

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 田中 祐次

慢性骨髄性白血病 (Chronic Myelogenous Leukemia : CML) や一部の急性リンパ性白血病 (Acute lymphoblastic leukemia : ALL) に認められるフィラデルフィア染色体異常により形成される BCR/ABL 融合遺伝子は正常細胞には存在しないことから腫瘍特異的抗原になりうると考えられている。従来の治療法では十分な効果が得られない CML やフィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph+ALL) に対する新しい治療として BCR/ABL 融合蛋白質を標的とした免疫療法の応用が期待されており、今回の研究ではその基礎的検討として以下のことをおこなった。樹状細胞 (Dendritic Cell: DC) を用いた免疫療法を臨床応用するためには、BCR/ABL 融合蛋白質に対する細胞傷害性リンパ球(CTL) を樹立することが必要である。今回、未だ誘導されていない Ph+ALL に多い e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質に対する CTL の樹立を行なった。CML に認める b3a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質に対しての CTL は既に樹立されており、HLA-A*0201 や日本人に多い A*2402 などでの樹立が報告されている。この事を利用して CML 患者に対する DC を用いた免疫療法を計画している。DC を用いた免疫療法では末梢血由来の DC と単球をサイトカインを用いて樹立する単球由来樹状細胞 (Monocyte derived DC: MoDC) が利用されているが、現在どちらの抗原提示細胞がより臨床応用に適しているか分っていない。そこで CML 由来の DC と MoDC の比較検討を行なった。以下に研究結果の要点を示す。

1. e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質に対する CTL の誘導には BCR/ABL 融合遺伝子の切点を含む 17mer のペプチドを使用した。MoDC にペプチドを添加した細胞を刺激細胞とし自己のリンパ球を刺激する方法を用いた。その結果 CD4 陽性 T リンパ球が樹立できた。このリンパ球集団は e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質に対し特異的に反応し HLA DR*1501 に拘束されていた。また interferon γ を産生する Th1 型のリンパ球であった。今回未だ報告されていない e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質に対する T リンパ球を樹立した。

2. HLA DR*1501 を持つ別の健常人から 17mer のペプチドを添加した自己の MoDC を刺激細胞とし、限界希釈法を用いて CD4 陽性 T 細胞クローンを樹立した。樹立したクローンは e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質を特異的に認識し HLA DR*1501 に拘束された。さらに、e1a2 型 BCR/ABL ペプチドを提示する抗原提示細胞を特異的に殺した。従来知られている killing の機序である Fas/Fas ligand 系や perforin 系を阻害してもクローンの killing は阻害されないことから別の機序により killing している可能性がある。今回の誘導は健常人で行なったが、HLA DR*1501 を持つ Ph+ALL 患者からも CTL の誘導ができれば、この e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質を用いた免疫療法を臨床応用することが可能になると考えられた。
3. 慢性骨髄性白血病患者から DC を分離した。CML 患者では健常人に較べ明らかに少なかった。CML 患者由来 DC の細胞表面抗原は健常人と変わりはない。CML 患者由来の DC の数が少ないために CML 患者由来の DC を用いた機能の検討を行うことができなかったが、細胞表面抗原の解析の結果からは健常人の DC と比較して同程度の抗原提示能を有していると考えられた。
4. CML 由来未熟 MoDC と成熟 MoDC の比較検討を行った。CML 患者間で未熟 MoDC と成熟 MoDC の細胞表面抗原発現に差が認められた。これは CML 由来の細胞であることや、使用している薬剤などが関与している可能性が考えられる。未熟 MoDC と成熟 MoDC の抗原提示機能の実験結果では成熟 MoDC の方が未熟 MoDC よりも強い抗原提示能を有していると考えられた。
5. DC と MoDC の機能の比較を行ったが、CML 患者では得られる DC の数が少ないために MoDC との比較実験を行うことができなかった。健常人で行った比較実験の結果、未熟 MoDC と成熟 MoDC では大きな差が認められなかったが、DC では明らかに MoDC よりも強い抗原提示能が認められた。

今回の研究では BCR/ABL 融合蛋白質に対する免疫療法の基礎的検討として、未だ樹立されていない e1a2 型 BCR/ABL 融合蛋白質に対しての CTL の誘導を行うことで、極めて予後不良な Ph+ALL に対する新たな治療法の可能性を示した。そして、CML 患者に対して臨床応用を行う際の至適な抗原提示細胞の検討では、DC は強い抗原提示能を

有するものの CML 患者では得られる DC の数が少ないという問題があり、MoDC は十分な数の MoDC を樹立することができ CML 患者においても抗原提示能を持つ MoDC であるものの、やはり DC に較べて抗原提示能は劣ることが比較検討により判明した。

樹状細胞を用いた免疫療法は、腫瘍特異的な免疫反応を使って副作用の少ない新たな治療法として注目されている。今回の研究は今後の免疫療法の研究の発展に 重要な貢献をなすと考えられ学位の授与に値するものと考えられる。