

[課程—2]

審査の結果の要旨

氏名 足立 克之

本研究はヒトの子宮頸癌前癌病変に対する治療ワクチン開発に繋がる基礎研究である。子宮頸部前癌病変に発現する E7 蛋白を標的とした乳酸菌ワクチンをマウスに経口投与し子宮頸部粘膜局所での粘膜免疫応答について解析し、下記の結果を得ている。

1. マウス腸管粘膜リンパ球が子宮頸部へ帰巢すると考えられる根拠を確認することを目的とし、腸管粘膜リンパ球のフェノタイプをフローサイトメトリーで分類したところ、腸管粘膜リンパ球の約 90%はインテグリン  $\alpha 4 \beta 7$  陽性であった。

2. 経口投与薬剤として変異型 E7 蛋白発現死菌化乳酸菌ワクチンを調製した。変異を加えることで発癌性を失わせ、抗原性は維持し、LacE7 と名付けた。乳酸菌をマウスに経口投与し、粘膜での Th1 免疫応答細胞に対する効果を評価するために、粘膜リンパ球中の IFN  $\gamma$  産生細胞数を ELISPOT アッセイで分析すると乳酸菌を経口免疫したことで IFN  $\gamma$  産生 Th1 免疫応答細胞の数は増加した。

3. マウスにおいてHPV16 E7のエピトープとして知られているアミノ酸配列でペプチドを合成し、E7特異的Th1免疫応答を評価するためのE7特異的な刺激物として使用し、ELISPOT アッセイを行ったところ、E7特異的IFN  $\gamma$  産生Th1免疫応答細胞数は、LacE7投与群では有意に増加した。またLacE7を感作投与したことでE7特異的IFN  $\gamma$  産生Th1免疫応答細胞が増加するだけでなく追加経口投与（Boost投与）でさらに増加した。

5. 乳酸菌をマウスに経口投与し、粘膜での細胞傷害性免疫応答に対する効果を評価するために、粘膜リンパ球と脾臓リンパ球中の E7 特異的 granzyme B 産生免疫応答細胞を ELISPOT アッセイで分析し、CTL アッセイで細胞傷害活性をみたところ E7 特異的 granzyme B 産生免疫応答細胞も腸管粘膜リンパ球中、脾臓リンパ球中と共に大きく増加した。

6. 粘膜免疫におけるワクチン投与経路の役割について報告するために、LacE7を経口投与した場合の局所粘膜や全身での免疫応答と筋注、皮下注投与のそれらとを比較した。LacE7の経口投与群では粘膜リンパ球においてE7特異的Th1免疫応答細胞数が増加した。E7特異的粘膜細胞性免疫応答の誘導のための最も効果的な免疫投与経路は経口であった。

以上、本論文によって、マウスに対して乳酸菌ワクチンを経口投与し子宮頸部粘膜における局所の細胞性免疫を誘導しうる可能性が示された。子宮頸癌にマウスモデルが存在しないために、本研究では実際の抗腫瘍効果を直接みることができないという限界があるものの、標的組織である子宮頸部粘膜での Th1 免疫応答細胞を活性化させる機序を示したことは大変重要なことである。今後、ヒトでの臨床試験を待たなければならないが、本論文はヒトの子宮頸癌前癌病変に対するワクチン治療にとって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。