

py using ACK2 as preconditioning. 第24回日本遺伝子細胞治療学会学術集会, 東京, 7月.

- 15) Miwa S, Shimada Y, Higuchi T, Kobayashi H, Muramatsu S<sup>1)</sup>, Yamagata T<sup>1)</sup>(<sup>1</sup>Jichi Med Univ), Ohashi T. (Poster) Intravenous AAV9-mediated gene therapy ameliorates neuronal disease of mucopolysaccharidosis type II (MPS II). 26th Annual Congress of ESGCT (European Society of Gene and Cell Therapy). Lausanne, Oct.
- 16) 角皆季樹, 作間未織, 森田麻子, 大橋十也, 井田博幸. 慈恵ファブリー病レジストリを用いた日本人ファブリー病患者の5年間の追跡結果. 第60回日本先天代謝異常学会. 岐阜, 11月.
- 17) 嶋田洋太, 石井夏美, 後藤元人, 樋口 孝, 小林博司, 大橋十也. ヒト造血幹細胞の移植が可能な新たなムコ多糖症II型モデルマウスの樹立. 第60回日本先天代謝異常学会. 岐阜, 11月.
- 18) 樋口 孝. AAVベクターを用いたファブリー病末梢神経症状の遺伝子治療. 第3回日本遺伝子細胞治療学会若手研究会セミナー. 東京, 12月.
- 19) Hamura R, Shirai Y, Saito N, Taniai T, Shimada Y, Horiuchi T, Sugano H, Takada N, Kanegae Y, Ohashi T, Yanaga K. Inhibition of lysosomal enzyme activity enhances antitumor effect of gemcitabine in pancreatic cancer cells. 14th Annual Academic Surgical Congress (ASC). Houston, Feb.
- 20) Takada N, Sugano H, Shirai Y, Saito N, Hamura R, Taniai T, Shiba H, Eto K, Uwagawa T, Ohashi T, Yanaga K. Combination radiotherapy with NF- $\kappa$ B inhibitor enhances the antitumor effect of gallbladder cancer. 14th Annual Academic Surgical Congress (ASC). Houston, Feb.

## 悪性腫瘍治療研究部

教授: 本間 定 腫瘍免疫学  
 准教授: 赤崎 安晴 悪性脳腫瘍の診断と治療,  
 樹状細胞ワクチン  
(脳神経外科学講座より出向中)  
 准教授: 小井戸薫雄 消化器病学, 膵癌, がんワクチン  
(内科学講座(消化器・肝臓内科)より出向中)  
 講師: 伊藤 正紀 分子生物学  
 講師: 鎌田 裕子 分子生物学

### 教育・研究概要

#### I. 大腸がんの予後予測因子としての血中可溶性OX40 (sOX40) の意義

OX40はT細胞表面に発現する共刺激分子の一種であり, 抗原提示細胞に発現するOX40 ligand (OX40L) と結合するとT細胞に活性化シグナルを送ることから, T細胞を介した抗腫瘍免疫の制御には極めて重要な分子である。また, OX40はT細胞表面からsheddingにより放出されることが知られており (sOX40), 腫瘍免疫を含む広範な免疫反応を修飾する可能性があり注目されている。sOX40測定のためのELISA系が確立されたことから, 大腸がん患者血中sOX40値を測定し, その臨床的特徴との相関を検討した。22例の進行大腸がん患者で検討すると, 血中sOX40は健常者に比較して有意に高値であり, CEA, CA19-9, CRP, sPD-L1とは正の相関関係を, 血中アルブミン値, 生存期間とは負の相関関係を示した。血中sOX40値は患者末梢血単核球(PBMC)の各種サイトカイン(インターフェロン- $\gamma$ , IL-4, IL-6, IL-10)のmRNA発現量とは相関がなく, また, PD-1発現CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>細胞の頻度とも関連しなかった。しかし, 大腸がん患者の全生存期間とsOX40の関連を単変量解析, ならびに多変量解析を用いて検討すると, sOX40が150pg/mlより高値の症例は150pg/mlより低値の症例に比較して有意に全生存期間は短縮していた。sOX40は元来のOX40/OX40Lの反応を阻害することによりT細胞の活性化と抗腫瘍免疫反応を抑制し, その結果, sOX40高値は大腸がん患者の予後の不良に関連することが示唆された。

#### II. 人工抗原ワクチンを用いたWilms tumor 1 (WT1) 特異的細胞傷害性T細胞の誘導

ワクチンにはアジュバントが必須である。機能的な観点から, アジュバントは二つのカテゴリーに分

ける事ができる。物理アジュバントは、抗原提示細胞による抗原の取込を促進させる働きがあり、信号アジュバントは抗原提示細胞の成熟化を促進する。我々は、これまでに OVA (Ovalbumin) をモデル抗原として、モチーフプログラミング (分子進化学技術) を用いて物理アジュバント機能を人工抗原 F37A に導入できることを明らかにしてきた (Ito M, et al. PLoS One 2014, 2017)。本年度は人工抗原 F37A の MHC class I と class II エピトープを WT1 に置き換えた人工抗原 WT1-C2 を作成した。WT1-C2 をヒト末梢血単核球と混合培養すると、WT1-C2 人工抗原は樹状細胞に取り込まれ (Flow cytometry), WT1 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を誘導できることがわかった (Tetramer assay)。誘導された WT1 特異的 CTL は WT1 エピトープペプチドをパルスした T2-A24 細胞に対して細胞傷害性を示した (CTL assay)。これらの結果から、F37A の OVA エピトープを目的のエピトープに置換することにより、標的細胞に対する CTL を誘導できる物理アジュバントフリー人工抗原を作成するためのフレームワークタンパク質として人工抗原 F37A が利用できる事が明らかとなった。

### Ⅲ. 脳腫瘍における腫瘍変異抗原の探索

悪性腫瘍治療研究部は脳神経外科学講座と共同で脳腫瘍に対する樹状細胞・腫瘍細胞融合ワクチン療法を行ってきた。この治療は樹状細胞と外科的に切除した腫瘍細胞を融合させこれをワクチンとして投与するものである。腫瘍免疫においては、腫瘍の遺伝子変異に由来する変異型ペプチドが腫瘍変異抗原として機能すると考えられている。我々は脳腫瘍の全エクソン解析と全トランスクリプトーム解析を行い腫瘍変異抗原の探索とその解析を行っている。今年度から新たに脳神経外科学講座、小児科学講座と共同で小児脳腫瘍患者に対しても樹状細胞・腫瘍細胞融合ワクチン療法の臨床試験が開始された。治療を行った小児脳腫瘍 (1 例) において腫瘍変異抗原の探索を行ったところ複数の腫瘍変異抗原候補が見つかった。また、樹状細胞・腫瘍細胞融合ワクチン療法では、腫瘍幹細胞様細胞への免疫反応を増強させる目的で、通常培養した腫瘍細胞だけでなく腫瘍細胞を腫瘍幹細胞様細胞へと誘導した細胞を樹状細胞と融合させワクチンとすることがある。通常培養した腫瘍細胞と腫瘍幹細胞様細胞のそれぞれにおいて腫瘍変異抗原を探索したところ、腫瘍幹細胞様細胞に特異的な腫瘍変異抗原候補が見つかった。腫瘍細胞だけでなく腫瘍幹細胞様細胞もあわせて樹状細胞

と融合させることにより腫瘍幹細胞様細胞特異的な変異抗原を利用できるため、悪性度の高い腫瘍幹細胞様細胞を効果的に標的とすることができる可能性が示唆された。現在今回発見されたペプチドの抗腫瘍効果や遺伝子変異の頻度などの解析を行っており、今後樹状細胞・腫瘍細胞融合ワクチンだけでなくペプチドワクチン製剤化など新たな治療法の開発が期待される。

### 「点検・評価」

本年度の研究により、T 細胞免疫反応を正に制御する共刺激分子 OX40 の可溶性分子 sOX40 が大腸がん患者において抗腫瘍免疫反応を負に制御している可能性が示された。OX40/OX40L の反応は T 細胞活性化を誘導するが、sOX40 は OX40/OX40L の反応を阻止して T 細胞活性化を抑制し、大腸がん患者の予後を悪化させる一因となっていることが想定される。小規模な研究ながら OX40 に関する初の知見の報告であり、sOX40 は大腸がんの予後予測因子としての意義ばかりでなく、新たな免疫チェックポイントとしての意義を有していることも推察され、sOX40 の制御が未来のがん治療に結びつく可能性を示唆している。従来から OVA を標的抗原として研究されてきた人工蛋白ワクチン研究において、人工抗原 F37A の MHC class I と class II エピトープを代表的なヒト腫瘍抗原である WT1 に置き換えた人工抗原 WT1-C2 を作成しその免疫原性を検討すると、WT1 特異的 CTL の誘導能を示すことが証明された。今後この技術ががんの変異抗原に対するワクチン開発に寄与することが期待される。なお、本年度、人工蛋白ワクチンの研究は特許を取得した (特許第 6406647 号：細胞性免疫誘導ワクチン、登録日：2018 年 9 月 28 日、発明者：伊藤正紀、芝清隆)。悪性脳腫瘍に対する樹状細胞療法において、樹状細胞ワクチンにより誘導される腫瘍抗原特異的な細胞障害性 T 治療細胞の標的抗原となる遺伝子変異の具体像が明確となってきたことは意義深い。変異抗原の構造の全貌が明らかとなれば、現在世界中で精力的に研究が行われている悪性腫瘍の変異抗原標的としたペプチドワクチン開発に寄与することが期待される。また、悪性脳腫瘍はがん幹細胞の研究には極めて取り組みやすい分野であり、本研究の発展は他分野では研究の進展が遅れているがん幹細胞の特異抗原の同定に結びつく期待を有している。

本研究部門は部門長が本年度をもって定年退職となるため、新たな研究課題の推進というよりは、これまで行われてきた研究をまとめ上げることに力点

がおかれた。次年度からは、新たな指導者の下でこれまで蓄積してきた知見を生かした効果的で実用性のあるがん治療の研究が推進されることが期待される。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Shimamoto N, Imazu H, Homma S, Sumiyama K. Vascular endothelial growth factor receptor 2-targeted ultrasound contrast agent selectively accumulates in pancreatic carcinoma in the allograft mouse model: A pilot study using time-intensity curve analysis of EUS imaging. *Endosc Ultrasound* 2019; 8(1): 69-71.
- 2) Okui N, Kamata Y, Sagawa Y, Kuhara A, Hayashi K, Uwagawa T, Homma S, Yanaga K. Claudin 7 as a possible novel molecular target for the treatment of pancreatic cancer. *Pancreatology* 2019; 19(1): 88-96.
- 3) Okuma Y, Wakui H, Utsumi H, Sagawa Y, Hosomi Y, Kuwano K, Homma S. Soluble programmed cell death ligand 1 as a novel biomarker for nivolumab therapy for non-small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 2018; 19(5): 410-7. e1.
- 4) Okuma Y, Kashima J, Watanabe K, Homma S. Survival analysis and pathological features of advanced non-small cell lung cancer with miliary pulmonary metastases in patients harboring epidermal growth factor receptor mutations. *J Cancer Res Clin Oncol* 2018; 144(8): 1601-11.
- 5) Honda M, Kimura T, Kamata Y, Tashiro K, Kimura S, Koike Y, Sato S, Yorozu T, Furusato B, Takahashi H, Kiyota H, Egawa S. Differential expression of androgen receptor variants in hormone-sensitive prostate cancer xenografts, castration-resistant sublines, and patient specimens according to the treatment sequence. *Prostate* 2019; 79(9): 1043-52.
- 6) 本間 定. (シンポジウム) WT1 を標的抗原とした進行膀胱癌に対する樹状細胞療法. 免疫・細胞治療セミナー2018. 東京, 6月.
- 7) Shimamoto N, Imazu H, Chiba M, Ito M, Homma S, Sumiyama K. (Poster) Gemcitabine-mediated antitumor effect for pancreatic ductal adenocarcinoma enhanced with VEGFR2-targeted microbubble destruction using endoscopic ultrasound. A pilot study using mouse allograft models. DDW (Digestive Disease Week) 2018. Washington, D.C., June.
- 8) 鎌田裕子, 木村高弘, 本多真理子, 颯川 晋, 本間 定. (ポスター) ホルモン感受性および去勢抵抗性前立腺癌移植モデルにおける融合遺伝子産物の探索. 第77回日本癌学会学術総会. 大阪, 9月.
- 9) 赤崎安晴, 鎌田裕子, 武井 淳, 山本洋平, 森 良介, 田中俊英, 菊池哲郎, 柳澤隆昭, 本間 定, 村山雄一. (口頭) 自家腫瘍細胞を用いたグリオーマ免疫療法の問題点-グリオーマ由来の抗腫瘍免疫阻害因子の解析-. 日本脳神経外科学会第77回学術総会. 仙台, 10月.
- 10) 和久井大, 大熊裕介, 内海裕文, 細見幸生, 本間 定, 桑野和善. (口頭) 非小細胞肺癌に対するニボルマブ療法における血中可溶性PD-L1の効果予測マーカーとしての有用性の検討. 第59回日本肺癌学会学術集会. 東京, 11月.
- 11) 赤崎安晴, 鎌田裕子, 武井 淳, 山本洋平, 森 良介, 田中俊英, 菊池哲郎, 柳澤隆昭, 本間 定, 村山雄一. (口頭) グリオーマ細胞におけるネオアンチゲン並びに抗腫瘍免疫阻害因子の解析. 第36回日本脳腫瘍学会学術集会. 小田原, 12月.
- 12) 伊藤正紀. (口頭) アジュバントフリー人工抗原ワクチンの開発. 第7回日本免疫・細胞治療学会学術総会. 東京, 12月.
- 13) 本間 定. (口頭) 脳腫瘍に対する免疫治療-その特殊性と有効性-. 第56回ニューロオンコロジーの会. 東京, 1月.

### III. 学会発表

- 1) 本間 定. (シンポジウム) WT1 を標的抗原とした進行膀胱癌に対する樹状細胞療法. 免疫・細胞治療セミナー2018. 東京, 6月.
- 2) Shimamoto N, Imazu H, Chiba M, Ito M, Homma S, Sumiyama K. (Poster) Gemcitabine-mediated antitumor effect for pancreatic ductal adenocarcinoma enhanced with VEGFR2-targeted microbubble destruction using endoscopic ultrasound. A pilot study using mouse allograft models. DDW (Digestive Disease