

審査の結果の要旨

氏名 ムルワンティ レトノ

「Prevention of Experimental Colitis-associated Colorectal Carcinogenesis by Vaccination with MUC1 DNA (MUC1 DNA ワクチンによる大腸発癌の抑制)」と題する本論文では、ヒトの癌抗原であるムチン1 (MUC1) のトランスジェニックマウス (Tg) において、変異原である発がん物質と炎症惹起物質の投与で大腸に誘導された腫瘍組織に MUC1 が発現すること、MUC1 DNA と樹状細胞を混合したワクチンにより発がんが抑制されること、このワクチンにより MUC1. Tg において MUC1 特異的な T リンパ球が増殖及び活性化していること、の三つの重要な発見が述べられている。それぞれが、一つの章になっており2、3、及び4章をなし、その他に全体を通しての序論 (1章) と結論 (5章) が述べられている。

第1章の序論では、大腸がんとその治療について、MUC1 という腫瘍抗原について、及び大腸発がんモデルについて、背景が述べられている。重要な点は、ワクチンによって発がんを抑制する研究は前例が少なく、再現性や定量性の高い結果が得られれば非常に価値が高いと予想されたことである。

第2章では MUC1. Tg に発がん物質であるアゾキシメタンを腹腔内投与した後、デキストラン硫酸ナトリウム塩 (DSS) を繰り返し経口投与して大腸に炎症を惹起し、それによって腫瘍を形成させる条件を最適化し、高い再現性を得たことが述べられている。最初のアゾキシメタン投与後69日目に見られた平均腫瘍数は11.25個、腫瘍径は3.5mmであった。ヒト組織では MUC1 は多くの器官の腺上皮に発現しており、がん化した腺上皮ではグリコフォームが異なることが知られている。また腸管では発現が見られないが、大腸がんでは高頻度で発現する。MUC1. Tg における MUC1 の発現分布はヒトにおけるそれと一致するが、腸管に腫瘍を形成させて MUC1 の発現と分布を検証した例は今までなかった。上記の最適化された条件で、MUC1. Tg に発癌物質と炎症惹起物質を投与することにより大腸に腫瘍を発生させ MUC1 の発現を検証した。遠位に多発する腫瘍は扁平上皮異型の形態を示し、100%の細胞に対して高い抗 MUC1 抗体の結合性が見られ、種々のグリコフォームに特異的な抗体がいずれも結合した。これに対して近位に多発した腫瘍は組織学的には腺腫様の形態を示し、抗 MUC1 抗体の結合は80-90%の細胞に対して結合性があったが、細胞により染色度は多様で濃淡があった。これらの結果より、この炎症を伴う発がんモデルで MUC1 を標的とするワクチンによる発がん抑制が可能であると判断した。

第3章では、この炎症を伴う発がんモデルにおいて、あらかじめ MUC1 DNA を含むプラスミドを骨髄由来樹状細胞と混合して投与した際の腫瘍の数と大きさについて調べた結果が述べられ

ている。MUC1 DNA を含むプラスミド 100 μg と 10^5 の樹状細胞を投与すると、コントロールプラスミドと樹状細胞を投与した群に比して、腫瘍を持つ個体数が 100% から 62.5% に減少した。マウスあたりの腫瘍数及び腫瘍がある場合の腫瘍サイズにも有意な減少が見られた。他のコントロールグループとして、ワクチン否投与、コントロールプラスミド、MUC1 DNA のみ、樹状細胞のみも用いたが、いずれも効果が見られなかった。MUC1 DNA と樹状細胞のワクチンの投与を受けたマウスに腫瘍が発生したケースでは、抗原である MUC1 の発現が腫瘍細胞において低下、または消失したために拒絶されなかったという可能性を、これらの腫瘍における MUC1 発現を比較することによって検証した。上記の様に扁平上皮異型の形態を示す腫瘍には MUC1 が高発現であり腺腫様の腫瘍では MUC1 の発現が多様でまだらであったが、何れのケースでも免疫した個体における腫瘍の形成は見られ、また MUC1 発現レベルが変化したり MUC1 を発現しない細胞数が増加するという事はなかった。以上から、ワクチン投与を行った個体に発生したがんを形成しているがん細胞免疫回避バリエーションではないことが明らかになった。

第 4 章では実際に MUC1 特異的な免疫応答が起きているかどうかを免疫学的方法で検証した結果が述べられている。まず、DNA ワクチンの投与により炎症が抑制された、すなわち自然免疫が抑制されたことによって腫瘍形成が阻害されたとの可能性について可否を問うため、上記と同じ条件でプラスミドの投与を受けたマウスに DSS のみを投与し、腸管における炎症の重篤度を比較した。その結果 MUC1 DNA と樹状細胞のワクチンを投与されたマウスにおいて影響が見られないことを確認した。ワクチンを投与したマウス中の MUC1 に結合活性を持つ免疫グロブリン量を定量すると、結果 MUC1 DNA と樹状細胞を投与したグループではその他のグループに比して有意に高レベルが検出された。また、エリスポットアッセイにより MUC1 に応答して IFN- γ を産生する細胞数が有意に増加していた。従って、MUC1 特異的な免疫応答によって、変異原である発がん物質と炎症惹起物質の投与で MUC1. Tg の大腸に誘導された腫瘍細胞が拒絶されたことが確実と考えられた。

以上の様に本研究では、がん患者において免疫応答が見られることがありその事がより良い予後と相関することが知られているがん抗原である MUC1 を、ヒト MUC1 プロモーターによって発現するトランスジェニックマウスにおいてワクチンによる発がんの抑制に成功した。用いたワクチンは MUC1 DNA と骨髄由来樹状細胞を混合したもので、類似のものをヒト用に容易に作成できる。また、ヒトにおいて MUC1 が正常上皮には発現しないががん組織には発現することが知られている臓器である大腸において、変異原である発がん物質と炎症惹起物質の投与種類の異なる複数の腫瘍が発生し、これらの細胞において MUC1 が発現することを初めて確認した。これらの結果はいずれも極めて新規性が高くまた前臨床研究として高いインパクトを持つものである。研究内容は、腫瘍学、免疫学、がん治療学、糖鎖生物学などに大きく寄与し、本研究を行った ムルワンティ、レトノ は博士（薬学）の学位を得るにふさわしいと判断した。