

MHC-class II 拘束性の AFP由来ペプチドを用いた 癌免疫療法

金沢大学 医薬保健研究域 医学系
助教 玉井 利克

令和2年8月18日

新技術の背景

癌免疫療法では、「がん抗原を提示するMHC⁽¹⁾」と「ワクチンとして注射される抗原ペプチド」の複合体が免疫を活性化させる。

金沢大学ではこれまで、MHCのHLA-A24型に結合するアルファフェトプロテイン(AFP⁽²⁾)由来のペプチドワクチンを臨床試験しているが、今回新たにHLA-DRB1型に結合するAFP配列を同定した。両ペプチドワクチンを併用することで抗腫瘍効果の増強が期待される。

(1) MHC :Major Histocompatibility Complex

(2) AFP : α -fetoprotein

従来技術とその問題点

これまでに、MHC-class II 拘束性のAFP由来エピトープ（免疫システムによって認識される抗原決定基）はいくつか報告されているが、真に免疫原性の強いものはない。また、いずれのエピトープも実用化にまで至った報告はない。

MHC-class II

HLA-DQ

HLA-DR

HLA-DP

マクロファージ

樹状細胞

活性化T細胞

B細胞などで発現し、
抗原ペプチドを提示する

MHC-class I

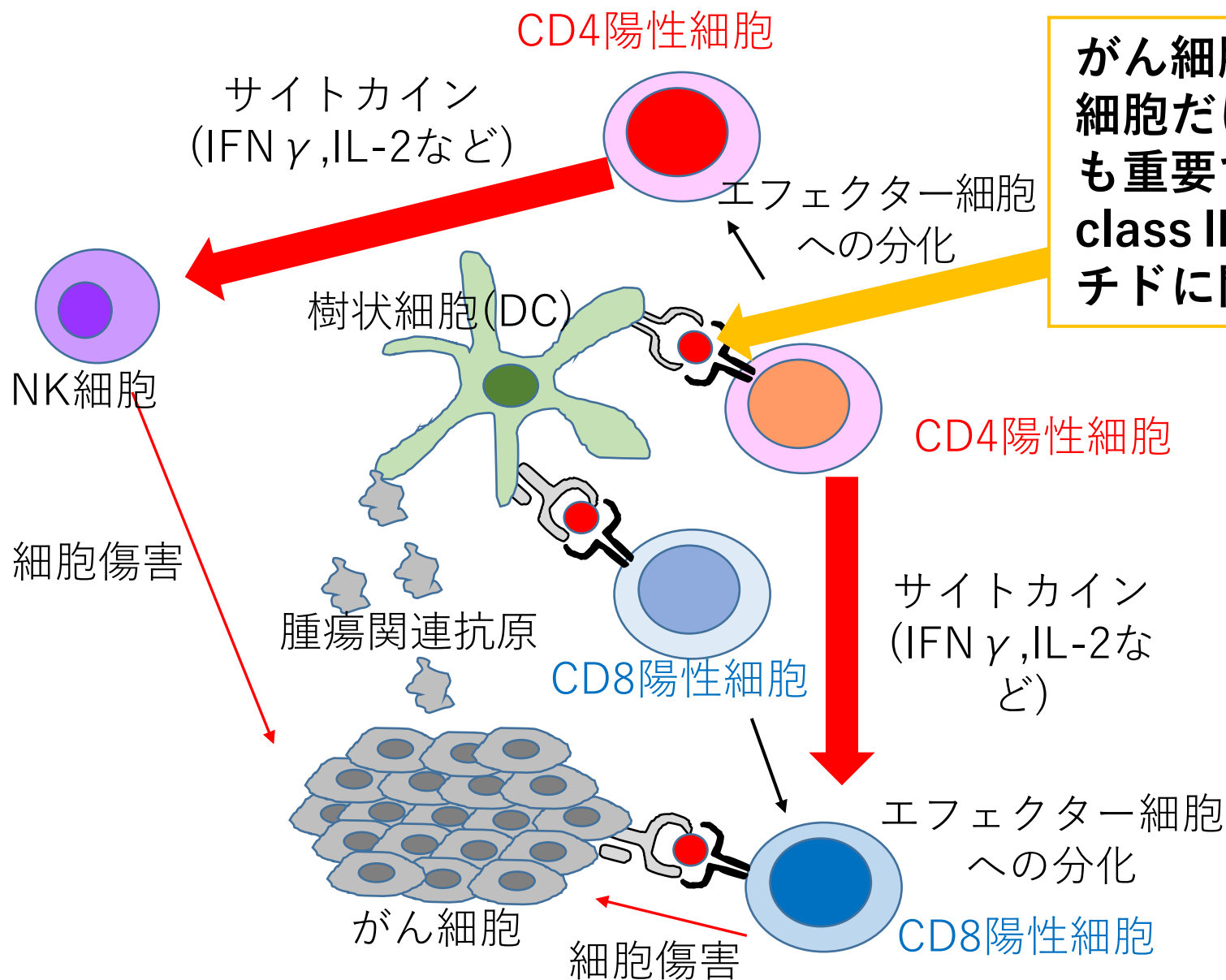
HLA-A

HLA-B

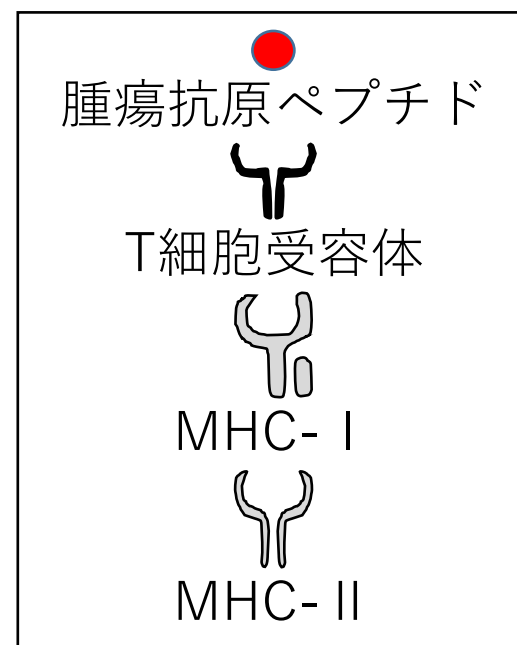
HLA-C

すべての有核細胞と
血小板で発現し、
抗原ペプチドを提示する

腫瘍に対するT細胞の免疫応答



がん細胞の排除にはCD8陽性細胞だけでなくCD4陽性細胞も重要である。本技術はMHC-class II分子に負荷されるペプチドに関するものである。



AFP由来エピトープの合成

AFPのアミノ酸配列を基にウェブサイトを用いてMHC-class II 拘束性エピトープを予測。その配列を含むペプチドを合成。

Peptide	Source	Start position	Amino acid sequence
AFP ₁	AFP	1	MKWVESIFLIFLLNFTESTR
AFP ₂₂	AFP	22	HRNEYGIASILDSYQCTAEI
AFP ₆₂	AFP	62	EVSKMVKDALTAIEKPT
AFP ₁₃₄	AFP	134	ASIPLEFQVPEPVTSC
AFP ₁₅₅	AFP	155	RETFMNKFIYEIARRHPFLY
AFP ₁₆₉	AFP	169	RHPFLYAPTILLWAARYDKII
AFP ₂₁₀	AFP	210	TKELRESSLLNQHACAVMKN
AFP ₂₂₄	AFP	224	CAVMKNFGTRTFQAITVTKLSQ
AFP ₂₄₆	AFP	246	KFTKVNFTETIQKLVL
AFP ₃₄₆	AFP	346	EKNIFLASFVHEYSRRHPQL
AFP ₃₆₁	AFP	361	RHPQLAVSVILRVAKG
AFP ₄₁₆	AFP	416	CGLFQKLGEYYLQNAFLVAYT
AFP ₄₂₈	AFP	428	QNAFLVAYTKKAPQLTSSELM
AFP ₅₄₉	AFP	549	KQEFLINLVKQKPQITEEQ



肝癌患者の末梢血単核細胞(PBMCs)を用いて、免疫応答反応を調べた。

AFP₁₃₄、AFP₂₄₆、AFP₃₆₁は既報のエピトープを含むコントロールペプチド

ペプチドのスクリーニング (IFN- γ ELISPOT assay)

ペプチド	陽性人数/施行人数	陽性率(%)
AFP ₁	17/28	60.7
AFP ₂₂	5/25	20.0
AFP ₆₂	5/28	17.8
AFP ₁₃₄	2/25	8.0
AFP ₁₅₅	2/25	8.0
AFP ₁₆₉	1/25	4.0
AFP ₂₁₀	4/28	14.3
AFP ₂₂₄	3/25	12.0
AFP ₂₄₆	5/25	20.0
AFP ₃₄₆	7/28	25.0
AFP ₃₆₁	3/28	10.7
AFP ₄₁₆	1/28	3.6
AFP ₄₂₈	3/27	11.1
AFP ₅₄₉	3/24	12.5

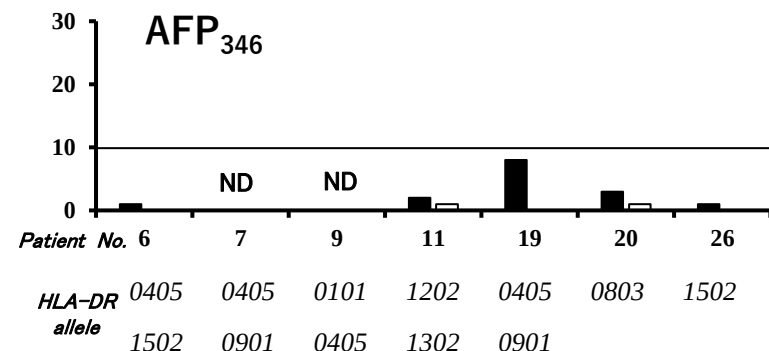
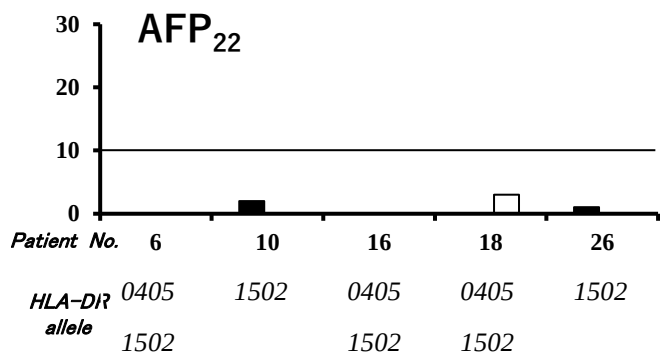
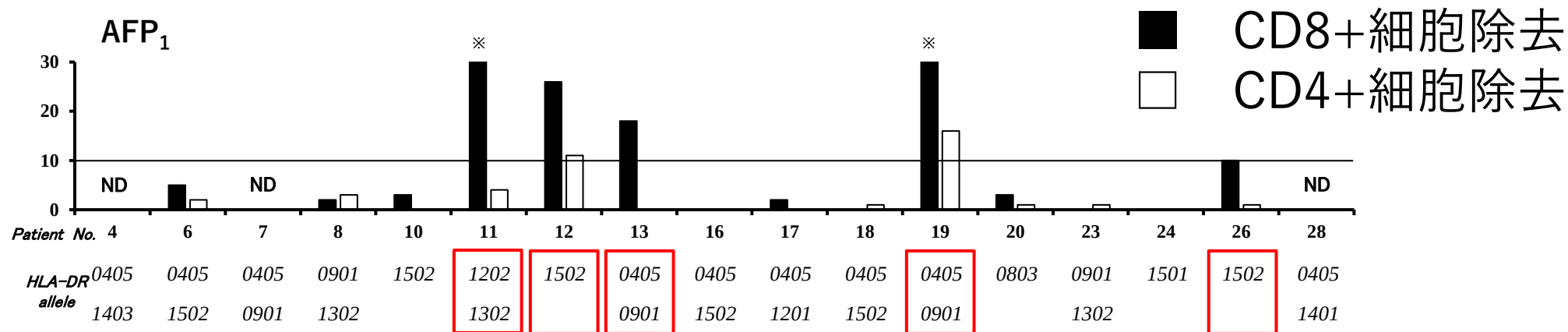
AFP1、AFP22、AFP346
で高率に反応を認めた



ペプチドをしぼって
検証を継続

CD4+/CD8+細胞除去 IFN- γ ELISPOT assay

特異的スポット数 / 3×10^5 PBMCs



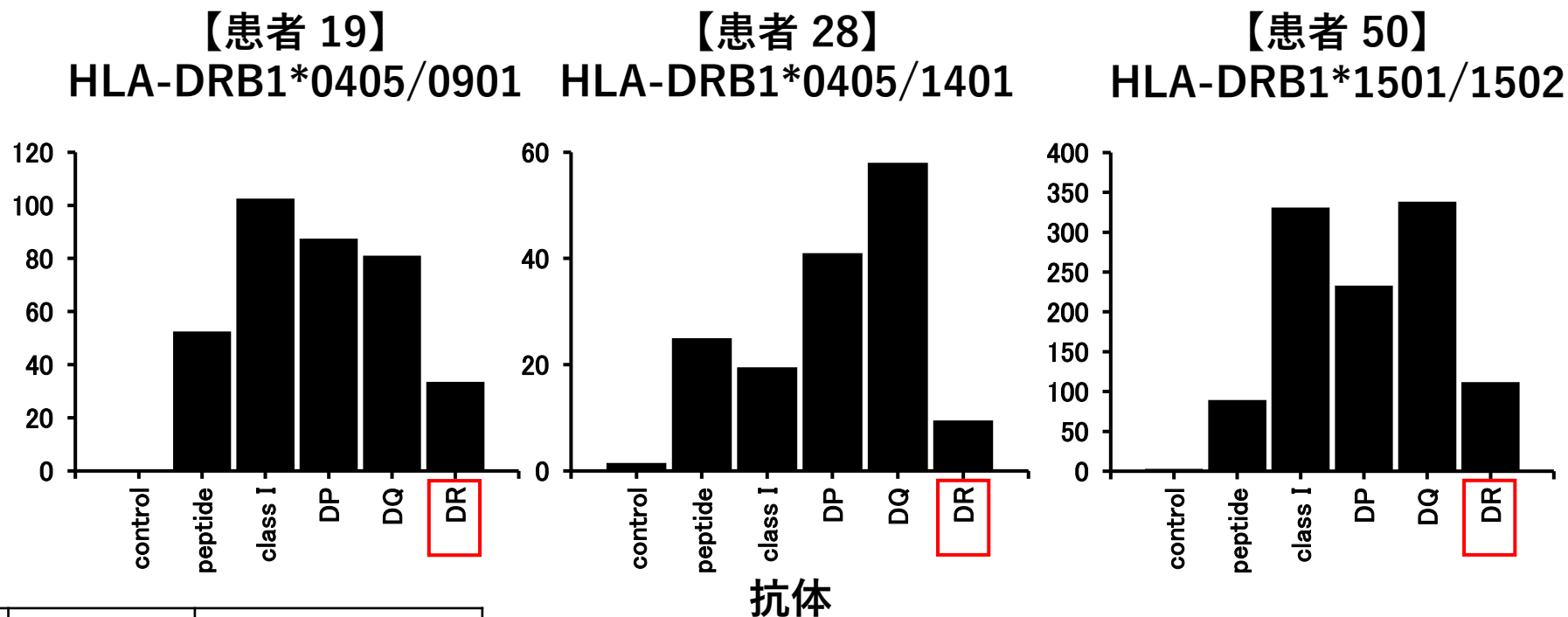
- ①CD4+細胞による反応である
- ②複数のHLA-DRB1アリルで反応する

ペプチドAFP1について
さらに検証を追加

Blocking assay (AFP₁)

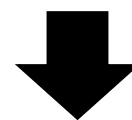
IFN- γ ELISPOT assay

特異的スポット数/ 3×10^5 PBMCs



	ペプチド	抗体
control	(-)	(-)
peptide	AFP ₁	(-)
class I	AFP ₁	HLA-ABC抗体
DP	AFP ₁	HLA-DP抗体
DQ	AFP ₁	HLA-DQ抗体
DR	AFP ₁	HLA-DR抗体

患者のPBMCsとペプチドAFP₁に各抗体を添加しIFN- γ 産生細胞をELISPOTで測定



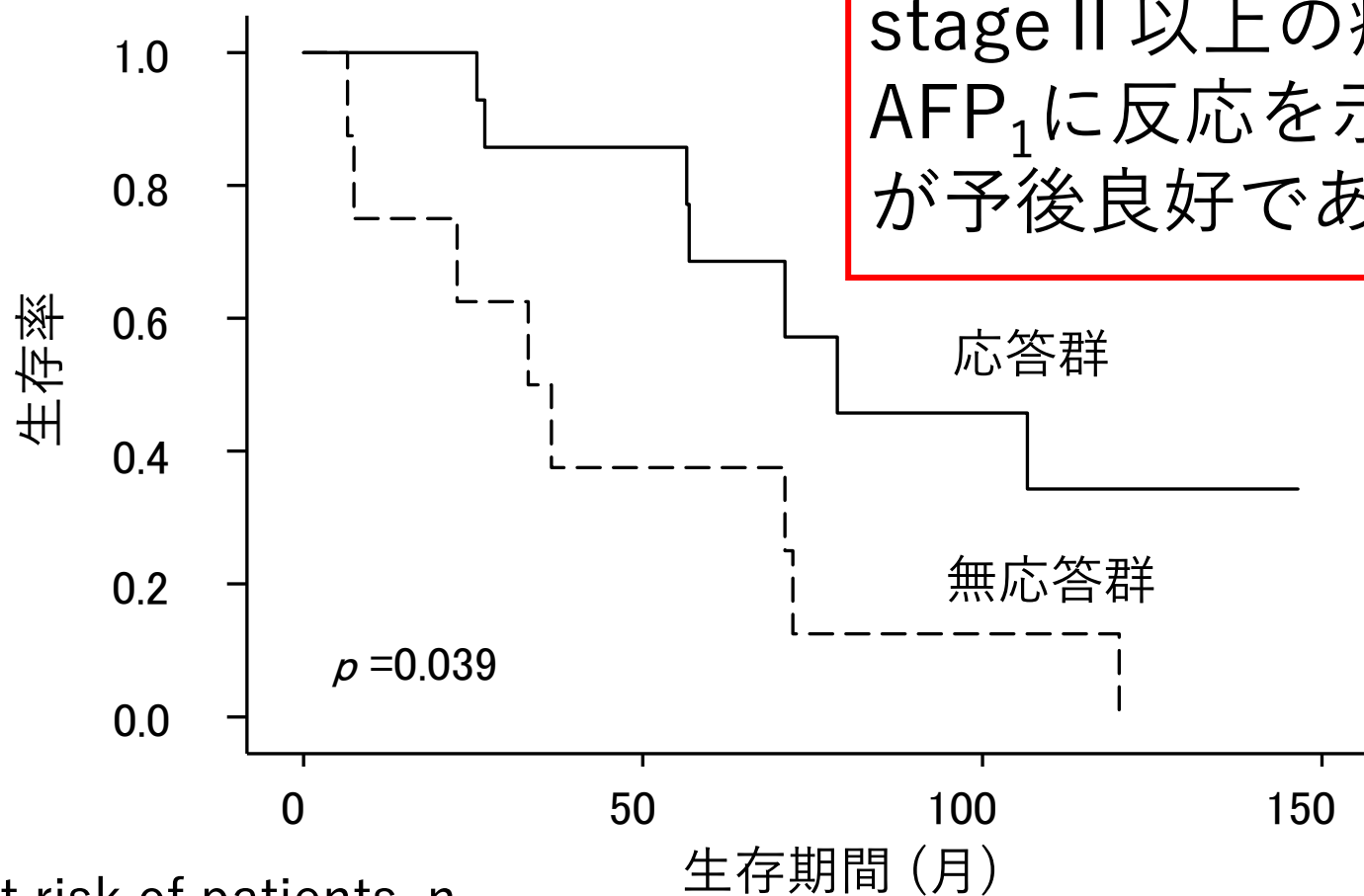
HLA-DR抗体によりIFN- γ 産生が抑制されており、AFP₁がHLA-DR拘束性であることを示した

AFP₁に対する免疫応答の有無とその予後

対象：採血時に担癌状態であった患者 かつ 臨床病期 II - IV (n=22)

群分け：PBMCsがAFP₁に対する免疫応答を示した群と示さなかった群

期間：HCC初回治療から肝癌関連死まで



Number at risk of patients, n

応答群	14	14	10	5	4	1
無応答群	8	5	3	1	1	0

新技術の特徴

- 既報のエピトープと比較し、免疫原性の強いエピトープである。
- 複数のHLA-DRB1アレル(*0405、*0901、*1502)に反応することが示されており、より多くの患者で利用可能である。
- 本製品はAFP陽性の肝癌患者を対象に開発したが、AFP陽性の他部位癌患者にも応用可能である。

想定される用途

- HLA-DRB1*0405、*0901、*1502を有するAFP陽性癌患者に対し、癌ペプチドワクチンや樹状細胞ワクチンとして投与することが考えられる。
- 上記のような単独投与の他に、抗癌剤や免疫チェックポイント阻害剤との併用投与も検討される。
- 本ペプチドに対する宿主免疫応答を検出する測定試薬の作製が期待される。

実用化に向けた課題

- 現在、in vitroで患者リンパ球が本ペプチドに反応するところまでは確認済みである。しかし、in vivoの実験は未施行であり、今後、生体内での反応や安全性の検証が必要である。
- ペプチド特異的Tリンパ球の特徴をみるために、MHC-ペプチド テトラマーの作製が検討される。

企業への期待

- ワクチン開発技術を持つ、企業との共同研究。
- また、免疫治療分野への展開を考えている企業には、本技術の導入が有効と思われる。

本技術に関する知的財産権

発明の名称：MHCクラスII拘束性エピトープ
ペプチドを含有する免疫増強剤

出願番号：特願2019-048878号

出願人：金沢大学

発明者：玉井利克、水腰英四郎、金子周一

お問い合わせ先

金沢大学 ティ・エル・オー

T E L 076-264-6115

F A X 076-234-4018

e-mail info@kutlo.co.jp