

## 山田 裕希 氏の学位論文審査の要旨

### 論文題目

スキルス胃癌の cDNA マイクロアレイ解析により同定された癌関連抗原 SPARC を標的とした癌免疫療法の開発

(The development of effective cancer immunotherapy targeting SPARC identified by cDNA microarray analysis of human diffuse gastric cancer)

癌免疫療法は、免疫機構を利用して癌の増殖を抑制する標的療法であり、適切な標的を設定することにより効率よく癌細胞を攻撃し、排除することが可能になると考えられている。本研究は、スキルス胃癌と正常胃組織の cDNA マイクロアレイ解析により同定された SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine) による細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導をマウスを用いた動物実験により検討し、SPARC を標的とした癌免疫療法の可能性を探ることを目的として行われた。

cDNA マイクロアレイ解析により、スキルス胃癌において高発現する癌関連抗原遺伝子の1つとして、SPARC が同定された。そこで、95%の相同性を有するヒトとマウスの SPARC において、ヒト HLA-A24 およびマウス H2-K<sup>d</sup> に共通して高い親和性を持つと予想される構造モチーフを有するペプチドを、BIMAS 解析ソフトウェアを用いて検索し、アミノ酸配列がヒトとマウスで共通している4種類のペプチドを選び合成した。BALB/c マウスに、これらのペプチドを負荷した骨髄由来樹状細胞 (BMDC) を投与することにより、各ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導ができるかどうかを IFN $\gamma$ -ELISPOT 法、および <sup>51</sup>Cr 放出試験により検討した。さらに、BALB/c マウスに SPARC ペプチドを負荷した BMDC を投与した後に、マウス SPARC を高発現するマウス乳癌細胞株 N2C を皮下接種し、抗腫瘍効果を検討した。また、組換えマウス SPARC タンパクを免疫したラット脾細胞と P3U1 細胞を融合させ、マウス SPARC 対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマ8クローンを樹立した。N2C を乳腺皮下に接種した BALB/c マウスに、それらのハイブリドーマを BALB/c-nu/nu マウスに腹腔内移入し得られた腹水を投与し、その抗腫瘍効果を検討した。BALB/c マウスに SPARC ペプチドを負荷した BMDC を投与することにより、自己免疫現象を伴うことなく、H2-K<sup>d</sup> 拘束性 SPARC 特異的 CTL を誘導でき、乳癌細胞株 N2C に対する増殖抑制効果、および生存期間の延長が確認できた。また、マウス SPARC に対するラットモノクローナル抗体を産生する8クローンのハイブリドーマ由来の腹水のうち、1クローンにおいて、N2C に対する腫瘍増殖抑制効果が示唆された。以上の結果から癌関連抗原 SPARC を高発現する癌に対して、ペプチド療法および抗体療法が有用である可能性が示された。

審査では、1) 抗体療法の作用機序、2) 正常細胞にも少量ながら発現している SPARC を癌免疫療法の標的とすることの妥当性、3) 悪性腫瘍に対する疾患感受性あるいは抵抗性と HLA 対立遺伝子との相関の有無、4) SPARC を標的とする癌免疫療法の臨床応用への可能性、5) Balb/c マウスにおける腫瘍の治療実験における効果の有無、6) 免疫療法後に腫瘍内に CTL が認められたかどうか、7) BIMAS による HLA 結合性ペプチド推定の確からしさ、などについての質疑応答がなされ、申請者からは適切な回答と考察がなされた。

本研究は、SPARC の癌免疫療法の標的としての有用性を証明し、癌免疫療法への応用の可能性を示した点で有意義な研究であり、今後の臨床応用の可能性が期待されることから、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 エイズ学 III 担当教授

岡田 誠治

# 審査結果

学位申請者名：山田 裕希

分野名またはコース名：消化器内科学

学位論文題名：

スキルス胃癌の cDNA マイクロアレイ解析により同定された癌関連抗原 SPARC を標的とした  
癌免疫療法の開発

(The development of effective cancer immunotherapy targeting SPARC identified  
by cDNA microarray analysis of human diffuse gastric cancer)

指 導： 佐々木 裕 教授  
西村 泰治 教授

判定結果：

可

不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可

不可

平成23年 2月14日

審査委員長 エイズ学III担当教授

審査委員 免疫学担当教授

審査委員 エイズ学V担当准教授

岡田誠治

阪口董雄

上野貴将