

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称 博士 (医 学) 氏名 京極 典憲

学位論文題名

CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法における IgG サブクラスおよび IgE 抗体反応の重要性についての研究

(Time-dependent transition of the immunoglobulin G subclass and immunoglobulin E response in cancer patients vaccinated with cholesteryl pullulan (CHP)-MAGE-A4)

【背景】難治性悪性腫瘍に対する集学的治療成績を改善するため、1970年代より宿主の免疫反応を用いたがん免疫療法が開発されてきた。1991年に Boon Tらにより Tリンパ球に認識される腫瘍抗原が同定されると、これらを標的抗原とするがんワクチン療法が開発された。これまでに多くのがんワクチン療法の臨床試験が行われており、北海道大学大学院消化器外科学分野 IIでも癌精巢抗原である Melanoma antigen-A4 (MAGE-A4) を標的としたがんワクチン療法の第 I+II 相臨床試験を施行した。しかし、多くの試験では腫瘍抗原に特異的な免疫反応は高率に誘導されるものの、抗腫瘍効果は乏しかった。その原因として様々な免疫回避機構の関与が報告されているが、詳細な機序は充分には解明されていない。がんワクチン療法の治療成績向上のためには免疫回避機構の解明が必要であり、本研究はその中の一つである T cell helper (Th) 1/Th2 バランスに着目し検討した。

【目的】MAGE-A4 と Cholesteryl pullulan (CHP) の複合体 (CHP-MAGE-A4) を用いたがんワクチン療法により誘導される免疫反応と、抗腫瘍効果の関連について検証する。

【材料と方法】CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法 (第 I 相試験) を行った 9 例を対象に以下の 4 項目を検討することとした。① 切除検体の MAGE-A4 と HLA class I の発現を免疫組織化学染色にて検証する。② ワクチン投与による免疫反応誘導の有無を検証するために、抗 MAGE-A4 特異的な抗体反応の推移を enzyme-linked immuno-sorbent assay (ELISA) 法にて解析する。③ MAGE-A4 の抗原性を解明するために、317 アミノ酸からなる MAGE-A4 タンパクのオーバーラッピングペプチドを用いた ELISA 法にて抗体エピトープを検索する。④ 抗 MAGE-A4 特異的な IgG サブクラス・IgE 抗体反応を ELISA 法にて検出することで Th1/Th2 バランスの推移を解析し、その臨床的影響を検証する。

【結果】① MAGE-A4 の染色部位は様々であったが細胞質が多く染色される傾向がみられた。HLA class I の染色強度も様々であったが HLA class I の発現消失例は認めなかった。MAGE-A4・HLA class I の免疫染色態度と抗腫瘍効果に有意な相関は認めなかった。② 抗 MAGE-A4 抗体価の上昇は 7/9 例と高率に認められたが、抗体反応の有無と抗腫瘍効果に有意な相関は認めず、むしろ最も長期生存が得られた症例の抗体価の上昇は軽度であった。③ 抗 MAGE-A4 抗体反応を認めた 5 例の抗体エピトープを検索した。5 例中 3 例は p232-251 に、2 例は p22-51 に強い抗体反応を認め、複数の患者に共通する抗体エピトープが含まれる 2 領域が同定された。④ ②において抗 MAGE-A4 抗体反応が陽性であった 7 例は、全例で Th1 系である IgG1 抗体価の上昇がみられた。また 4 例はワクチン投与後に Th2 系抗体反応 (IgG4, IgE)

が陽転化し、この4例中2例に特徴的な臨床経過がみられた。1例はIgG4抗体価の上昇と同時期に新規再発病変が出現した。他の1例はIgG1抗体価が急激に上昇した際にワクチン投与部末梢側の水疱形成を認め、またIgE抗体価が最高値を呈した際にワクチン投与前の皮内テストで即時型のアレルギー反応を認めた。

【考察】がんワクチン療法における治療反応性が良好である指標として、腫瘍細胞でのHLA class Iの高発現や、腫瘍抗原に特異的な抗体反応誘導が報告されている。本検討ではHLA class Iの発現強度、および抗体反応誘導の有無と、抗腫瘍効果についてはいずれも関連性は認めなかった。特異的な免疫反応は7/9例と高率に誘導されたものの抗腫瘍効果が乏しかった原因として、がんワクチンに対する免疫不応性、腫瘍特異的cytotoxic T lymphocytes (CTL)の誘導・分化障害、制御性T細胞の存在、Th1 / Th2バランスなどの様々な腫瘍免疫回避機構の関与が報告されている。本研究ではその中のTh1 / Th2バランスに着目し、効率的な免疫治療を開発すべく液性免疫誘導のメカニズムを検証した。

CTLの活性化にはThの活性化が必要だが、Thの機能は多岐にわたりサイトカイン環境によっては腫瘍免疫を抑制する。Th1系は腫瘍免疫を含む細胞性免疫、およびIgG1, IgG2, IgG3の産生に関与し腫瘍免疫を活性化する。一方、Th2系はアレルギー反応を含む液性免疫、およびIgG4, IgEの産生に関与する。2013年にKaragiannis Pらは悪性黒色腫患者におけるTh2優位な環境やIgG4の存在が腫瘍免疫を抑制し生存率を下げることを報告した。本研究ではCHP-MAGE-A4投与により主にTh1系抗体反応が誘導されたが、複数回のワクチン投与後にTh2系抗体反応が陽転化した症例が存在した。臨床効果はTh2系反応を認めなかった5例がSD:3例, PD:2例, Th2系反応を認めた4例はSD:1例, PD:3例であった。過去のがんワクチン療法において過度の免疫反応誘導を認めた症例で重篤な有害事象を認めたとの報告があり、本研究においても1例は急激な抗体価の上昇と同時に水疱形成をきたし、さらにTh1系抗体反応が著明であった2例ではIgG4とIgEの両抗体反応を認めた。また1例でIgG4の上昇と同時に腫瘍マーカーが上昇し新規病変が出現するなど、過去の報告と同様の傾向を呈した。以上よりTh2系反応の陽転化が病勢進行に関与している可能性が示唆された。

最後に、オーバーラッピングペプチドを用いた解析にてHLA typeの異なる患者間で共通の抗体エピトープが含まれる2領域(AA22-51, AA232-251)を同定した。AA232-251は過去に報告されたHLA-A0201拘束性のCTLエピトープであるAA230-239を含んでおり、MAGE-A4タンパク中で抗原性が高い部位であるといえる。他の癌精巣抗原であるNY-ESO-1では、抗体・CTL・Th全てに認識されるHLA非拘束性の多重エピトープが同定されペプチドワクチンとして使用されている。今回MAGE-A4でもCTLエピトープと重複するHLA非拘束性の抗体エピトープが確認されたため、今後のさらなるエピトープ解析により汎用性の高いMAGE-A4ペプチドワクチンが作成できる可能性がある。

【結論】CHP-MAGE-A4投与により抗MAGE-A4特異的な抗体反応が誘導された。MAGE-A4の抗体エピトープが含まれる2領域(AA22-51, AA232-251)を同定した。複数回のワクチン投与後にTh2系抗体価が陽転化した症例が存在した。頻回のワクチン投与はTh2優位な環境を誘導し免疫状態を抑制する可能性があり注意を要する。IgGサブクラス・IgE抗体反応は抗腫瘍効果のマーカーのみならず、腫瘍免疫の抑制状態を示す代理マーカーである可能性があり、ワクチン投与継続の可否の判断材料となりうる。したがって、腫瘍免疫の機序を解明するためにがんワクチン療法に伴うIgGサブクラスおよびIgEを経時的に測定することは重要である。