

研究速報 食道悪性黒色腫症例における自己腫瘍 RNA 導入樹状細胞を用いた腫瘍反応性 T リンパ球の誘導

広島大学原爆放射線医学研究所腫瘍外科

南 一仁 山口 佳之 大下 純子 峠 哲哉

目的: 腫瘍関連抗原の同定と樹状細胞 (Dendritic cell; DC) を中心とする抗原提示・認識の分子機構の解明により, DC を基盤とした免疫療法の研究が活性化している. 今回, 自己腫瘍抽出 RNA と DC を用いた自己腫瘍反応性リンパ球 (Tumor RNA-introduced DC-Activated Killer: TRiDAK) の誘導について検討した.

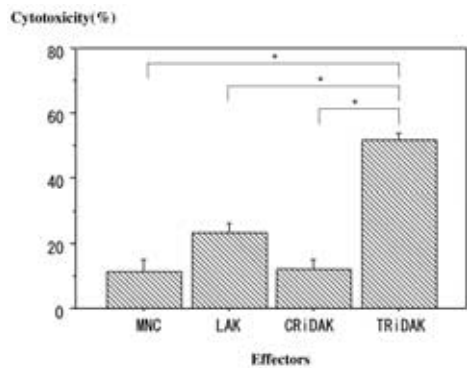
方法: 食道悪性黒色腫 (HLA-A24, MAGE-3抗原陽性) 切除症例より腫瘍細胞および末梢血単核球 (Mononuclear cell: MNC) を得, mRNA を抽出した. それを full-length cDNA に変換し, T7 promoter を付加する形で増幅した (SMART RACE cDNA Amplification Kit, CLONTECH). T7 RNA polymerase を用い mRNA を増幅・作製した (mMESSAGE mMACHINE High Yield Capped RNA Transcription Kit, Ambion). MNC 付着分画より GM-CSF と IL-4 を用い DC を作製した¹⁾. DC に electroporation (GENE PULSER II, 150V, 150 μ F) を用いて RNA を導入後, TNF- α を添加して RNA/DC とした²⁾. MNC を, MMC 処理した RNA/DC にて 2 回刺激し効果細胞とした. IL-2 (400 U/ml) 単独刺激にて LAK (Lymphokine-activated killer) 細胞を作製した. DC に MAGE-3 ペプチド (アミノ酸配列: NYPLWSQSY) をパルス後 Calcein (DOJINEDO) にて標識し, 細胞傷害活性測定用の標的細胞 (MAGE-3/DC) とした.

結果: DC への RNA 導入効率率は 54%、生細胞率は 78% であった. TRiDAK は, LAK 細胞および自己リンパ球より抽出した RNA を用いて誘導した効果細胞 (CRiDAK) に比較して有意に MAGE-3/DC に対し細胞傷害活性を示した (Fig. 1).

考察: Heiser らは, 前立腺癌症例を対象として, 腫瘍 RNA を DC にパルス・導入することで機能的な抗原提示細胞が作製されることを示している³⁾. 今回我々は, 食道悪性黒色腫症例において, DC に腫瘍 RNA を electroporation を用いて導入することで機能的な APC が作製可能であることを示した. この TRiDAK 細胞誘導システムの特徴は, HLA タイプを考慮しなくて良い, 腫瘍抗原を特定することなく多価抗原が提示可能である, わずかな自己腫瘍細胞より抽出された RNA は in vitro にて増幅・保存が可能で繰り返

Fig. 1 Cytotoxicity of effectors against MAGE-3 peptide pulsed dendritic cell.

MNC: mononuclear cells without stimulation. LAK (Lymphokine Activated Killer cells): mononuclear cells stimulated with 400 u/ml of IL-2. CRiDAK (Control RNA-introduced DC-Activated Killer cells): mononuclear cells stimulated with normal lymphocyte RNA-introduced Dendritic cells. TRiDAK (Tumor RNA-introduced Dendritic cell-Activated killer cells): mononuclear cells stimulated with Tumor RNA-introduced Dendritic cells. Effector/Target ratio: 50, * : p<0.01



し RNA/DC を作製できる, という実用性を有し, 今後の臨床応用が期待される.

Key word: tumor RNA-introduced dendritic cell

文献: 1) Romani N, Gruner S, Schuler G et al: Proliferating dendritic cell progenitors in human blood. J Exp Med 180: 83-89, 1994 2) Van Tendeloo VFI, Ponsaerts P, Berneman ZN et al: Highly efficient gene delivery by mRNA electroporation in human hematopoietic cells: superiority to lipofection and passive pulsing of mRNA and to electroporation of plasmid cDNA for tumor antigen loading of dendritic cells. Blood 98: 49-56, 2001 3) Heiser A, Mauice MA, Vieweg J et al: Induction of polyclonal prostate cancer-specific CTL using dendritic cells transfected with amplified tumor RNA. J Immunol 166: 2953-2960, 2001

Induction of Tumor-Reactive T-Lymphocytes Using Autologous Tumor RNA-introduced Dendritic Cells in an Patient of Malignant Melanoma of the Esophagus

Kazuhiro Minami, Yoshiyuki Yamaguchi, Akiko Ohshita and Tetsuya Toge. Department of Surgical Oncology, Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University

<2003年11月26日受理> 別刷請求先: 南 一仁 〒734 8551 広島市南区霞1 2 3 広島大学原医研腫瘍外科