

平成 21 年 5 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2005～2008
 課題番号：17591756
 研究課題名（和文）T細胞・HLA・パピローマウイルスの3分子解析による子宮癌ペプチドワクチン
 研究課題名（英文）A design of peptide-vaccine for cervical cancer based on patient's T cell responses, HLA type, and human papilloma virus genotype.
 研究代表者
 前田 平生 (MAEDA HIROO)
 埼玉医科大学・医学部・教授
 研究者番号：30134597

研究成果の概要：細胞性免疫はT細胞とHLAと抗原ペプチドの3分子の親和性に依存している。我々は、子宮癌ワクチン開発のためこれら3分子の解析を行なった。まず、子宮頸癌患者に存在するヒトパピローマウイルス（HPV）の genotype と患者の HLA 頻度を解析した。次に特定の HLA に親和性が高い抗原ペプチドを解析した。その結果、子宮癌患者では HPV type 16 の感染が最も多く、その頻度は 44%であった。この HPV 16 陽性患者の HLA は DRB1*0901 allele の頻度が有意に増加していた。この HLA-DRB1*0901 に結合する HPV 16 E7 内部のアミノ酸配列として E7d; DSTLRRCVQSTHVDIRTLE を特定した。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2005年度	600,000	0	600,000
2006年度	600,000	0	600,000
2007年度	600,000	180,000	780,000
2008年度	600,000	180,000	780,000
年度			
総計	2,400,000	360,000	2,760,000

研究分野：輸血細胞治療

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：子宮癌, T細胞, HLA, パピローマウイルス

1. 研究開始当初の背景

ヒトの細胞性免疫の強弱はT細胞とくにT細胞レセプターとHLAと抗原ペプチドの3分子の親和性に依存していることが知られている。癌免疫でも同様である。ひとつの癌種においてこれらの3分子を解明できれば、癌ペプチドワクチンへの応用も可能になる。しかし、生体内で起こっている癌免疫反応では、癌抗原の解析が難しく、実際に3分子が明らかになった事例はなかった。

2. 研究の目的

子宮癌ではヒトパピローマウイルス（以下 HPV）の持続感染が子宮頸部における細胞異形から癌への進行に關与している事が臨床研究から明らかになってきた。同じ頃、我々は、子宮頸部異形病変をもつ日本人患者に多く感染している HPV には特定の DNA 型（以下 HPV タイプ）があり、患者の HLA にも拘束性があるという結果を予備実験で得た。そこで、HPV タイプを規定するウイルス構成抗原、患者に多い HLA の解析と T 細胞が前述の抗原の

どのアミノ酸配列を特異的に認識するかについての解析を進める事により、ペプチドワクチンとして利用可能なアミノ酸配列を特定する目的でこの研究を開始した。

3. 研究の方法

- (1)対象 本研究に協力することに同意され、無名化して扱われた症例 125 名の病変組織とこのうちさらに末梢血の提供にも協力が得られた 81 名分のリンパ球を用いて解析した。
- (2) HPV の検出とタイピングは従来報告されている方法、すなわち、子宮頸部組織から抽出した DNA を HPV の L1 領域の共通した配列をもとにデザインしたプライマーを用いて PCR 増幅したのち制限酵素を複数用いて DNA を消化切断する。この DNA を 4% アガロースゲル上で電気泳動し DNA 断片の長さに基づいて HPV の型を決定する。尚、PCR による増幅が認められないものは HPV 陰性と判定した。HPV は DNA の配列の差違から 30 種類以上に分類されているが、子宮頸部病変において高頻度に検出されるタイプの 16 型、18 型、33 型、56 型を区別して検出した。
- (3) HLA クラス I A,B と class II DRB1 と DQB1 の解析は HPV16 陽性 64 例の末梢血単核球由来の DNA を抽出し PCR-reverse SSO method と PCR-SSCP によって決定した。
- (4) 抗原ペプチドはヒト HPV16 の E6 と E7 蛋白のアミノ酸配列の中から、今回対象とした症例のなかで HLA DRB1 アリルの頻度が健常人と比較して少なかった HLA DRB1*0405 分子と HLA DRB1*0901 分子に親和性が高いと理論的に考えられている、いわゆる MHC クラス II consensus motif に示されたアグレトープの一部でも含むと推定されるアミノ酸配列の全てのパターンを 9~20 アミノ酸残基数の間で 12 種類合成した。
- (5) 抗原特異的な T 細胞は抗原ペプチド刺激により反応し、CD4 陽性で IL-4 あるいは IFN- γ を産生することが知られている。準備した合成ペプチドを患者末梢血単核球とともに 2 日間培養し、T 細胞表面上の IL-4 と CD4 をフローサイトメトリー法にて解析した。

4. 研究成果

(1) HPV 陽性率と HPV タイプ

HPV は DNA の配列の差違から 30 種類以上に分類されている。子宮頸部病変において高頻度に検出されるタイプは 16 型、18 型、33 型である。このうち、子宮癌との病因的関連が最も高いのが HPV タイプ 16 とされている。125 病変組織のうち 105 組織から HPV DNA が検出された。この内の 65 例が子宮頸癌の病因に最も関与すると言われているウイルスタイプの HPV 16 タイプであった。

(2) HPV タイプと HLA 頻度と病変 (表 1, 2 参照)

105 名の HPV 陽性患者病のうち末梢血が得られた 81 名分のリンパ球を用い HLA 解析を病変の異型度ごとに行った。HPV 16 タイプ陽性 36 例の HLA アリル頻度の解析の結果は HLA DRB1*0405 アリル頻度では健常人の頻度と比較して異型度が高い病変群に低く、HLA DRB1*0901 は異型度が高い病変群に高く、HLA DRB1*1302 は両群ともに少なかった。尚、HLA DQB1 の頻度は DRB1 との連鎖不平衡により頻度が増減している。また、クラス I のアリル頻度には有意差は認められなかった。尚、表における CIN1 と CIN2 は子宮頸部病変の異形度が低い症例群、CIN3 と CIS と IC は前癌状態、上皮内癌、進行癌を示す群である。

表 1 HLA クラス I 抗原の頻度 (全患者と HPV タイプ 16 陽性患者の比較)

HLA class I	All patients (81)		HPV 16-positive patients (36)		Local control (136), n (%)
	CIN 1/19 (23%), n (%)	CIN 3/19 (100%), n (%)	CIN 1/19 (23%), n (%)	CIN 3/19 (100%), n (%)	
A1	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
A2	9 (10.4)	23 (47.1)	2 (22.2)	39 (100)	55 (39.9)
A3	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
A24	17 (19.8)	36 (74.2)	7 (77.8)	18 (100)	83 (60.3)
A26	3 (3.4)	17 (34.7)	3 (33.3)	4 (11.1)	31 (22.5)
A11	4 (4.6)	7 (14.3)	1 (11.1)	2 (5.6)	24 (17.4)
A30	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
A14	4 (4.6)	6 (12.2)	3 (33.3)	4 (11.1)	29 (21.1)
A33	3 (3.4)	6 (12.2)	0 (0)	4 (11.1)	22 (15.9)
B7	4 (4.6)	6 (12.2)	2 (22.2)	3 (7.7)	33 (23.9)
B13	2 (2.3)	6 (12.2)	2 (22.2)	0 (0)	4 (2.9)
B15	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
B16	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
B17	0 (0)	1 (1.4)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
B22	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
B27	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
B35	3 (3.4)	5 (10.4)	1 (11.1)	3 (7.7)	24 (17.4)
B39	2 (2.3)	3 (6.1)	0 (0)	0 (0)	9 (6.5)
B44	3 (3.4)	7 (14.3)	0 (0)	3 (7.7)	25 (18.1)
B46	3 (3.4)	5 (10.4)	0 (0)	2 (5.6)	16 (11.6)
B48	1 (1.1)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	2 (1.4)
B51	4 (4.6)	12 (24.7)	2 (22.2)	4 (11.1)	25 (18.1)
B52	4 (4.6)	19 (38.8)	1 (11.1)	9 (25.0)	33 (23.9)
B54	3 (3.4)	6 (12.2)	1 (11.1)	2 (5.6)	23 (16.7)
B55	0 (0)	3 (6.1)	0 (0)	2 (5.6)	4 (2.9)
B56	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	4 (2.9)
B59	2 (2.3)	1 (1.4)	1 (11.1)	0 (0)	2 (1.4)
B60	3 (3.4)	6 (12.2)	1 (11.1)	3 (7.7)	10 (7.2)
B61	4 (4.6)	10 (20.4)	3 (33.3)	4 (11.1)	27 (19.6)
B62	4 (4.6)	10 (20.4)	1 (11.1)	4 (11.1)	24 (17.4)
B67	0 (0)	1 (1.4)	0 (0)	1 (2.8)	2 (1.4)
B79	0 (0)	2 (3.4)	0 (0)	2 (5.6)	1 (0.7)

表 2 HLA クラス II アリルの頻度 (全患者と HPV タイプ 16 陽性患者の比較) 上 DR, 下 DQ

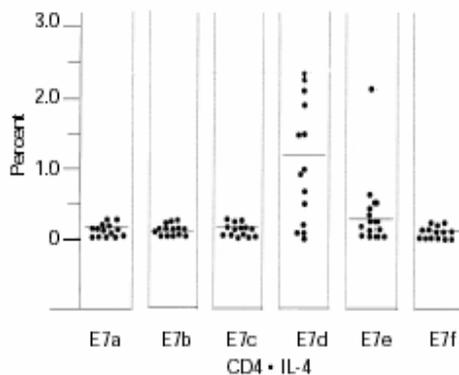
HLA-DRB1	All patients (81)		HPV 16-positive patients (36)		Local control (136), n (%)
	CIN 1/19 (23%), n (%)	CIN 3/19 (100%), n (%)	CIN 1/19 (23%), n (%)	CIN 3/19 (100%), n (%)	
*0101	3 (3.4)	5 (10.4)	2 (22.2)	3 (7.7)	11 (8.0)
*0401	1 (1.1)	1 (1.4)	0 (0)	1 (2.8)	3 (2.1)
*0402	2 (2.3)	4 (7.7)	0 (0)	4 (11.1)	11 (8.0)
*0405	0 (0)	7 (14.3)	2 (22.2)	3 (7.7)	29 (21.1)
*0406	1 (1.1)	1 (1.4)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0407	1 (1.1)	0 (0)	1 (11.1)	0 (0)	1 (0.7)
*0410	2 (2.3)	3 (6.1)	2 (22.2)	0 (0)	5 (3.6)
*0403	1 (1.1)	4 (7.7)	0 (0)	3 (7.7)	9 (6.5)
*0404	1 (1.1)	12 (24.7)	1 (11.1)	4 (11.1)	25 (18.1)
*0408	1 (1.1)	2 (3.4)	0 (0)	0 (0)	4 (2.9)
*0409	1 (1.1)	3 (6.1)	1 (11.1)	2 (5.6)	7 (5.1)
*0412	1 (1.1)	2 (3.4)	0 (0)	1 (2.8)	4 (2.9)
*0413	1 (1.1)	2 (3.4)	0 (0)	1 (2.8)	2 (1.4)
*0415	1 (1.1)	4 (7.7)	1 (11.1)	3 (7.7)	12 (8.7)
*0416	1 (1.1)	1 (1.4)	0 (0)	1 (2.8)	4 (2.9)
*0418	1 (1.1)	1 (1.4)	0 (0)	1 (2.8)	5 (3.6)
*0419	1 (1.1)	1 (1.4)	0 (0)	1 (2.8)	3 (2.1)
*0420	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	4 (2.9)
*0421	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0422	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0423	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0424	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0425	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0426	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0427	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0428	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0429	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0430	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0431	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0432	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0433	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0434	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0435	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0436	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0437	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0438	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0439	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0440	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0441	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0442	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0443	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0444	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0445	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0446	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0447	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0448	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0449	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0450	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0451	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0452	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0453	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0454	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0455	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0456	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0457	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0458	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0459	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0460	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0461	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0462	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0463	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0464	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0465	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0466	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0467	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0468	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0469	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0470	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0471	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0472	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0473	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0474	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0475	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0476	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0477	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0478	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0479	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0480	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0481	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0482	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0483	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0484	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0485	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0486	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0487	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0488	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0489	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0490	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0491	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0492	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0493	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0494	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0495	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0496	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0497	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0498	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0499	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)
*0500	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (0.7)

*p < 0.0001, OR = 0.36.
 †p < 0.0075, OR = 2.37.
 ‡p < 0.0001, OR = 3.44.

HLA-DQB1	All patients (81)		HPV 16-positive patients (36)		Local control (136), n (%)
	CIN 1/19 (23%), n (%)	CIN 3/19 (100%), n (%)	CIN 1/19 (23%), n (%)	CIN 3/19 (100%), n (%)	
*0201	4 (4.6)	11 (22.4)	2 (22.2)	5 (13.9)	25 (18.1)
*0202	9 (10.4)	19 (38.8)	1 (11.1)	9 (25.0)	22 (15.9)
*0203	16 (18.3)	27 (56.2)	4 (44.4)	16 (44.4)	30 (21.8)
*0204	4 (4.6)	6 (12.2)	2 (22.2)	2 (5.6)	10 (7.2)
*0205	2 (2.3)	6 (12.2)	2 (22.2)	2 (5.6)	12 (8.7)
*0206	1 (1.1)	5 (10.4)	2 (22.2)	3 (7.7)	13 (9.4)
*0207	1 (1.1)	1 (1.4)	0 (0)	0 (0)	4 (2.9)
*0208	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	3 (7.7)	10 (7.2)
*0209	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0210	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0211	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0212	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0213	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0214	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0215	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0216	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0217	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0218	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0219	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0220	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0221	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0222	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0223	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0224	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0225	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0226	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0227	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0228	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0229	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0230	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0231	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0232	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0233	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0234	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0235	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0236	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0237	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0238	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0239	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0240	1 (1.1)	1 (1.4)	1 (11.1)	1 (2.8)	6 (4.3)
*0241					

(3) T細胞エピトープの推定

E7 蛋白をコード（支配/構成）するアミノ酸配列のうち本研究結果から疾患に関係のある MHC クラス II DRB1*04 あるいは DRB1*09 に結合する可能性をもつ配列の候補を合成アミノ酸にて 12 種類を作製した。これらを患者末梢血単核球とともに 2 日間培養し、T 細胞表面上の IL-4 と CD4 をフローサイトメトリー法にて解析した。尚、IL-4 と CD4 が陽性でペプチドを認識する T 細胞は Th2 type の抗原特異的 T 細胞と認定できる。IL-4 と CD4 が陽性の T 細胞頻度の解析は HLA DRB1*0901 あるいは DRB1*0405 を持つ症例 12 例について行った（図参照）。ポリペプチド毎の比較では E7d: HPV E7 61-80: DSTLRLCVQSTHVDIRTLE に対して高い陽性反応が認められた。また、E7e: HPV E7 82-95: LLMGTLGIVCPICS に対して低い頻度ながらも陽性細胞が検出された。しかし、その他のペプチドには反応はみとめられなかったことから E7d DSTLRLCVQSTHVDIRTLE には T 細胞の認識するエピトープ部位と HLA DRB1*0901 あるいは DRB1*0405 に結合するアグレトープが内包されていると推定された。尚、E7d 刺激時の陽性 T 細胞の頻度は全体の末梢血単核球の細胞数の 0.3% から 3.6% であった。



(4) 考察

子宮癌患者では HPV タイプ 16 の感染が最も多く、その陽性患者の HLA は DRB1*0901 allele の頻度が有意に増加していた。この HLA-DRB1*0901 に結合する HPV 16 E7 内部のアミノ酸配列として E7d; LCVQSTHVDIRTLE を特定した。

これらの結果から、我々は次ぎのように考察する。HLA は DRB1*0901 を遺伝子背景として持つヒトに HPV タイプ 16 が感染した場合排除されず、ウイルスに対してトレランス（免疫寛容）が成立して、結果として子宮頸部上皮基底層に持続感染する。実際、このウイルスの産生する E6 と E7 蛋白がヒト子宮由

来線維芽細胞を癌細胞にトランスフォーメーションする実験例が他研究者から示されている。また、E6 と E7 蛋白が癌抑制遺伝子産物の p53 の作用を抑制することも知られていることから、HPV E6/E7 は子宮癌の病因分子のひとつであると考えられる。

一般に癌が進行した生体では細胞性免疫が弱まり、癌を隔絶できずトレランスの成立が認められる。これは、今回の子宮癌の解析でも同様であった。しかし一方では、液性免疫は保たれており、癌抗原に対する抗体を産生し続ける。これは CD4 陽性 T 細胞が MHC クラス II 分子上に提示された抗原を認識する機構が保たれていることを示している。

今回我々が特定した T 細胞エピトープは、HLA クラス II 分子の拘束性があることと、抗原特異的に反応する T 細胞が CD4 陽性 IL-4 陽性細胞であることから、ヘルパー T 細胞のエピトープであることがわかる。さらに、このエピトープを含むポリペプチドと患者リンパ球をインターロイキン 12 と共に培養すると Th1 タイプと Th2 タイプ（ヘルパー T 細胞の亜型）双方の T 細胞が増殖することが、予備実験で確認できている。このうち、Th1 タイプ T 細胞は TNF, Fas ligand を産生しており腫瘍細胞の直接の傷害に役立つと考えられる。これらことからこのポリペプチドで T 細胞を ex vivo で活性化するか、あるいはワクチン療法として用いて生体内で T 細胞を活性化する方法により子宮癌の予防あるいは子宮癌病変の治療に利用できる可能性がある。

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 4 件)

Saito M, Okubo M, Hirata R, Takeda S, Maeda H. Association of human leukocyte antigen and T cell message with human papillomavirus 16 positive cervical neoplasia in Japanese women. *Int J Gynecol Cancer*. 17:1314-1321, 2007. 査読有り。

輸血医療を巡る激動の 10 年を振り返って。湯浅晋治, 清水勝, 十字猛夫, 高松純樹, 大戸斉, 高橋孝喜, 前田平生。日本輸血細胞治療学会誌. 52:627-667, 2006. 査読無し。

Okubo M, Saito M, Inoku H, Hirata R, Yanagisawa M, Takeda S, Kinoshita K, Maeda H. Analysis of HLA-DRB1*0901-binding HPV-16 E7 helper T cell epitope. *J Obstet Gynaecol Res*. 30:120-129, 2004. 査読有り。

Matsumoto K, Yasugi T, Nakagawa S, Okubo M, Hirata R, Maeda H, Yoshikawa H, Taketani Y. Human papillomavirus type 16 E6 variants and HLA class II alleles among Japanese women with cervical cancer. Int J Cancer. 106:919-922, 2003. 査読有り .

〔学会発表〕(計 1 件)

子宮頸癌患者におけるヒトパピローマウイルス 16 型(HPV16)変異と HLA class II アレルとの関連 . 松本光司, 八杉利治, 中川俊介, 大久保光夫, 平田蘭子, 前田平生, 武谷雄二, 吉川裕之. 日本癌治療学会 . 2006 年 10 月 18 日 ~ 20 日 : 東京 .

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

前田 平生 (MAEDA HIROO)
埼玉医科大学・医学部・教授
研究者番号 : 30134597

(2) 研究分担者

大久保 光夫 (OKUBO MITSUO)
埼玉医科大学・医学部・准教授
研究者番号 : 40260781

(3) 連携研究者

竹田 省 (TAKEDA SATORU)
順天堂大学・医学部・教授
研究者番号 : 20143456

(4) 研究協力者

斉藤 麻紀 (SAITO MAKI)
埼玉医科大学・医学部
研究者番号 : 20301468