

## ユビキチン-プロテアソーム経路を利用した抗癌遺伝子免疫療法

姫野, 國祐  
九州大学大学院医学研究院感染免疫・熱帯医学分野

久枝, 一  
九州大学大学院医学研究院感染免疫・熱帯医学分野

<https://doi.org/10.15017/7962>

---

出版情報 : 福岡醫學雜誌. 98 (8), pp.312-319, 2007-08-25. 福岡医学会  
バージョン :  
権利関係 :

## ユビキチン-プロテアソーム経路を利用した抗癌遺伝子免疫療法

九州大学大学院医学研究院 感染免疫・熱帯医学分野

姫野 國祐, 久枝 一

### はじめに

腫瘍の排除の主役をなす免疫応答は主要組織適合抗原複合体 (major histocompatibility complex MHC) クラス I 分子拘束性の CD8<sup>+</sup>キラー T 細胞による腫瘍細胞の殺滅である。昨今の腫瘍抗原同定の進歩, 抗原提示細胞の分離・培養法などの免疫学的手法の発展により腫瘍抗原特異的な CD8<sup>+</sup>T 細胞を誘導する多種の癌免疫療法が試みられている。しかしながら腫瘍抗原を用いたワクチンでは CD8<sup>+</sup>T 細胞を主体とする抗腫瘍免疫の誘導は多くの場合困難である。CD8<sup>+</sup>T 細胞への抗原提示は細胞質に存在するプロテアソームと呼ばれる蛋白質分解酵素複合体によって抗原がプロセッシングされることが必須である。通常プロテアソームは分子シャペロンであるユビキチンが複数個連なって結合している蛋白質を認識するので, この蛋白質分解経路はユビキチン-プロテアソーム経路と呼称されている。つまり, ユビキチンが抗原に結合することが CD8<sup>+</sup>T 細胞活性化への最初のステップである。我々の研究室では腫瘍抗原特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞を効率良く誘導/活性化するために, 腫瘍抗原遺伝子とユビキチン遺伝子との融合遺伝子を構築し, ユビキチン融合腫瘍抗原を細胞内で発現させる DNA ワクチンを用いた抗癌免疫療法を開発した。本稿では CD8<sup>+</sup>T 細胞への抗原提示, ユビキチン-プロテアソーム経路を概説し, 我々の研究結果を合わせて紹介する。

### 1. CD8<sup>+</sup>T 細胞への抗原提示

CD8<sup>+</sup>T 細胞は細胞傷害性あるいはキラー T 細胞とも呼ばれ標的となる細胞表面上の MHC クラス I 分子に提示された抗原を自身の発現する T 細胞レセプターによって認識する<sup>1)</sup>。クラス I 分子に提示される抗原は 8 個から 10 個の短いペプチドでエペトープとも言われる。T 細胞レセプターからのシグナルは細胞傷害のエフェクター分子である FasL あるいは perforin/granzyme の発現を誘導し標的細胞をアポトーシスにより殺滅する<sup>2)</sup>。

CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化に必須である蛋白質抗原のプロセッシング, MHC 分子による抗原提示経路の分子メカニズムは詳細に明らかにされてきた(図 1)。腫瘍抗原, ウイルス抗原などの細胞内蛋白質の大部分は細胞質内に存在するプロテアソームと呼ばれる巨大な蛋白質分解酵素複合体によって分解される。分解された蛋白質断片は粗面小胞体膜上に存在する TAP (transporter associated with antigen processing) を介して粗面小胞体内へ移行し, そこで粗面小胞体内膜にアンカーしているクラス I 分子と会合する。抗原エペトープ-クラス I 複合体はゴルジネットワークを通過し最終的に細胞膜上に表出され CD8<sup>+</sup>T 細胞に認識される。

一方, ファゴサイトーシスによって取り込まれた細胞外抗原はファゴソームと, カテプシンなどの蛋白質分解酵素に富むリソソームとの融合の後にこれらの酵素によって分解され, さらにクラス II 分子を含む小胞と融合しそこで分解産物はクラス II と会合する。エペトープ/クラス II 複合体は細胞表面に輸送され CD4<sup>+</sup>T 細胞によって認識される。

以上のように一般的に内因性抗原はクラス I 経路に乗り CD8<sup>+</sup>T 細胞に, 外来性抗原は通常はクラス II 経路に乗り CD4<sup>+</sup>T 細胞に認識される。抗原によるワクチンは外来抗原として処理され CD4<sup>+</sup>T 細胞に認

Kunisuke HIMENO and Hajime HISAEDA

Department of Parasitology, Graduate School of Medical Sciences, Kyushu University  
Immune Therapy Against Tumors Based on the Ubiquitin-Proteasome Pathway

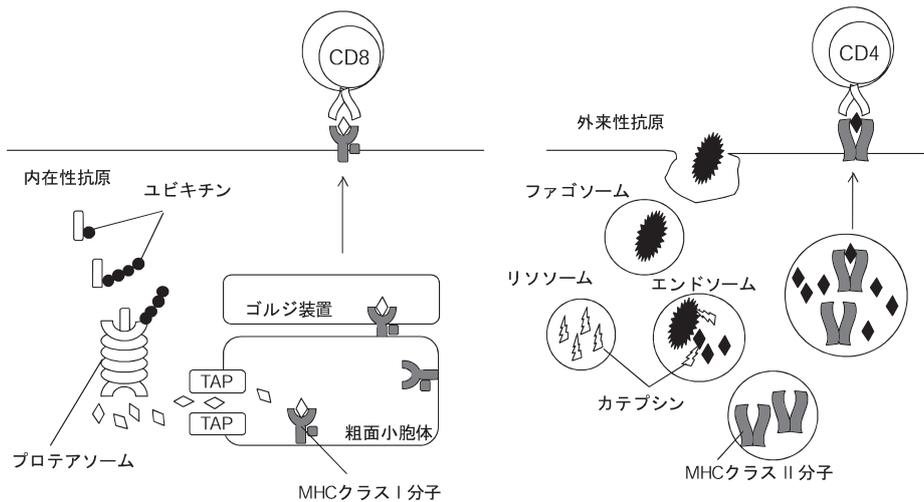


図1 T細胞への抗原提示経路 (矢田純一編, 医系免疫学より一部改変)

識され、活性化された CD4<sup>+</sup>T 細胞の介助により抗体応答は誘導することができるが、CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化は困難である。なお外来抗原に特異的な CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化をするクロスプレゼンテーションという経路も存在することが近年明らかにされつつある<sup>3)4)</sup>。

## 2. ユビキチン-プロテアソーム経路

### A. ユビキチン-変異/変性蛋白質の分解シグナルを担う分子シャペロン-

プロテアソームは細胞内蛋白質分解を司っており、本来の機能は細胞のホメオスタシスを維持することであり、無数の機能性蛋白質の中から、不必要あるいは有害な変異/変性蛋白質だけを分解することにある。ユビキチンは本システムにおいて分解されるべき蛋白質に結合することで識別シグナルの役割を果たす分子シャペロンである (図2)。ユビキチンは76個のアミノ酸からなり、真核細胞で高度に保存された一次構造を持つ。ユビキチンをコードする mRNA からは4つのユビキチンが連なった前駆体が翻訳され、ユビキチンC末端水解酵素 (ubiquitin C-terminal hydrolase) によって76番目のグリシンと77番目のメチオニンとの間のペプチド結合が切られることによって機能型の単量体ユビキチンとなり長短2つの  $\alpha$  ヘリックスと5つの  $\beta$  シートからなる安定した構造をとる<sup>5)</sup>。

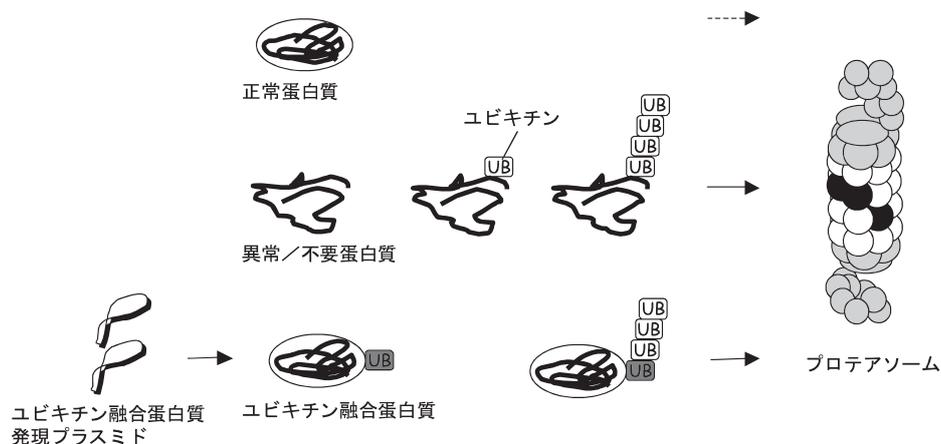


図2 ユビキチン-プロテアソーム経路とユビキチン融合蛋白質のプロテアソームによる分解

構造に異常をきたした蛋白質,あるいは不必要となり何らかのシグナルが付加された蛋白質はポリユビキチン化されプロテアソームに認識される(中段)。正常な構造をもつ蛋白質も融合したユビキチンがさらにユビキチン付加を受けるためプロテアソームによって認識されるようになる(下段)。

ユビキチンの分解されるべき蛋白質への結合はユビキチン化修飾と呼ばれ、3段階の酵素反応、すなわち活性化酵素 (E1)、結合あるいは転移酵素 (E2)、ユビキチンリガーゼ (連結酵素, E3) からなる複合酵素系が必要である<sup>6)</sup>。各酵素反応の詳細はここでは割愛するが、ユビキチンの標的蛋白質への結合様式はユビキチンのC末端のグリシンのカルボキシル基と標的蛋白質中のリジンのε-アミノ基の縮合によるイソペプチド結合である(モノユビキチン化)。さらに結合したユビキチン自身のリジン残基にE1-E2-E3が繰り返し作用することによって多数のユビキチンが付加される(ポリユビキチン化)。ポリユビキチン化された蛋白質はプロテアソームによって認識され急速に分解を受ける。ユビキチンには7つのリジン残基 (K6, K11, K27, K29, K33, K48, K63)があるが、プロテアソームによる蛋白質分解のシグナルとなるポリユビキチン鎖はK48に結合したものである。他のリジン残基を介してもポリユビキチン化が起こるが、いずれも蛋白質分解のシグナルとはならず別な機能を果たす。例えば、K63を介するポリユビキチン鎖はDNA修復、NFκB活性化のシグナルとなり、またモノユビキチンもエンドサイトーシスに関わっている<sup>7)8)</sup>。

## B. プロテアソーム—細胞内蛋白質分解を司る蛋白分解酵素複合体—

### a) 26S プロテアソーム

26S プロテアソームは細胞質内に存在する巨大な複合体であり、蛋白質分解活性を有する触媒部位である20S プロテアソームと活性調節部位であるPA700 (19S 調節ユニット) から構成される(図3)。20S プロテアソームは7つの異なる $\alpha_{1-7}$ サブユニットからなる $\alpha$ -リング、 $\beta_{1-7}$ サブユニットからなる $\beta$ -リングがそれぞれ2つ、計4つのドーナツ状リングが $\alpha\beta\beta\alpha$ の順に、つまり外側に $\alpha$ 、内側に $\beta$ -リングを配し重なりあったドラム缶様の構造をしている。プロテアーゼ活性は $\beta$ -リング中の $\beta_1$ ,  $\beta_2$ ,  $\beta_5$ サブユニットが有しており、それぞれ酸性アミノ酸の後を切断するペプチジルグルタミル基加水分解(PGPH)、塩基性アミノ酸の後を切断するトリプシン様活性、疎水性アミノ酸の後を切るキモトリプシン様活性を示す<sup>9)</sup>。

活性調節に関わるPA700は6つのATPase活性を持つサブユニットと9~10の非ATPaseサブユニットから構成される。20S プロテアソームの2つの $\alpha$ -リングの外側に結合して26S プロテアソームを形成する。PA700はポリユビキチン鎖を認識し、標的蛋白質からユビキチンを外し、さらに高次構造を解きほぐす(アンフォールディング)ことで、蛋白質分解の触媒部位である20S プロテアソームのドラム缶様構造内部へと誘導する。その際に消費するエネルギーはATP加水分解によって供給される。このように26S プロテアソームが定常状態の細胞に構成的に存在し、ポリユビキチン鎖シグナルの付加を受けた蛋白質の分解の主役を担う。

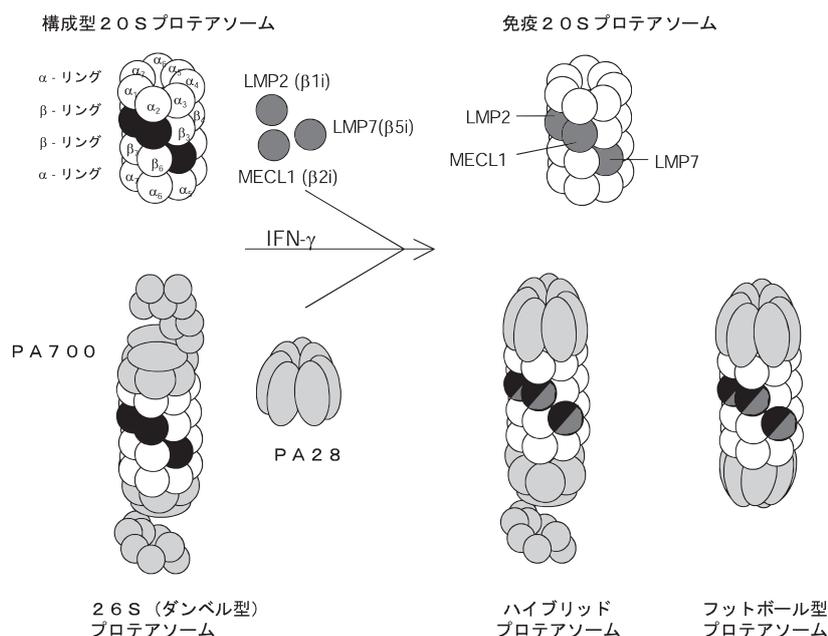


図3 プロテアソームの構造, IFN-γによって誘導される構造変化

### b) IFN- $\gamma$ によるプロテアソームの活性化

26S プロテアソームによる蛋白質分解は細胞周期の制御など細胞機能に必須であり CD8<sup>+</sup>T 細胞の抗原提示にも重要である。しかし  $\beta$ -リングに存在する 3 種類の酵素活性だけでは MHC あるいは T 細胞レセプターの多様性に対応するエピトープが作成されるかは疑問である。最近の細胞内蛋白質修飾・分解に関する多くの研究からプロテアソームを構成する分子の発現が抗ウイルス活性を持つ強力な免疫調節物質である IFN- $\gamma$  によって制御されていることが明らかになってきた。IFN- $\gamma$  は 20S プロテアソーム  $\beta$  リング中の酵素活性を持つ  $\beta 1$ , 2, 5 にそれぞれ相同性を持つ LMP2 ( $\beta 1i$ ), MECL1 ( $\beta 2i$ ), LMP7 ( $\beta 5i$ ) の発現を誘導する。合成されたこれらのサブユニットは既存の 20S プロテアソームの相同サブユニットと置換し、新しい 20S プロテアソームを形成する。これは免疫プロテアソームと呼ばれる。免疫プロテアソームに取り込まれた酵素活性サブユニットは構成型プロテアソームのサブユニットとは異なる基質特異性を有する<sup>10</sup>。一方で、IFN- $\gamma$  は 19S 調節ユニット PA700 の 26S プロテアソームからの解離を促進し<sup>11</sup>、さらに PA28 と呼ばれる新たな 11S 調節ユニットの発現を増強する<sup>12</sup>。PA28 は 3 つの PA28 $\alpha$  と 4 つの PA28 $\beta$  サブユニットからなる 7 量体であり、20S プロテアソームの  $\alpha$ -リングに結合し酵素活性を促進する<sup>13</sup>。IFN- $\gamma$  の作用により、免疫プロテアソーム、PA28 が発現することにより 20S プロテアソームと調節ユニットの組み合わせのバラエティは豊富になる。なお、26S プロテアソームは構成型 20S プロテアソームの両端に PA700 が結合した(ダンベル型)タイプである。一方、IFN- $\gamma$  誘導型のプロテアソームとして構成型/免疫 20S コアプロテアソームに PA700 と PA28 が結合したタイプ(ハイブリッド型)とコアプロテアソームの両端に PA28 を持つもの(フットボール型)が形成されるようになる<sup>14</sup>(図 3)。

## 3. CD8<sup>+</sup>T 細胞エピトープのプロセッシング

プロテアソームの蛋白質分解酵素活性は共通の性質をもつアミノ酸の後側を切断するのが特徴で切断断片の C 末端は特定のアミノ酸で終わることが多い。MHC class I との結合時に切断断片の C 末端はアンカーとなり class I 分子とのアフィニティを決定する重要な成分となるので、プロテアソームの切断様式は class I エピトープを切り出すのに非常に適している。とくに免疫プロテアソームでは酵素活性を持つサブユニットの置換により、酸性残基後の切断活性が著しく弱くなる。酸性残基は class I 分子への C 末端のアンカーにはなりにくいので、免疫プロテアソームが class I エピトープの産生に有利であると考えられている。これが免疫プロテアソームと呼ばれるゆえんである。しかしながらポリユビキチン化蛋白質の認識・分解は PA700 を持つ 26S プロテアソームが担当するので、PA28 を持つ免疫プロテアソームによるプロセッシングがどのようにして起こるのかは不明であった。また、エピトープの C 末端の切り出しはプロテアソームで説明できるが、エピトープの N 末端側の余分なアミノ酸の切断には他のプロテアーゼの関与が強く示唆されており、最近になって N 末端のトリミング活性を持つ酵素が相次いで報告された。

プロテアソーム以外の蛋白質分解酵素を含めた多段階のプロセッシングモデルが提唱されている。すなわち 26S プロテアソームでの蛋白質分解により生じる中間生成物が細胞質内で tripeptidyl endopeptidase II (TPPII) と呼ばれる N 末端から 3 つのアミノ酸を切り出す酵素によりプロセスされ、さらに PA28 を介して免疫プロテアソームに取り込まれてエピトープの C 末端が決定される。そして TAP を通じて粗面小胞体内へ移行したペプチド断片の N 末端のトリミングが endoplasmic reticulum amino endopeptidase 1 (ERAP1) によって行われ、完全なエピトープが作成されることが明らかになった<sup>16</sup>。このように class I エピトープの産生は多構成成分の多段階プロセスの複雑な反応の結果であると想定されるが、いずれにしても最初のステップは間違いなくユビキチン化蛋白質の分解である。

## 4. ユビキチン-プロテアソーム経路と細胞の腫瘍化・腫瘍の免疫回避

ユビキチン-プロテアソーム経路は細胞のホメオスタシスに必須であるので、この経路の変調が細胞に悪影響を及ぼすことは容易に想像できる。ことに厳密な調節が必要な細胞周期に関わる蛋白質の分解が促進/抑制されることで無秩序な細胞増殖、つまりは細胞の腫瘍化が起こる。細胞、ウイルス由来の多種の腫

表1 ユビキチン-プロテアソーム経路と発癌

癌遺伝子	作用機序	プロテアソームによる蛋白分解	標的分子	発癌機序
BRCA1	E3 活性変調	抑制	?	?
パピローマウイルス E6, 7	ユビキチン化	促進	癌抑制蛋白質	癌化抑制解除
カポジ肉腫ウイルス K3, 5	ユビキチン化	促進	MHC class I	CD8 <sup>+</sup> T 細胞からの回避
ヒト T 細胞白血病ウイルス Tax	20 S プロテアソーム, NF- $\kappa$ B の前駆体に結合	促進	NF- $\kappa$ B	NF- $\kappa$ B 活性化による T 細胞増殖因子の維持
EB ウイルス EBNA	PA700 に結合	抑制	抗原	CD8 <sup>+</sup> T 細胞からの回避
	脱ユビキチン化阻害	抑制	抗原	CD8 <sup>+</sup> T 細胞からの回避
ホジキンリンパ腫	免疫プロテアソーム阻害	抑制	LMP2	CD8 <sup>+</sup> T 細胞からの回避
小細胞癌, メラノーマ	免疫プロテアソーム阻害	抑制	LMP2, 7	CD8 <sup>+</sup> T 細胞からの回避

癌遺伝子がユビキチン-プロテアソーム経路を標的とした分子をコードすることが知られている (表1)。よく知られている例では BRCA1 がある。この遺伝子産物はユビキチン化修飾の最終段階を担う E3 の機能を持っており、遺伝子に変異があると女性における乳癌の発症リスクが 60~80% となる<sup>17)</sup>。本乳癌発癌に関わる必須な基質は同定されていないが、ユビキチン化の欠陥による発癌の例である。逆にウイルスがユビキチン-プロテアソーム経路を活性化することによって発癌させる機序もある。例えば、生殖器の腫瘍の原因となるパピローマウイルスのある遺伝子産物は抗腫瘍因子である pBR, p53 をユビキチン化し分解を促進することで腫瘍化を起こす<sup>18)19)</sup>。ヒト T 細胞白血病ウイルスの発ガン性に関わる Tax 蛋白は免疫系を活性化する転写因子 NF- $\kappa$ B の前駆体とプロテアソームのサブユニットに結合しプロテアソームによる限定分解により NF- $\kappa$ B を活性化し、T 細胞の増殖因子である IL-2 の産生を促す<sup>20)</sup>。

細胞周期の変調のみならず、免疫回避の戦略としても重要な標的となる。カポジ肉腫ウイルスの K3, 5 蛋白質は MHC class I 分子をユビキチン化することで分解を促進し CTL の誘導を抑制する<sup>21)</sup>。EB ウイルスの EBNA1 蛋白質は 19S サブユニットに結合すること、あるいはポリユビキチン鎖を外す酵素を阻害することで<sup>22)</sup> プロテアソームによるポリユビキチン化蛋白質の分解を妨げる。また、ホジキンリンパ腫等の臨床分離腫瘍において免疫プロテアソームのサブユニットである LMP2, LMP7 の発現が低下していることが知られている<sup>23)</sup>。このように腫瘍化細胞は細胞障害性 CD8<sup>+</sup>T 細胞からの認識から逃れるためにユビキチン-プロテアソーム経路の機能を抑制しようとする。従って、この経路を正常化あるいは強化することで効果的な抗腫瘍免疫の誘導が可能となると考えられる。

一方でユビキチン-プロテアソーム経路は細胞内蛋白質分解の主役を成しており、変異/変性蛋白質の処理による細胞機能の維持に必須であるため、増殖分裂の盛んな腫瘍化細胞の旺盛な蛋白質新生、分解機序にも必須の関わりをもっておりプロテアソーム特異的な阻害剤が抗癌剤として開発されている。

## 5. ユビキチン-プロテアソーム経路を標的とした免疫療法

### 1. ユビキチン融合腫瘍抗原遺伝子

筆者等は効率良く抗原特異的な CD8<sup>+</sup>T 細胞を誘導する免疫療法を考案するために CD8<sup>+</sup>T 細胞への抗原提示の第一ステップであるユビキチン-プロテアソーム経路に着目した。すなわち腫瘍抗原にユビキチンを融合させることで速やかなポリユビキチン化を誘導しその結果プロテアソームでの蛋白質分解を促進させるという戦略である (図2)。用いたユビキチン遺伝子はモノマーをコードするもので、標的癌抗原遺伝子の 5' 側に融合させた。ユビキチンプロセシング酵素による切断から保護するためにユビキチンの C 末端のグリシンをアラニンに置換し、ユビキチンと標的抗原が分断しないようにした。

### 2. マウスメラノーマモデルにおけるユビキチン融合 DNA 免疫療法の評価

マウスメラノーマモデルを用いて腫瘍に対するワクチン効果を評価した<sup>24)</sup>。腫瘍抗原にはメラノーマ/メラノサイト特異的な抗原であり CD8<sup>+</sup>T 細胞エピートープを含んでいることが知られている全長の TRP2 (tyrosinase related protein 2) を標的抗原とした。動物実験に先立って試験管内で、TRP2 をユビキチン

と融合することでプロテアソームでの分解が促進されることの確認実験を行った(図4A)。まず培養細胞に TRP2 遺伝子を導入した場合とユビキチン融合 TRP2 遺伝子を導入した場合における TRP2 蛋白質の発現量を比較したところ後者の細胞では発現が顕著に低下していた。そこでこれらの遺伝子導入細胞をプロテアソーム阻害剤と共培養したところ融合遺伝子導入群では TRP2 蛋白質は著しい集積が認められた。これらの結果はユビキチンを人工的に融合した TRP2 蛋白質は細胞内で選択的にユビキチン-プロテアソーム経路に誘導され、盛んに分解されることを示唆した。

C57BL/6 マウスに同系のメラノーマ細胞 B16F1 を皮内接種すると経時的に腫瘍は増大し、接種から 2

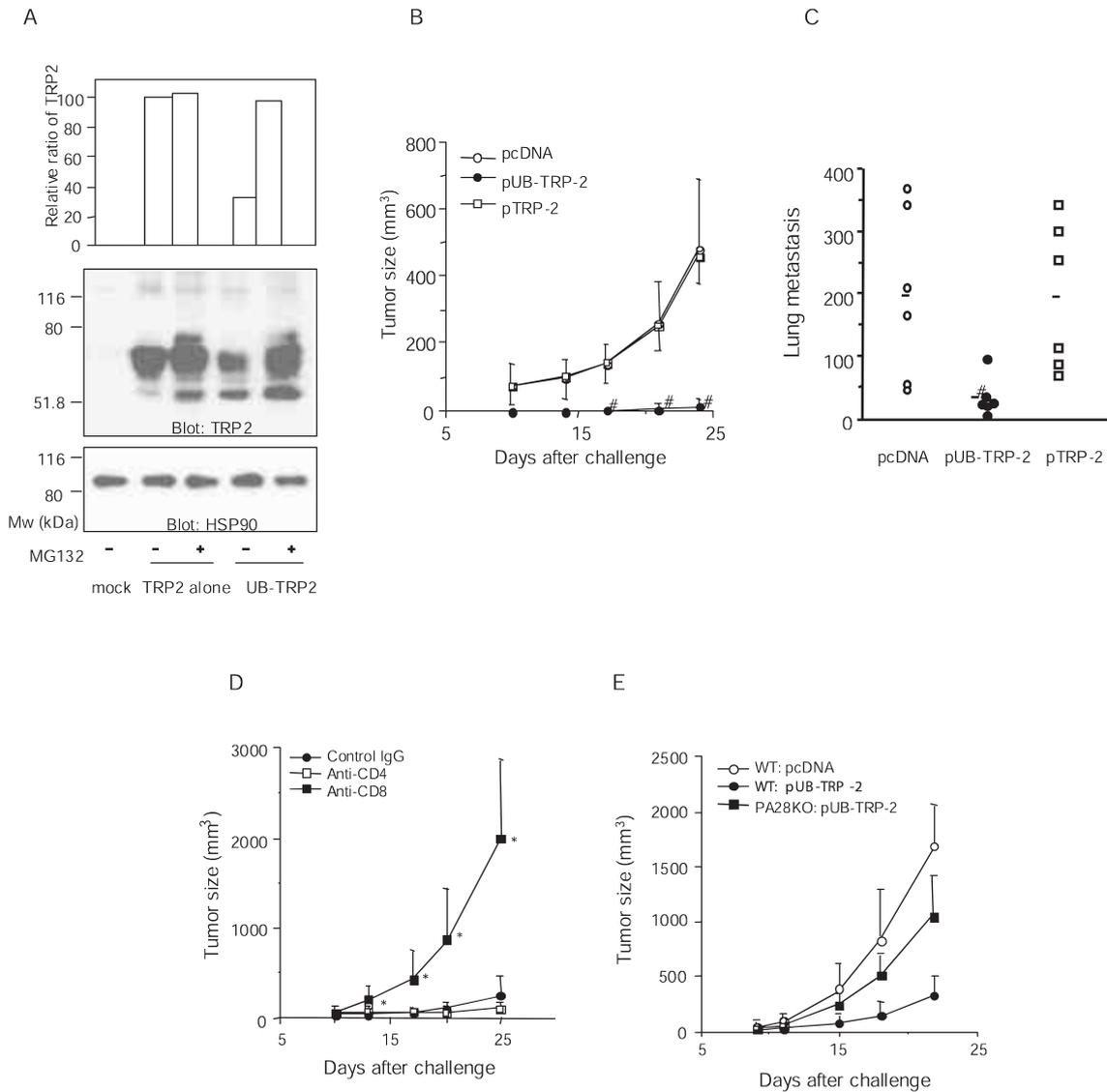


図4 ユビキチン融合腫瘍抗原遺伝子ワクチンの抗メラノーマ効果

A ユビキチン化 TRP2 のプロテアソームによる分解の亢進。培養細胞に TRP2 発現遺伝子を導入後、プロテアソーム阻害剤 MG132 の存在下で培養し、細胞抽出物中の TRP2 を免疫ブロットで検出した。HSP90 の発現量で標準化することで定量化した。B ユビキチン融合 TRP2 遺伝子ワクチンによる抗メラノーマ活性の誘導。各種発現プラスミドで免疫したマウスにメラノーマを接種した後、腫瘍の増殖を観察した。C 肺転移モデルにおけるユビキチン融合 TRP2 遺伝子ワクチンの効果。ワクチン接種マウスにメラノーマを静脈内投与し 2 週間後の肺における転移巣を観察した。D 抗メラノーマ免疫における CD8<sup>+</sup>T 細胞の重要性。ユビキチン融合 TRP2 ワクチン後に各種抗体により対応する T 細胞を除去したマウスにメラノーマを接種した。E 抗メラノーマ免疫誘導における PA28 の必要性。PA28 欠損マウスにユビキチン融合 TRP2 による免疫後メラノーマを接種した。

ヶ月後には全例が死亡する。腫瘍接種前にユビキチン融合 TRP2 遺伝子 (全長) を用いて遺伝子銃により DNA ワクチンを行った。TRP2 単独の遺伝子をワクチンしたマウスでは抗腫瘍効果は獲得できず、ワクチン非接種マウスと同様に腫瘍の急速な増大により全例が死亡した。一方、ユビキチン融合 TRP2 遺伝子によるワクチン接種を受けたマウスではメラノーマの発育は顕著に抑制され、メラノーマの生着も認められない個体もあり、全例が3ヶ月以上生存し、また強い転移抑制効果も認められた (図 4 B, C)。ユビキチン融合 TRP2 遺伝子ワクチンの抗メラノーマ効果は腫瘍接種直前に CD8<sup>+</sup>T 細胞を抗 CD8 抗体の投与により除去することで完全に阻害された (図 4 D)。さらに、ユビキチン融合遺伝子ワクチンにより抗原特異的な CD8<sup>+</sup>T 細胞の増加、CD8<sup>+</sup>T 細胞の細胞障害活性・IFN- $\gamma$  産生の上昇が確認された。また、ワクチン効果だけでなく樹立したメラノーマに対する治療効果も認められた。これらの事実からユビキチン融合ワクチンが抗原特異的に CD8<sup>+</sup>T 細胞を活性化することで抗腫瘍免疫を賦与していることが示された。

さらに抗腫瘍効果誘導にプロテアソームが関与しているかを生体内で確かめるために遺伝子欠損マウスを用いて検討した。プロテアソームは細胞機能の維持に必須であり、構成型プロテアソームのいずれのサブユニットが欠損してもマウスは致死的となり生存し得ない。しかしながら、IFN- $\gamma$  誘導性の調節サブユニットである PA28 欠損マウスは野生型と同様生存する。PA28 遺伝子欠損マウスにユビキチン融合 DNA を接種すると、野生型マウスで見られた抗腫瘍免疫は成立せず、腫瘍は増大した (図 4 E)。また、このマウスから採取した CD8<sup>+</sup>T 細胞の TRP2 エピトープ特異的細胞障害活性は野生型マウスと比べ、著しく低下していた。以上の結果から全長 TRP2 から class I エピトープの切り出し・提示は PA28 依存的であり、PA28 の関与するプロテアソーム活性が必須であることが明らかとなった。蛋白質分解酵素活性を持つサブユニットの関与を LMP2, LMP7 遺伝子欠損マウスを用いて解析したところ PA28 欠損マウスと同様にユビキチン-TRP2 ワクチンの効果は全く見られなかった。著者等のグループでは同様のアプローチが肺癌<sup>25)</sup>、消化器癌モデルでも有効性を発揮することを確認している。

## おわりに

ユビキチン-プロテアソーム経路は高等動物においては本来の機能の延長線上に腫瘍抗原を含めた異物抗原の排除を担う CD8<sup>+</sup>T 細胞の活性化にも関わっている。筆者等の提唱するユビキチン融合遺伝子による免疫療法はこのシステムを利用することで抗原特異的 CD8<sup>+</sup>T 細胞を効率良く誘導できる。抗原蛋白質から CD8<sup>+</sup>T 細胞エピトープの切り出し過程には不明な点も多く、そのメカニズムを明らかにすることでさらに効率良い CD8<sup>+</sup>T 細胞の誘導できる可能性がある。将来的には臨床応用を目指しており、基礎的探究に加え遺伝子導入法なども検討課題となるであろう。

## 参 考 文 献

- 1) Germain RN: MHC-dependent antigen processing and peptide presentation: providing ligand for T lymphocyte activation. *Cell* 76: 287-89, 1994.
- 2) Berke G: The CTL's kiss of death. *Cell* 81: 9-12, 1995.
- 3) Houde M, Bertholet S, Gagnon E, Brunet s, Goyette G, Laplante A, Princiotta MF, Thibault P, Sacks D and Desjardins M: Phagosomes are competent organelles for antigen cross-presentation. *Nature* 425: 402-406, 2003.
- 4) Guermonprez P, Saveanu L, Kleijmeer M, Davoust J, Van Endert P and Amigorena S: ER-phagosome fusion defines an MHC class I cross-presentation compartment in dendritic cells. *Nature* 425: 397-402, 2003.
- 5) Pickart CM and Rose IA: Ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase acts on ubiquitin carboxyl-terminal amides. *J. Biol. Chem.* 261: 10210-10217, 1985.
- 6) Glickman MH and Ciechanover A: The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: destruction for the sake of construction. *Physiol. Rev.* 82, 373-428, 1998.
- 7) Pickart CM: Ubiquitin enters the new millennium. *Mol. Cell* 8: 499-504, 2001.
- 8) Hicke L: Protein regulation by monoubiquitin. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2: 195-201, 2001.

- 9) Orłowski M, Cardozo C and Michaud C : Evidence for the presence of five distinct proteolytic components in the pituitary multicatalytic proteinase complex. Properties of two components cleaving bonds on the carboxyl side of branched chain and small neutral amino acids. *Biochemistry* 32 : 1563-72, 1993.
- 10) Aki M, Shimbara N, Takashina M, Akiyama K, Kagawa S, Tamura T, Tanahashi N, Yoshimura T, Tanaka K and Ichihara A : Interferon- $\gamma$  induces different subunit organizations and functional diversity of proteasomes. *J. Biochem.* 115 : 257-269, 1994.
- 11) Bose S, Stratfor FL, Braofoot KI, Mason GG and Rivertt AJ : Phosphorylation of 20 S proteasome  $\alpha$  subunit C8 ( $\alpha 7$ ) stabilizes the 26S proteasome and plays a role in the regulation of proteasome complexes by  $\gamma$ -interferon. *Biochem. J.* 378 : 177-84, 2004.
- 12) Dubiel W, Pratt G, Ferrell K and Rechsteiner M : Purification of an 11 S regulator of the multicatalytic proteinase. *J. Biol. Chem.* 267 : 22369-22377, 1992.
- 13) Dick TP, Ruppert T, Groettrup M, Kloetzel PM, Kuehn L, Koszinowski UH, Stevanovic S, Schild H and Rammensee HG : Coordinated dual cleavages induced by the proteasome regulator PA28 lead to dominant MHC ligands. *Cell* 86 : 253-262, 1996.
- 14]** Kloetzel PM : Generation of major histocompatibility complex class I antigens : functional interplay between proteasomes and TPPII. *Nat. Immunol.* 5 : 661-669, 2004.
- 15) Reits E, Neijssen J, Herberts C, Benckhuijsen W, Janssen L, Drijfhout UW and Neefjes J : A role for TPPII in trimming proteasomal degradation products for MHC class I antigen presentation. *Immunity* 20 : 495-506, 2004.
- 16]** York IA, Brehm MA, Zendzian S, Town CF and Rock KL : The ER aminopeptidase ERAP1 enhances or limits antigen presentation by trimming epitopes to 8-9 residues. *Nat. Immunol.* 3 : 1177-1188, 2002.
- 17) Ohta T and Fukuda M : Ubiquitin and breast cancer. *Oncogene* 23 : 2079-2088, 2004.
- 18) Munger K and Howley PM : Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res.* 89 : 213-28, 2002.
- 19) Fruh K, Bartee E, Gouveia K and Mansouri M : Immune evasion by a novel family of viral PHD/LAP-finger proteins of  $\gamma$ -2 herpesviruses and poxviruses. *Virus Res.* 88 : 55-69, 2002.
- 20) Rousset R, Desbois C, Bantignies F and Jalinot P : Effects on NF- $\kappa$ B1/p105 processing of the interaction between the HTLV-1 transactivator Tax and the proteasome. *Nature* 381 : 328-331, 1996.
- 21) Lorenzo ME, Jung JU and Ploegh HL : Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus K3 utilizes the ubiquitin-proteasome system in routing class I major histocompatibility complexes to late endocytic compartments. *J. Virol.* 76 : 5522-5531, 2002.
- 22) Mukherjee S, Trivedi P, Dorfman DM, Klein G and Townsend A : Murine cytotoxic T lymphocytes recognize an epitope in an EBNA-1 fragment, but fail to lyse EBNA-1-expressing mouse cells. *J. Exp. Med.* 187 : 445-450, 1998.
- 23) Seliger B, Maeurer MJ and Ferrone S : Antigen-processing machinery breakdown and tumor growth. *Immunol. Today* 9 : 455-464, 2000.
- 24]** Zhang M, Obata C, Hisaeda H, Ishii K, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Li Y, Furue M, Chou B, Imai T, Duan X and Himeno K : A novel DNA vaccine based on ubiquitin-proteasome pathway targeting 'self' antigens expressed in melanoma/melanocyte. *Gene Ther.* 12 : 1049-1057, 2005.
- 25]** Duan X, Hisaeda H, Shen J, Tu L, Imai T, Chou B, Murata S, Chiba T, Tanaka K, Fehling HJ, Koga T, Sueishi K and Himeno K : The ubiquitin-proteasome system plays essential roles in presenting an 8-mer CTL epitope expressed in APC to corresponding CD8<sup>+</sup>T cells. *Int. Immunol.* 18 : 679-687 2006.

(参考文献のうち、数字がゴシック体で表示されているものについては、著者により重要なものと指定された分です。)