

論文内容の要旨

論文題目：胸腺髄質上皮細胞において異所的に

発現する癌関連抗原の抑制による癌免疫強化

氏名：大島 大輔

【緒言】

癌は現在の日本における死因の第1位に挙げられており、この疾患を克服するため外科療法、化学療法、放射線療法、そして免疫療法が開発されてきた。この中で、癌免疫療法はヒトの体が持つ免疫系を惹起して癌を克服する新しい手法として注目されている。しかしながら、これまで免疫賦活剤をはじめ、サイトカイン療法などさまざまな癌免疫療法の手法が開発されてきたにも関わらず、有効な治療成果を挙げた例はほとんど無い。

癌細胞に対して免疫系が惹起されるためには、癌細胞で特異的な発現を示すタンパク質である癌関連抗原をT細胞が認識しなければならない。つまり個体が有するT細胞レパトアの中に癌関連抗原を認識できるT細胞クローンが存在する必要がある。個体のT細胞レパトアの多様性を決定する現象の1つとして、胸腺における負の選択が知られている。負の選択とは、自己に対する免疫応答を防ぐために、自己抗原を認識するT細胞を除去する仕組みである。この負の選択には胸腺の髄質領域が重要な働きをしている。胸腺の髄質上皮細胞は、本来特定の末梢組織にのみ発現する組織特異抗原を異所的に発現しており、自己を認識するT細胞クローンを直接的に、あるいは髄質領域に存在する樹状細胞を介して間接的に除去していると考えられている。

一方で、ヒト胸腺の髄質上皮細胞では組織特異抗原とともに、癌関連抗原が発現していることが明らかになってきている。すなわち胸腺では髄質上皮細胞が癌関連抗原を発現することで、その抗原を認識するT細胞クローンを除去していると考えられる。したがって胸腺において癌応答性のT細胞が除去されるために、末梢の癌細胞の増殖を抑制することができない可能性が考え

られる。

そこで末梢の癌を抑制するためには癌関連抗原に対応した T 細胞クローンを増大し、癌免疫を強化する必要があると考えた。その手法として胸腺の髄質上皮細胞において異所的に発現する癌関連抗原の遺伝子発現を抑制することを考案し、本研究ではその基礎的な検討を行った。(図 1)

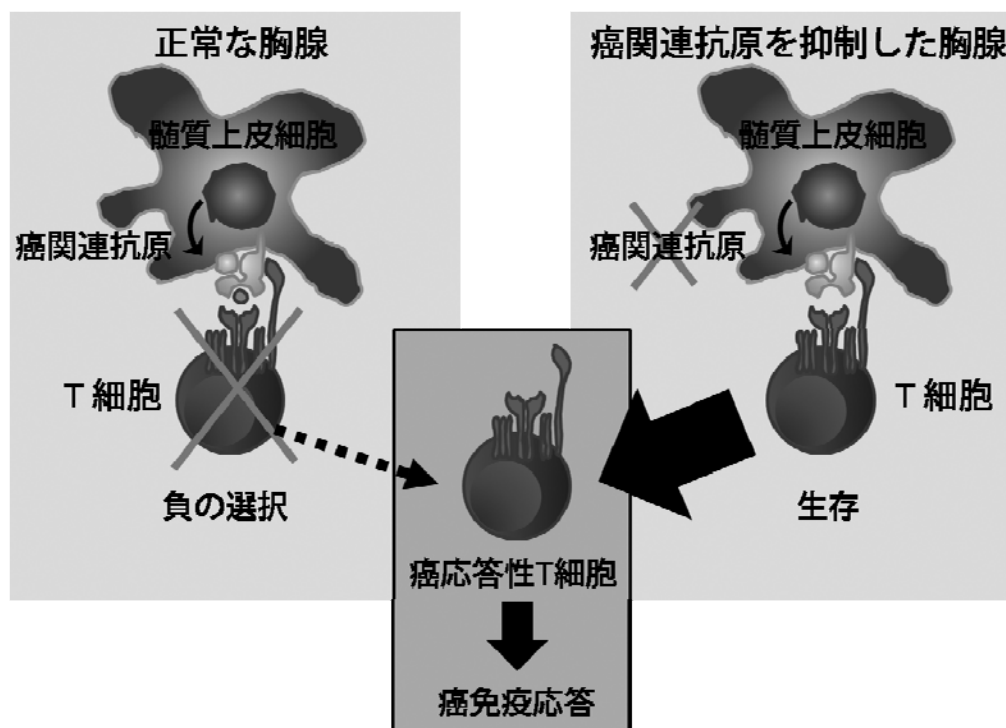


図 1：本研究の概念図

胸腺の髄質上皮細胞において異所的に発現する癌関連抗原によって癌応答性の T 細胞が負の選択を受けていると考えた。胸腺における癌関連抗原の発現を抑制することで、癌に対する T 細胞クローンを増やし、癌免疫を強化できると考えた。

【方法と結果】

本研究では、胸腺髄質の分化に関わるシグナル伝達分子 TRAF6 の欠損マウスを用いた。このマウスの胸腺は髄質上皮細胞の分化に異常があり、またほとんどの組織特異抗原の遺伝子発現が低下していることが報告されている。そこで、1) TRAF6 欠損胸腺において組織特異抗原と共に癌関連抗原の発現が低下しているのか検討し、さらに 2) 胸腺上皮で TRAF6 が欠損することで、癌を抑制する効果があるのか、そして、3) T 細胞による癌免疫応答が上昇しているのか検証した。

野生型と TRAF6 欠損マウスの胸腺において様々な癌関連抗原の mRNA 発現量を半定量 RT-PCR 法で比較した。その結果、*sart3* などでは発現量に変化がなかったものの、*trp-2*、*oy-ms-4*、*gp100* の 3 つの遺伝子の発現量が減少していた (図 2)。この結果は、TRAF6 欠損胸腺で、一部ではある

が癌関連抗原に応答する T 細胞レパトアが増大している可能性を示している。

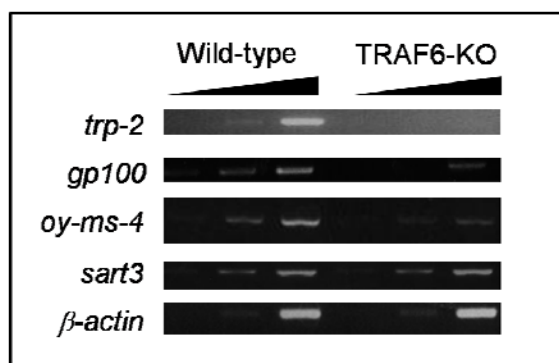


図 2：胸腺における癌関連抗原の遺伝子発現の比較

14 日齢の野生型と TRAF6 欠損マウスの胸腺から RNA を抽出し、cDNA を調製した。cDNA を 10 倍段階希釈し、鋳型として半定量 RT-PCR を行った。PCR 産物はアガロースゲル電気泳動で分離し、撮影した。

次に、胸腺上皮で TRAF6 が欠損することにより、癌の形成が抑制できるのか調べた。マウス胎仔胸腺を器官培養することで、リンパ球など造血幹細胞由来の細胞を除いた胸腺ストローマを調製することができる。そこで野生型と TRAF6 欠損マウス (Balb/c) の胎仔胸腺から調製した胸腺ストローマを、胸腺を持たない Balb/c ノードマウスに移植した (以下、キメラマウスと呼ぶ)。このキメラマウスに、Balb/c マウス由来繊維芽肉腫の一種である Meth-A を皮下移植後、腫瘍塊の大きさを測定した。その結果、野生型キメラマウスと比較して、TRAF6 欠損キメラマウスでは腫瘍塊の形成が有意に抑制された (図 3)。

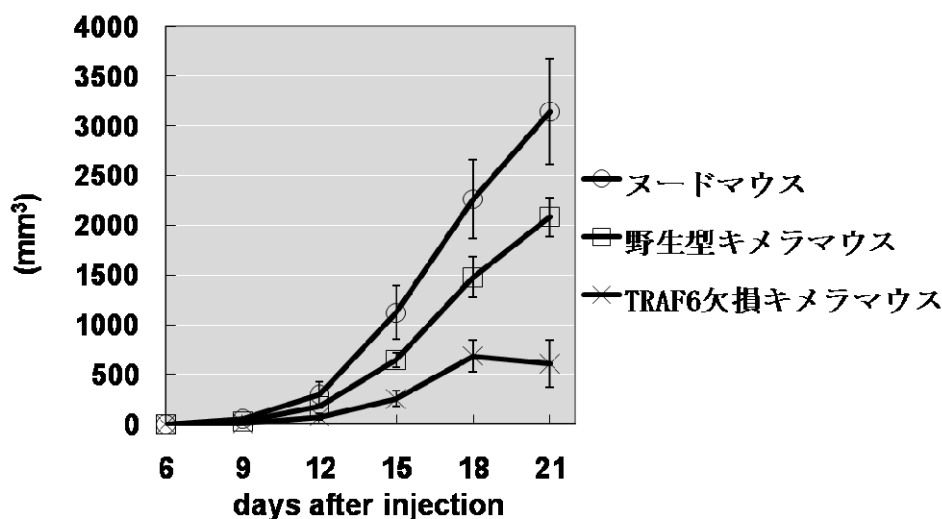


図 3：各キメラマウスにおける腫瘍サイズの比較

ノードマウス (○), 野生型キメラマウス (□), TRAF6 欠損キメラマウス (×) に Meth-A 細胞 (5×10^6 cells) を左腹の皮下に移植した。移植後、3 日おきに腫瘍の大きさを測定した。

続いて、癌細胞に対する T 細胞の活性化について検討した。上記のキメラマウスの脾細胞を用いて細胞傷害性 T リンパ球(Cytotoxic T Lymphocyte: CTL)アッセイを行った。その結果, TRAF6 欠損キメラマウスでは移植に用いた Meth-A に対する CTL の活性が高いことが判明した (図 4)。また対照群の線維芽細胞に対する CTL の活性に差は見られなかった。さらに, Meth-A に対する抗体がキメラマウスの血清中で上昇しているか調べるために, キメラマウスの血清を用いて Meth-A を免疫染色した。その結果, TRAF6 欠損キメラマウスの血清では野生型キメラマウスと比較して Meth-A を強く染色した。したがって TRAF6 欠損キメラマウスの方が Meth-A に特異的なヘルパー T 細胞の活性が亢進し, 抗体産生量が上昇していると考えられる。

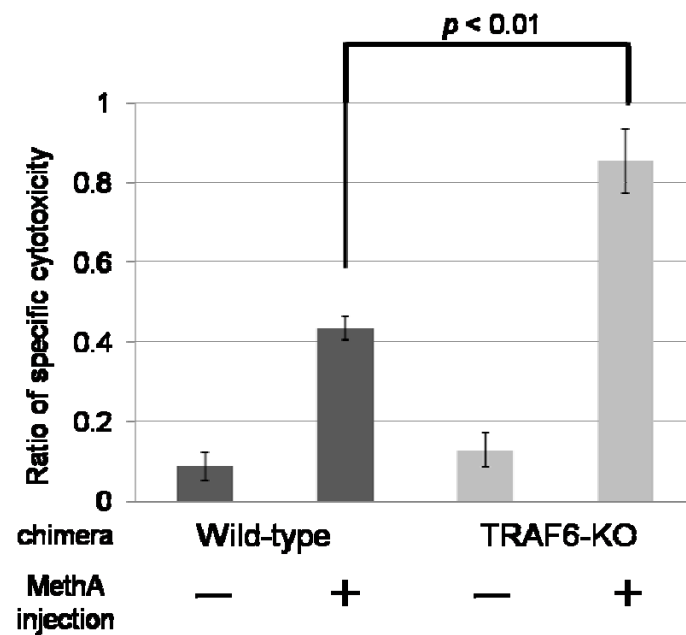


図 4 : CTL アッセイの結果

野生型と TRAF6 欠損キメラマウスで Meth-A を移植した群と移植していない群で CTL の活性を比較した。マウスの脾臓細胞から調製した CTL と標的細胞である Meth-A を 8:1 の細胞数の割合で 5 時間培養し, 培養液中の LDH 放出量を測定した。

【結語】

これらの結果から, TRAF6 欠損胸腺において癌関連抗原を認識する T 細胞クローンの多様性が増大していることが示唆された。したがって胸腺の構築異常に依存的した T 細胞の免疫応答を癌細胞に対して誘導することができるということを示している。