

## 学位論文抄録

### 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)

山田 裕希

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻消化器内科学

指導教員

佐々木 裕 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻消化器内科学

西村 泰治 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻免疫識別学

## 学位論文抄録

【目的】 cDNA マイクロアレイ解析により、スキルス胃癌に高発現する癌関連抗原遺伝子として同定されている SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine) は、乳癌を含む様々な癌で高発現することが報告されている。本研究は、マウスを用いた動物実験により、SPARC を高発現する癌に対して、SPARC を標的とした癌免疫療法を開発することを目的とする。

【方法】 共同研究者らにより、スキルス胃癌 13 症例について、その癌および正常組織における約 23,000 種類の遺伝子の発現について cDNA マイクロアレイ解析が行われ、正常組織と比較して癌部で 5 倍以上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。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) 誘導できるかどうかを IFN $\gamma$ -ELISPOT 法、および 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 に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。

【結果】 cDNA マイクロアレイ解析により、スキルス胃癌において SPARC は、非癌部と比較して平均 133,000 倍高く発現しており、正常組織では低い発現を認めるのみであった。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。

【結論】 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を示した。