

氏名(本籍)	さか もと のり あき 坂 本 規 彰 (栃 木 県)			
学位の種類	博 士 (医 学)			
学位記番号	博 甲 第 6227 号			
学位授与年月日	平成 24 年 3 月 23 日			
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当			
審査研究科	人間総合科学研究科			
学位論文題目	Glioma Immunotherapy With Combined Autologous Tumor Cell and Endothelial Cell Vaccine In Vivo (マウス悪性グリオーマに対する同種腫瘍ワクチンと血管内皮ワクチンの併用治療)			
主査	筑波大学教授	医学博士	長 田 道 夫	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	小 原 直	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	河 合 弘 二	
副査	筑波大学講師	博士(医学)	佐 藤 藤 夫	

論 文 の 内 容 の 要 旨

(目的)

膠芽腫は原発性脳腫瘍の中でも悪性度が高く腫瘍細胞は高い増殖能と血管新生能をもつ。腫瘍血管内皮細胞には正常血管とは異なる、血管新生に関わる分子の発現が報告されている。そこで血管内皮細胞ワクチンでも腫瘍血管内皮特異的な免疫応答が誘導できることを確認し、腫瘍ワクチンと血管内皮細胞ワクチンの併用により腫瘍制御効果が高まると考え、実験を計画した。

(対象と方法)

C57BL/6J マウスと同種のグリオーマ細胞株として GL261 を用いた。腫瘍血管内皮細胞のモデルに F-2 (UV ♀ 2) と Tpit/E 細胞を用いた。正常血管内皮細胞のモデルに human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) を用いた。RT-PCR 法や Flow cytometry により各血管内皮細胞の主要発現抗原を確認した。ワクチン接種後のマウス脾臓を摘出し cell lysate との免疫応答を Interferon- γ enzyme-linked immunospot (ELISpot) assay で計測した。皮下腫瘍モデルは GL261 細胞をマウス左大腿部に皮下注射し作成した。ワクチン接種後のマウス皮下腫瘍組織を von Willebrand factor (vWF) による免疫染色をおこない、血管数や腫瘍内部の構造を測定した。

(結果)

RT-PCR 法や Flow cytometry 解析による F-2 の mRNA 発現パターンは HUVEC や GL261 由来の tumor-associated endothelial cell と同様であった。ELISpot assay を施行し、F-2 ワクチン接種したマウス脾細胞を F-2 lysate と再刺激させると、再刺激しないものと比べ有意に高い IFN- γ 産生細胞が検出される特異的免疫応答が確認できた。GL261 腫瘍細胞ワクチンに、腫瘍血管内皮細胞として F-2 を 1:1 で混合したワクチンを作成し GL261 皮下腫瘍モデルで腫瘍体積を比較した。GL261 と F-2 の混合ワクチン群は有意に腫瘍増殖が抑制された。最後に GL261 を皮下に接種後、各ワクチンを 2 日毎に 5 回接種した therapeutic モデルにて、腫瘍接種後 2 週間目の腫瘍組織を比較した。このときの腫瘍体積は各群間で有意差はない。病理標本を確認す

ると平均血管数は混合ワクチン群で最も少なく、F-2 ワクチン群と混合ワクチン群では小血管の形成が減少し血管新生が抑制されている結果であった。

(考察)

様々な腫瘍において腫瘍血管内皮細胞は血管新生に関わる分子を高度に発現しているといわれる。本研究でもマウス皮下腫瘍血管内皮細胞とマウス F-2 細胞双方において VEGF-R2 と CXCR-7 の mRNA が高度に発現している結果であった。また本研究では、内皮細胞ワクチンは腫瘍血管数、特に小血管新生を減少する結果となった。抗血管新生治療というものは、単独治療でおこなうべきではなく、腫瘍標的治療と併用する必要があると考えられる。本実験結果から、グリオーマ組織に同種（もしくは自家）の内皮細胞を用いた混合ワクチンで治療することで自家腫瘍ワクチン単独よりも有効な治療効果が得られると考えている。臨床試験では GBM 組織から分離した腫瘍血管内皮細胞を多く含んだ細胞を用いた治療が考えられる。

以上、本研究では、グリオーマ腫瘍細胞と内皮細胞からの混合ワクチン治療のマウス皮下腫瘍モデルにおいて腫瘍増殖を抑制する結果が得られ、腫瘍組織からは腫瘍血管数が混合ワクチン治療群で減少していたことから、腫瘍ワクチンに血管内皮細胞を多く含んだワクチンを併用することはグリオーマに対する免疫治療として新しい戦略となりうると期待される。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は、グリオーマのワクチン療法について詳細に検討し、その有効性が腫瘍血管抑制効果によることを明らかにした意義のある論文である。

平成 24 年 1 月 12 日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士（医学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。