

利用成果報告書

- 1 課題番号 H28-K19
- 2 報告者 長岡 孝治 株式会社メディネット
- 3 利用区分 成果公開有償利用
- 4 利用課題名 腫瘍および、腫瘍内に浸潤した免疫細胞の遺伝子解析
- 5 使用装置名 MALDI-TOF MS質量分析装置/FACS Aria II セルソーター
- 6 利用期間 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

[背景]

がんが持つ遺伝子変異に対する免疫応答の誘導が注目されている。本研究ではマウス胃がん細胞株サブクローンYTN2, YTN16を使用して、これらの細胞株が持つ変異抗原に対するT細胞応答を検討した。またワクチン方法として樹状細胞(DC)ワクチンとペプチドワクチンを比較した。

[方法・結果]

YTN2, YTN16のエクソームシーケンスおよびマイクロアレイのデータから発現のある変異遺伝子を同定し、netMHCpanでMHCクラスIへの親和性の高い変異エピトープを予測した。IC50<200 nMと予測された152個のペプチドを合成してMALDI-TOF/MS質量分析装置を用いて確認をした。YTN2を拒絶したマウスの脾細胞をこれらの変異ペプチドで刺激することで、変異ペプチドに反応するCTLラインを22個樹立した。

7 利用成果・実績の概要

ワクチン方法の検討ではCTLの前駆細胞を増やすためにgp100特異的TCRトランスジェニックマウスpmel-1(Thy1.1+)脾細胞をあらかじめ移入しておいたマウスにhgp100ペプチドワクチンまたはhgp100ペプチドパルスDCワクチンを行った。フローサイトメーターでの解析の結果、CD8+Thy1.1+ T細胞はペプチドワクチンに比べてDCワクチンを接種したマウスで多かった。またペプチドワクチンでプライミングされたT細胞はDCワクチンに比べてPD-1などの抑制性レセプターを高発現した。これらのT細胞をセルソーターにより精製してマイクロアレイ解析を行った。コントロールとしてナイーブ pmel-1 CD8 T+細胞を使用した。ナイーブpmel-1CD8T+細胞に比べてワクチンでプライミングされたT細胞の遺伝子発現パターンは大きく変化していた。ペプチドワクチンとDCワクチンでプライミングされたT細胞の遺伝子発現は大部分が似ていたが、DCワクチンでプライミングされたT細胞はペプチドワクチンに比べて抑制性レセプターの発現が低いなどの特徴が認められた。

以上の結果から、ペプチドワクチンに比べてDCワクチンが優れていることが示唆された。今後、DCを用いて変異ペプチドのワクチンを行い、抗腫瘍効果を検討する。

- 8 社会・経済への波及効果 近年、腫瘍免疫にはがんの持つ遺伝子変異に対する免疫応答が重要であると言われている。本研究成果は、がんが持つ遺伝子変異に対する免疫応答を誘導する新しいがんワクチン治療の開発につながる重要なものであると考えられる。

9 学会等における口頭・ポスター発表

発表した成果(発表題目、口頭・ポスター発表の別)	発表者氏名	発表した場所(学会等名)	発表した時期	国内・外の別
DCワクチンはペプチドワクチンに比べて、増殖能が高いCTLを多く誘導し、高い抗腫瘍効果を示す。(口頭、ポスター)	長岡孝治、細井亮宏、飯野環、松下博和、垣見和宏	第20回日本がん免疫学会総会	H28.7.28	国内
ペプチドがんワクチンに対する樹状細胞ワクチンの優位性 (ポスター)	長岡孝治、細井亮宏、飯野環、松下博和、垣見和宏	第14回日本免疫治療学研究会学術集会	H29.2.11	国内
ネオアンチゲンワクチンの有効性の検討(ポスター)	長岡孝治、宮井まなみ、飯野環、木村真之介、高橋卓也、細井亮宏、松下博和、垣見和宏	第14回日本免疫治療学研究会学術集会	H29.2.11	国内

- 10 学会誌・雑誌等における論文掲載 該当無し