

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：37104

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24791452

研究課題名(和文) がん抗原ペプチドに特異的な抗体(抗ペプチド抗体)の誘導および作用機序の解明

研究課題名(英文) Analysis of immunoglobulins reactive to CTL epitopes peptides

研究代表者

松枝 智子 (Matsueda, Satoko)

久留米大学・がんワクチンセンター・講師

研究者番号：60610582

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円、(間接経費) 990,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、がんペプチドワクチンに用いられているCTLエピトープペプチドに対する抗体(抗ペプチド抗体)がどのように作用するのかを明らかにすることを目的とした。抗ペプチド抗体価が高いがん患者においては、生命予後が有意に延長することが明らかとなり、抗ペプチド抗体の測定は生命予後を予測するバイオマーカーとなり得ると考えられた。また基礎的検討の結果、抗ペプチド抗体が抗原特異的細胞傷害性T細胞の誘導に参与している可能性を示唆するデータが得られた。

研究成果の概要(英文)：We assessed immunoglobulins reactive to CTL epitopes peptides derived from tumor-associated antigens in healthy donors and cancer patients. The sum of immunoglobulins reactive CTL epitopes peptides were well correlated with better overall survival in cancer patients. Our results suggested that measurement of immunoglobulins specific to CTL epitope peptides may provide a new biomarker for overall survival of patients with cancer. From this analysis of anti-peptide antibodies in vitro and vivo, we found that immunoglobulins specific to CTL epitope peptide may play a role to enhance and induce tumor antigen specific cytotoxic T cells.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：抗ペプチド抗体 がん ペプチド 生命予後 バイオマーカー 腫瘍関連抗原

## 1. 研究開始当初の背景

日本人の死亡原因第一位は「悪性新生物(がん)」であり、年間に約34万人ががんにより死亡(厚生労働省 死因順位別死亡数の年次推移)していることから、がん対策は緊急課題であると言える。1990年代にがん拒絶抗原が発見され(Boon T., *et al.* Immunol today 1997)、T細胞に認識されるがん拒絶抗原を用いた免疫療法が臨床応用され始めた。現在、がん免疫療法は外科療法、化学療法、放射線療法に続く第四の治療法として注目を浴びている。特に、がんワクチンは生存期間の延長や再発予防効果が期待されるだけでなく、副作用が少なくQOLを保った生活を送ることができるという観点からも社会の期待は大きい。

研究代表者はペプチドワクチンの臨床試験における免疫モニタリングに携わっており、モニタリング法として細胞傷害性T細胞(CTL)活性の測定と血漿中の抗ペプチド抗体の測定(Noguchi M., *et al.* Prostate 2005)を実施している。CTL活性の測定はペプチド特異的CD8陽性T細胞が産生するIFN- $\gamma$ を測定し、患者血漿中の抗ペプチド抗体はマイクロサスペンションアッセイを用いて測定している(Komatsu N., *et al.* Scand J Clin Lab Invest. 2004)。ワクチン投与前および投与後の血漿中の抗ペプチド抗体が生命予後と有意に相関するという結果が得られているが(Mine T., *et al.* Clin Cancer Res 2004)、抗ペプチド抗体に関しては十分には研究されていない。

## 2. 研究の目的

本研究においては、「なぜ抗ペプチド抗体が高い患者において生命予後が延長するのか」という疑問を解決し、今後のがん免疫治療分野の発展に有用な科学的基盤を築くことを目的とした。

## 3. 研究の方法

がんペプチドワクチンの臨床試験に用いられているCTLエピトープに対する抗体(抗ペプチド抗体)について、以下のように患者サンプルを用いた臨床的検討とマウスを用いた基礎的検討の両面から詳細に解析を行った。

### 1) 臨床的アプローチ

抗ペプチド抗体のサブセットおよびその誘導に関与すると思われるサイトカインなど液性因子について、膵臓がん患者、健常人、あるいは他疾患(感染症、自己免疫疾患、他種がん、など)患者の血液サンプルを用いて網羅的解析を行った。

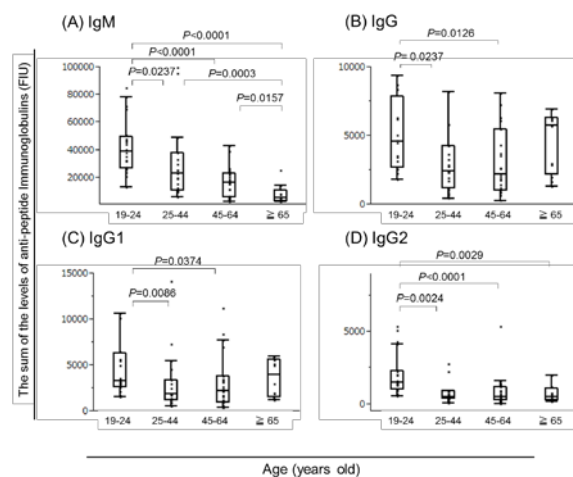
### 2) 基礎的アプローチ

マウス単クローン抗体を用いて、細胞傷害性T細胞(CTL)の活性化に関する解析を行った。

## 4. 研究成果

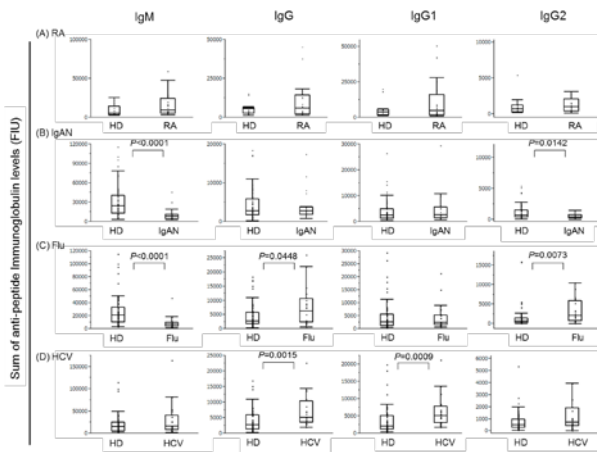
### 【臨床的アプローチ】

(1) 健常人における腫瘍関連抗原由来ペプチドに対する抗体(抗ペプチド抗体)の検出



抗ペプチド抗体(IgM)の総和は年齢とともに減少する傾向にあることが判明した。抗ペプチド抗体(IgG)も64歳までは同様の傾向を示すが、65歳以上では上昇傾向が見られた。

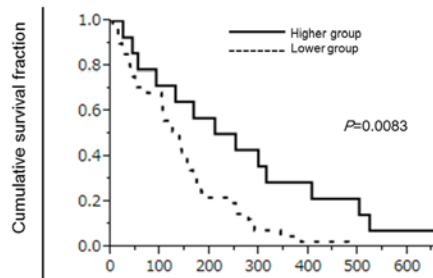
(2) 各種疾患患者と健常人における抗ペプチド抗体価の比較



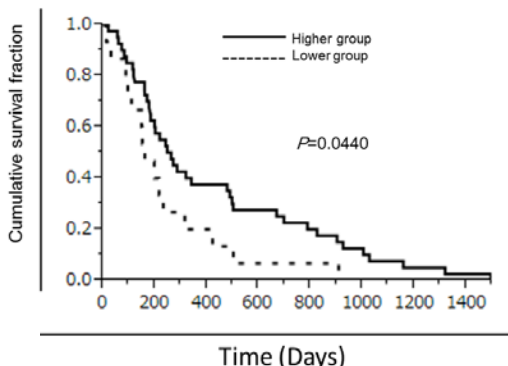
腫瘍関連抗原に対する液性免疫応答はヒトにおいて幅広く検出可能であることが明らかとなった。

(3) がん患者における抗ペプチド抗体と生命予後

(A) Hematological malignancy



(B) HCC

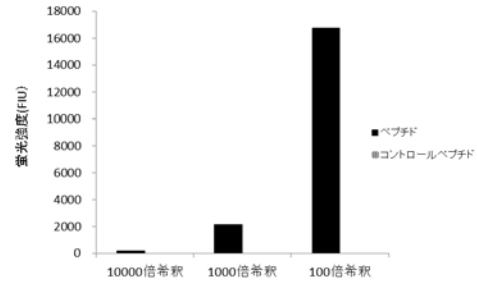


血液腫瘍 (A) および肝細胞癌患者 (B) の血中抗ペプチド抗体解析では、抗ペプチド抗体の総和が高い患者群において生命予後が有意に延長することが判明した。

これらの結果より、抗ペプチド抗体の検出は生命予後を予測するバイオマーカーとなり得る可能性が示唆された。

【基礎的アプローチ】

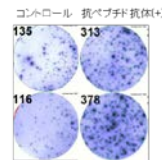
(1) 抗ペプチド抗体の単クローン作製



腫瘍関連抗原由来ペプチドに特異的なマウス単クローン抗体を作製し、基礎的検討に用いた。

(2) 細胞傷害性 T 細胞の誘導

抗ペプチド抗体の存在下でペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞の誘導が増強される可能性があることが IFN- $\gamma$  ELISPOT アッセイにより示された。



(3) 腫瘍組織での発現

マウス腫瘍モデルにおいて、抗ペプチド抗体の存在下では腫瘍組織での細胞表面分子の発現が変化する可能性を示唆するデータが得られた。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

1. Matsueda S, Komatsu N, Kusumoto K, Koga S, Yamada A, Kuromatsu R, Yamada S, Seki R, Yutani S, Shichijo S, Mine T, Fukuda T, Okamura T, Okuda S, Sata M, Honda J, Kaji M, Itoh K, Sasada T. Humoral immune responses to CTL epitope peptides from tumor-associated antigens are widely

detectable in humans: a new biomarker for overall survival of patients with malignant diseases. 査読有  
Dev Comp Immunol. 2013; 41(1):68-76.  
DOI: 10.1016/j.dci.2013.04.004

2. Yutani S, Komatsu N, Matsueda S, Yoshitomi M, Shirahama T, Yamada A, Itoh K, Sasada T. Juzentaihoto Failed to Augment Antigen-Specific Immunity but Prevented Deterioration of Patients' Conditions in Advanced Pancreatic Cancer under Personalized Peptide Vaccine. 査読有  
Evid Based Complement Alternat Med. 2013;2013: Article ID 981717 1-10  
DOI: 10.1155/2013/981717

〔学会発表〕（計1件）

1. Matsueda S, Komatsu N, Kusumoto K, Koga S, Yutani S, Shichijo S, Mine T, Itoh K, Sasada T. Humoral immune responses to CTL epitope peptides from tumor-associated antigens are widely detectable in humans: A new biomarker for overall survival of patients with malignant diseases. The Cancer Vaccine Institute's International Symposium on Immunotherapy (2013年10月11-12日 イギリス・ロンドン)

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松枝 智子 (Matsueda, Satoko)

久留米大学・がんワクチンセンター・講師

研究者番号：60610582

(2) 研究分担者

( )

研究者番号：

(3) 連携研究者

( )

研究者番号：