

P-49 MUC1 mucin の PDTR sequence に対するモノクローナル抗体を使用した fluorescence-activated cell sorter (FACS) による卵巣癌/乳癌細胞株に発現する MUC1 抗原構造の解析

島根医大

大西雄一, 柳光寛仁, 坪倉かおり, 宮崎康二

【目的】腫瘍関連抗原 MUC1 に対する抗体の多くは PDTR の位置に対して結合する。その結合は抗体間で大きく異なり、各抗体の epitope 自体の違いだけでなく MUC1 構造を修飾する糖鎖の関与が推定されている。これまで PDTR 内の threonine (T) は glycosylation を受けにくいと考えられて来たが最近 O-glycosylation されている可能性が示された。そこで免疫源の異なる PDTR に対する MUC1 抗体のいくつかを使用し、卵巣癌/乳癌細胞株上に発現する MUC1 の抗原構造を特に糖鎖に関して解析することを目的とした。【方法】合成 core-MUC1 peptide に対する VU-4-H5, N-acetylgalactosamine 付加合成 MUC1 peptide に対する VU-2-G7, 乳癌細胞株 ZR-75-1 細胞膜に対する VU-3-C6 およびヒト乳癌細胞膜に対する 139H2 の結合細胞率を MUC1 を発現するヒト卵巣癌株 Caov-3, Caov-4, 乳癌細胞株 ZR-75-1, T-47D を使用し、FACS を用いて検討した。【成績】MUC1 抗体が結合した卵巣癌細胞の陽性率は 60% 以下であったが乳癌細胞は VU-4-H5 をのぞき 70-80% の陽性率を示した。VU-4-H5 は ZR-75-1 には 67% の陽性細胞率を示したが卵巣癌では 20% 以下の陽性率であった。VU-2-G7 は卵巣癌では約 60% の陽性率で最も高率であった。VU-2-G7 は VU-4-H5 に比べ VU-3-C6 と 139H2 の陽性率に近い陽性率を示した。【結論】卵巣癌細胞上に発現する MUC1 は VU-2-G7 に対する結合率が乳癌のそれに比較して高いことより MUC1 の糖鎖による修飾が卵巣癌と乳癌では異なっていることが示唆された。VU-4-H5 に比べ VU-2-G7 の結合が卵巣癌/乳癌細胞株で高率であったことより、VU-2-G7 の免疫源である糖鎖付加 MUC1 peptide は癌細胞膜上に発現する MUC1 に構造が近似していることが示唆された。

P-50 エリスポットアッセイを用いた腫瘍抗原特異的 T 細胞の頻度解析

三重大附属病院¹, 三重大²

奥川利治¹, 西浦啓助², 谷田耕治², 小畑英慎¹, 豊田長康¹

【目的】癌ワクチン療法の効果として、腫瘍特異的免疫応答、特に T 細胞の反応を評価することが必要となる。エリスポットアッセイは細胞レベルでのサイトカイン産生を検出する方法で、免疫後の特異抗原に対するサイトカイン産生 T 細胞の頻度を解析できる。我々はこれまで原癌遺伝子 HER2 由来ペプチド HER2p63-71 が HLA-A2402 拘束性・HER2 特異的ヒト CTL を誘導できる腫瘍抗原であり、また疎水化多糖類・HER2 蛋白質複合体 (CHP-HER2) 付加樹状細胞において、HER2p63-71 が MHC クラス I 分子上に提示されることを報告してきた。今回、エリスポットアッセイを癌ワクチンの効果の評価に応用できるかを、HER2p63-71, CHP-HER2 を用いて検証した。【方法】HLA-A2402 陽性健康人末梢血 CD8+ T 細胞または単核球をそれぞれ HER2p63-71 または CHP-HER2 付加樹状細胞で 0-2 回感作し、キラー細胞を誘導。各細胞中の HER2p63-71 反応 CD8+ T 細胞の頻度を測定した (ペプチド付加 T2/A24 細胞を標的とし、標的細胞が放出する IFN- γ を免疫染色したスポットとして計測)。【成績】1, 2 回と免疫回数を重ねることに HER2p63-71 付加 T2/A24 細胞に対するスポットの数が増加したが、対照である HER2p780-788 に対しても非特異的反応が増強した。単核球をエフェクターとし CHP-HER2 付加樹状細胞を用いて誘導したキラー細胞は、HER2p63-71 にのみ特異的反応を示したが、対照である HER2p780-788 には反応を示さなかった。【結論】エリスポットアッセイを実際に行うにあたっては非特異的反応をいかに低く抑えるかが重要である。エリスポットアッセイを用いてペプチド特異的キラー細胞の検出が可能であったが、検出感度に関しては、更に検討が必要と思われた。

14
日
(月)
ポ
ス
タ
ー

P-51 卵巣癌患者の腹水による腹膜中皮細胞上膜型ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPPIV/CD26) の誘導

名古屋大

梶山広明, 吉川史隆, 井寛一彦, 前田 修, 水谷栄彦

【目的】ジペプチジルペプチダーゼ IV (DPPIV) は細胞膜型アミノペプチダーゼで、様々な生理活性ペプチドを基質に持ち、癌化や癌の進展に関与しているとの報告がある。また卵巣癌の腹水中には多様な生理活性ペプチドやサイトカインが存在し、癌細胞と腹膜中皮との間の相互作用において重要な役割を果たし、癌の播種・進展に影響している。そこで今回我々は、腹膜中皮における DPPIV の発現と卵巣癌患者の腹水によるその影響について検討した。【方法】同意の元に得られた卵巣癌患者の大網から中皮を分離培養後、その DPPIV 酵素活性を調べ、免疫細胞染色にて局在を確認した。卵巣癌で癌性腹膜炎の患者から採取した腹水を中皮細胞に添加培養し DPPIV 発現の変化を酵素活性、フローサイトメトリー、及びノーザンブロットにて調べた。【成績】(1) 中皮の DPPIV 活性は他のアミノペプチダーゼ活性に比較して高値を示し、細胞膜周囲で染色陽性であることを確認した。(2) 中皮に 10% 以上の腹水を添加したところ、24 時間以上の培養時間で DPPIV 活性は有意に増加した。(3) 腹水を様々な分子量分画に分離して添加したところ、3kDa 以下の分画の添加により無添加群と比較して酵素活性で 1.6 倍、蛋白レベルで 2.1 倍、mRNA レベルで 3.1 倍の DPPIV の発現増強を認めた。【結論】ヒト腹膜中皮は高レベルの DPPIV 活性を有し、その発現は卵巣癌患者の腹水、特に分子量 3000 以下の分画によって増強されることを示した。DPPIV は腹水中の様々な生理活性ペプチドを代謝、分解することによって、ペプチドを介する中皮と腫瘍細胞との相互作用に影響を及ぼしている可能性が示唆された。