

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 吉 浦 健 太

本研究は腫瘍免疫療法においてあらたな腫瘍関連抗原を探索しその役割を明らかにするために、樹状細胞療法により腫瘍縮小効果を得た悪性黒色腫患者の腫瘍組織および血清等を用いて腫瘍関連抗原の同定を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 本研究の基盤となった樹状細胞療法の臨床試験は、10名の悪性黒色腫患者に施行され、その結果2名の患者（患者8および9）に広範な壊死を伴う腫瘍壊死効果と1名の患者に腫瘍進行抑止効果を得たものである。本研究ではまず患者9の治療前後の血清と同患者の腫瘍蛋白の反応をウェスタンブロット法で検討したところ、治療前にはなく治療後の血清に抗体が出現した分子量29 kDの蛋白と、治療前後の両方の血清に抗体が存在する分子量47 kDの蛋白の存在が示された。
2. 29 kD 蛋白を発現する細胞を、種々の細胞株や血液細胞から患者血清を用いたウェスタンブロット法で探索したところ、赤血球に豊富に存在していたため、赤血球の蛋白を二次元電気泳動により展開し、患者血清と反応する29 kD蛋白を単離した。この蛋白は、マトリックス支援イオン化-飛行時間型タンデム質量分析法により、II型炭酸脱水酵素（CA-II）と同定された。10名の悪性黒色腫患者における抗 CA-II 抗体を検討したところ、治療効果のあった3名にのみ治療による抗体価の上昇がみられた。すなわち樹状細胞療法の効果と抗 CA-II 抗体の誘導が関連する可能性が示された。
3. 47 kD 蛋白について、HeLa 細胞から同様の手法で単離し質量分析法で解析したと

ころ、アルファ - エノラーゼと同定された。血清抗アルファ - エノラーゼ抗体は悪性黒色腫患者 10 名中 7 名に陽性であったが治療による抗体の誘導は明らかでなかった。

4. 治療効果と関連が示唆された CA-II について、その発現を免疫組織化学で検討したところ、抗体誘導が顕著であった患者 9 の腫瘍組織において、腫瘍細胞には発現を認めず腫瘍血管内皮細胞に発現を認めた。なお正常組織の血管内皮細胞には発現を認めなかった。腫瘍血管内皮細胞における CA-II の発現は、この患者の腫瘍だけでなく、食道癌、腎細胞癌、および肺癌においても認めた。
5. CA-II が正常血管ではなく腫瘍血管の内皮細胞に発現する機序について、イン・ビトロ血管新生モデルを用いて検討された。すなわちヒト臍帯静脈内皮細胞をマトリゲル上で 3 次元培養をおこない、定量的 RT-PCR 法で CA-II mRNA の発現を検討した。このモデルにおいて腫瘍環境の特徴である酸性培地 (pH 6.8) かつ低酸素 (2% 酸素) 条件が CA-II の発現を誘導することが示された。

以上、本論文は腫瘍血管内皮細胞関連抗原として II 型炭酸脱水酵素を同定した。臨床検体において腫瘍血管内皮細胞に腫瘍関連抗原が発見されたことは画期的であり、本研究は腫瘍免疫療法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。