

研究速報

全血アッセイによる CEA ペプチドスクリーニング

広島大学原爆放射線医科学研究所腫瘍外科

山口 佳之 川淵 義治 大下 純子 峠 哲哉

はじめに: CEA は消化器癌において高頻度に発現される癌抗原で, ワクチン療法などが試みられている. Human leucocyte antigen(HLA)binding motif の解析から, 複数の epitope peptide が報告された¹⁾. 現在, 最適のペプチドを治療前に同定する方法が求められている. われわれはかつて細菌製剤 OK-432 のレスポナーを検索する研究において, 簡便な全血アッセイを導入した²⁾. 今回, 適切なペプチド選択においても全血アッセイが応用可能か検討した.

材料と方法: HLA-A24 の健常者 5 名および未治療の消化器癌患者 10 名よりヘパリン加採血し, 培養液 RPMI-1640 にて希釈した. 試験管(Falcon 352005 , NJ) に 1ml ずつ分注し, CEA ペプチドパネル(TaKaRa, 大津) をそれぞれ 20 μ M に添加して培養した. 経日的に培養上清を採取し, ELISA (R&D Systems, MN) にてインターフェロン (IFN- γ) を測定した. 培養全血より単核球を比重遠心にて分離し, IFN- γ ELISPOT (R&D Systems, MN) にアプライした. 同時に, IFN- γ 陽性試験管の単核球をインターロイキン (IL) 2 (80 U/ml) で培養し, TISI 細胞(ヒト B 細胞リンパ腫) に対する障害活性を⁵¹Cr 放出試験にて測定した.

結果と考察: 全血 20%(培養液 80%), 5 日間培養で行った全血アッセイの代表的結果を示した (Fig. 1). 10 種類の CEA ペプチドパネルに対し 0 ~ 640pg/ml の IFN- γ 産生が同定可能であった. 検討した全症例において 1-2 のペプチドで 500 pg/ml 以上の IFN- γ 産生が誘導され, そのペプチドの種類は症例によって異なった. ELISPOT との比較では, 全血アッセイで IFN- γ 陽性ペプチドにおいてのみスポットが観察され, その数は IFN- γ 産生量と相関した. IFN- γ 陽性群と陰性群の単核球をそれぞれ IL-2 刺激すると, 前者のみリンパ球増殖が観察され, 同ペプチドをパルスした腫瘍細胞

Fig. 1 IFN- γ production by the whole blood assay and ELISPOT assay.

Heparinized whole blood was diluted in the medium and stimulated with CEA peptides. IFN- γ ELISA for supernatant and ELISPOT assay for cultured cells were developed on day 5.

Peptides	IFN- γ ELISA (pg/ml)	IFN- γ ELISPOT (spots/5000cells)
	500	50
None	0	0
Flu38 (10) RFYIQMCTEL	100	12
CEA10(10) RWCFWQRL	55	0
CEA101(9) IYFNASLLI	0	0
CEA234(9) LYGPDAPTI	0	0
CEA268(10) QYSWFVNGTF	0	0
CEA318(9) VYAEPPKPF	10	0
CEA425(9) TYRPGVNL	10	0
CEA426(10) YYRPGVNL	0	0
CEA590(9) LYGPDTPII	180	16
CEA604(10) SYLSGANLNL	10	0
CEA652(9) TYACFVSNL	640	72

胞を特異的に障害した. 以上のことは, ペプチドに基づく治療を考える場合, 症例によって適切なペプチドが異なることを示すと同時に, 全血アッセイの妥当性を示している. 有効なペプチドを同定する方法は報告³⁾されているが, 全血アッセイは簡便で短期に結果が得られる利点を有し, スクリーニングとして有用であると考えられる. 症例毎に適切なペプチドを選定 (host-oriented peptide evaluation, HOPE) することができれば, ワクチン療法の成績向上が期待できよう.

Key word : peptide screening

文献: 1) Nukaya I, Yasumoto M, Iwasaki T et al : Identification of HLA-A24 epitope peptide of carcinoembryonic antigen which induce tumor-reactive cytotoxic T lymphocyte. Int J Cancer 80 : 92 - 97, 1999 2) 山口佳之, 宮原栄治, 樽原 淳ほか : OK-432 免疫療法の responder の探索と作用機序の解明. Biotherapy 10 : 42 - 49, 1996 3) Hida N, Meda Y, Katagiri K et al : A simple culture protocol to detect peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors in the circulation. Cancer Immunol Immunother 51 : 219 - 228, 2002

Screening of CEA Epitope Peptide using the Whole Blood Assay

Yoshiyuki Yamaguchi, Yoshiharu Kawabuchi, Akiko Ohshita and Tetsuya Toge

Department of Surgical Oncology, Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University

< 2002 年 12 月 18 日受理 > 別刷請求先 : 山口 佳之 〒734 8553 広島市南区霞 1 2 3 広島大学原医研腫瘍外科