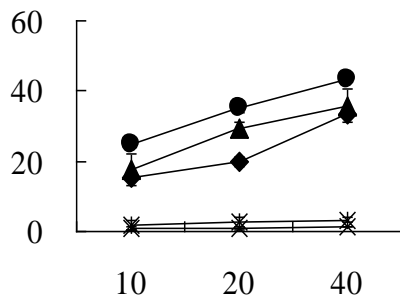
Cr release assay



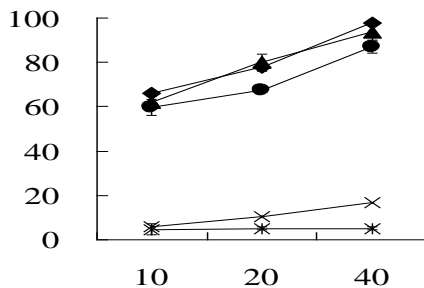
SAS, HSC-3, HSC-4 は、SCCA(+), HLA-A24(+),
 KumalはSCCA(+), HLA-A33(+)
 PHAblastはSCCA(-), HLA-A24(+)

縦軸は細胞傷害(%)、横軸はエフェクター/
 ターゲット比、SCCA発現細胞に対してHLA-A2
 4拘束性に細胞傷害を示している。

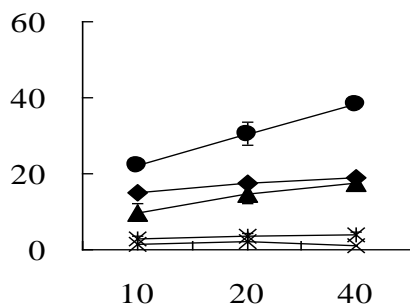
Pt.3 / SCCA112



Pt.4 / SCCA112



Pt.2 / SCCA215



左記の患者は研究により得られた結果である。

5. 主な発表論文等

1: Expression of cluster of differentiation 9 glycoprotein in benign and malignant parotid gland tumours. Sakamoto K, Ono T, Nakamura Y, Harada H, Nakashima T.

J Laryngol Otol. 2009 May;123 Suppl 31:58-63.

2: Selective (intra-arterial), rapid infusion chemo-radiotherapy to preserve the larynx in advanced laryngeal carcinoma: preliminary results.

Nakashima T, Mihoki T, Ono T, Umeno H, Tanaka N.

J Laryngol Otol. 2009 May;123 Suppl 31:30-4.

3: A correlation between symptom severity and unbalanced reactive IgA production in Japanese cedar pollinosis patients. Komatsu N, Harada M, Nakagawa M, Tanaka Y, Ono T, Gohara S, Ohkubo K, Itoh K.

Asian Pac J Allergy Immunol. 2008

Jun-Sep;26(2-3):97-104.

4: Brain surface spindle cell glioma in a patient with medically intractable partial epilepsy: a variant of monomorphous angiocentric glioma? Sugita Y, Ono T, Ohshima K, Niino D, Ito M, Toda K, Baba H.

Neuropathology. 2008 Oct;28(5):516-20. Epub 2008 Jan 3.

5: Serum levels of IgG to the peptide of HCV1b core at positions 35-44 correlated with persistent infection, while levels of IgG to the peptide of NS5A at positions 2132-2140 correlated with better prognosis in HCV-infected patients. Takao Y, Yamada A, Yutani S, Ono T, Nagao Y, Ando E, Ide T, Itoh K, Sata M.

Med Microbiol Immunol. 2007
Sep;196(3):157-64. Epub 2007 Feb 16.

6: Identification of new immunogenic peptides in conserved regions of hepatitis C virus (HCV) 1b with the potentiality to generate cytotoxic T lymphocytes in HCV1b(+) HLA-A24(+) patients.Takao Y, Yamada A, Yutani S, Takedatsu H, Ono T, Etoh K, Wang Y, Suzuki S, Ide T, Shimotohno K, Sata M, Itoh K.
Hepatol Res. 2007 Mar;37(3):186-95.

〔学会発表〕（計 1 件）

Cytotoxic T lymphocytes induced by HSCC Ag derived peptides.

アメリカ耳鼻咽喉科学会, シカゴ, アメリカ,
2008.9.21-24

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小野 剛治 (ONO TAKEHAEU)
久留米大学・医学部・助教
研究者番号：70449916

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：