

Meeting of the European Society of Gene Therapy.
Athens, Nov.

IV. 著 書

- 1) 佐々木敬, 田嶋尚子. 1 型糖尿病. 日本臨床: 別冊: 新領域別症候群シリーズ: 内分泌症候群 III. 第 2 版. 東京: 日本臨床社, 2007. p.26-30.

V. その他

- 1) 佐々木敬. 期待される新たな治療法. 第 11 回かしわ会総会. 柏, 4 月.

悪性腫瘍治療研究部

教 授: 衛藤 義勝	遺伝子治療
教 授: 銭谷 幹男	肝臓病学・肝疾患の細胞生物学
助教授: 本間 定	腫瘍免疫学・消化器肝臓病学
助教授: 山田 順子	血液学・分子腫瘍学
助教授: 菊池 哲郎	脳腫瘍の治療・分子生物学

研 究 概 要

樹状細胞を利用した抗腫瘍免疫反応誘導についての研究

I. プロテオーム解析技術 (LC/MS/MS) を用いた新規腫瘍抗原の探索と生体の抗腫瘍免疫反応

腫瘍細胞は特異的 T 細胞受容体に認識される腫瘍関連抗原 (tumor associated antigen: TAA) を発現するが, TAA に対してどのような免疫反応が誘導されているか不明な点が多い。われわれはプロテオーム解析技術 (LC/MS/MS) を活用してマウス肝癌細胞に発現される TAA を同定し, 宿主の抗腫瘍免疫を検討した。骨髓由来樹状細胞に C3H/HeN マウス自然発生肝癌から樹立した MIH-2 細胞を取り込ませ可溶化し, I-A^k affinity column で MHC class II 分子・抗原ペプチド複合体を精製した。酸処理後ペプチドを遊離し解析したところ, EMTK という oligopeptide が同定された。このペプチドは MIH-2 細胞に発現する Cytochrome P-450 2j subfamily (CYP2js) 分子に由来する。CYP2js の EMTK の N 末側には I-A^k (MHC class II) 結合モチーフ構造が認められ, このペプチド (DFIDAFL-KEMTKYPE) がヘルパーエпитープとして提示されていることが示唆された。ペプチドを合成しマウスに 2 回免疫すると脾細胞は IFN- γ を大量に産生し, CYP2js ペプチドが抗原性を有し抗腫瘍効果を誘導する事が示された。しかし, 8 回免疫すると脾細胞からの IFN- γ の産生は完全に抑制され, 脾細胞には免疫抑制機能を示す CD4⁺FoxP3⁺ の抑制性 T 細胞 (Treg) と CD11b⁺Gr-1⁺ の未熟ミエロイド細胞 (IMC) が増加していた。腫瘍は発生初期において TAA に対する宿主の抗腫瘍免疫反応により排除される可能性があるが, 抗原刺激過剰状態になると逆に抗腫瘍免疫が抑制され腫瘍発育が促進されると考えられる。

II. 造血管腫瘍に対する腫瘍/樹状細胞の融合細胞を用いた抗腫瘍免疫の誘導に関する研究

造血管腫瘍は免疫反応を担当するリンパ球や樹状細胞の基となる骨髓球系細胞の腫瘍化であり、抗腫瘍免疫の成立が固形腫瘍と異なることが予想される。そこでリンパ腫を対象として融合細胞ワクチンによる抗腫瘍効果成立について検討した。マウス T リンパ腫 L5178R 細胞は腹腔内移植後 14 日で腫瘍死に至る経過の早いリンパ腫であるが、移植前に 2 回融合細胞ワクチンを投与すると約 1/3 のマウスは発症せず生存した。この生存マウスに L5178R 細胞を再投与しても腫瘍は生じず免疫を獲得していた。このマウスより細胞障害性リンパ球を検出することはできず、腫瘍細胞を認識する抗体が産生されていた。

III. 脳腫瘍に対する免疫療法の基礎的・臨床的研究

我々は再発悪性神経膠腫に対し樹状細胞と腫瘍細胞の融合細胞とインターロイキン 12 を用いた免疫療法の臨床応用を行い、約 25% の症例に対して有効という結果を得た。しかし、免疫療法の利点を考えるとむしろ再発予防として用いるべきと思われる。そこで、現在は本学倫理委員会の承諾を得、再発予防(維持療法)として融合細胞治療を行っている。まだその症例数が少なく治療効果の評価には至っていないが、安全性に関しては副作用もなく問題はない。免疫療法の課題として、腫瘍細胞による免疫抑制効果がある。腫瘍細胞が放出する多くの免疫抑制物質が原因と考えられている。Stat-3 はサイトカインのシグナル伝達に関与する物質であり、大半の腫瘍細胞で発現され腫瘍細胞の増殖促進や樹状細胞の成熟抑制に作用している。そこで、腫瘍細胞の Stat-3 を siRNA で抑制し、融合細胞による免疫反応への影響を検討している。

IV. 白血病細胞の接着と分化についての研究

白血病細胞株 JAS-R は急性白血病 AML M7 患者末梢血より樹立された巨核球/赤芽球前駆細胞レベルの培養細胞である。巨核球系の培養細胞は数少なく巨核球分化メカニズムの研究に貴重である。JAS-R 細胞の一部は 2 価イオン依存性にコラーゲン・フィブロネクチンに接着し複数の細胞突起を形成する。そこで、接着細胞と非接着細胞を分離して調べたところ、接着細胞ではトロンボスポンジンや PF4 といった血小板成分を多く発現しており、 β -グロビンが低下するなど、巨核球へ分化していること

が判明した。付着細胞では巨核球分化に重要な転写因子 ets ファミリーの一つ FLI-1 がより強く発現しており、インテグリン刺激から FLI-1 発現調節に至るシグナルを想定しその解明を進めている。

「点検・評価」

① 研究について

樹状細胞による抗腫瘍効果については実験動物を用いた一つの系について免疫反応機序から殺細胞機構まで詳しく解析し報告した。肝癌で IFN- γ によりアポトーシスに至る細胞はこれまで報告がなく、抗腫瘍免疫の多様性の一端を窺わせる結果だった。また、抗腫瘍免疫反応を臨床効果に結びつける工夫をいくつかの系を利用して試みている。特に、脳腫瘍については治療時期をずらし臨床研究として予防効果を検討しており、これは学内で施行されている唯一の細胞療法である。白血病分化の研究は対象が具体化でき今後の発展に結びつけられる。

② 教育について

研究室配属・選択実習を通じて学生に直接指導する機会を維持している。大学院教育は日常の実験とともに行うことで指導している。良いコミュニケーションを心がけ院生にとって充実した時期となるよう配慮している。

評価

研究所が目標としている Bench to Bed, Bedside to Bench の双方向を活性化するために、各研究者は seeds を育み臨床への還元を目指してそれぞれの段階で尽力している。結果として毎年相当の研究業績を出すことができている。また、大型研究機器の管理を通じ部として学内研究者に貢献していると自負している。

医学研究の困難な時期に各自の理念を貫くのみならず、研究を目指す医師のハードルを少しでも低くする必要がある。加えて、大学全体が活性化するようにさらなる臨床研究の遂行が望まれる。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Homma S, Sagawa Y, Komita H, Koido S, Nagasaki E, Ryoma T, Okamoto M. Mechanism of antitumor effect on mouse hepatocellular carcinoma by intratumoral injection of OK-432, a streptococcal preparation. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56(8): 1265-74.
- 2) Homma S, Sagawa Y, Ito M, Ohno T, Toda G. Cancer immunotherapy using dendritic/tumor-

fusion vaccine induces elevation of serum anti-nuclear antibody with better clinical responses. Clin Exp Immunol 2006; 144(1): 41-7.

- 3) Koido S, Hara E (Saitama Cancer Center), Homma S, Torii A, Mitsunaga M, Yanagisawa S, Toyama Y, Kawahara H, Watanabe M, Yoshida S, Kobayashi S, Yanaga K, Fujise K, Tajiri H. Streptococcal preparation OK-432 promotes fusion efficiency and enhances induction of antigen-specific CTL by fusions of dendritic cells and colorectal cancer cells. J Immunol 2007; 178(1): 613-22.
- 4) Komita H, Homma S, Saotome H (Wyeth Research), Zeniya M, Ohno T, Toda G. Interferon-gamma produced by interleukin-12-activated tumor infiltrating CD8+T cells directly induces apoptosis of mouse hepatocellular carcinoma. J Hepatol 2006; 45(5): 662-72.
- 5) Sekikawa T, Takahara S, Suzuki H, Takeda N, Yamada H, Horiguchi-Yamada J. Diffuse large B-cell lymphoma arising independently to lymphoplasmacytic lymphoma: a case of two lymphomas. Eur J Haematol 2007; 78(3): 264-9.
- 6) Sekikawa T, Iwase S, Saito S, Arakawa Y, Agawa M, Horiguchi-Yamada J, Yamada H. JAS-R, a new megakaryo-erythroid leukemic cell line that secretes erythropoietin. Anticancer Res 2006; 26(2A): 843-50.
- 7) Yamada H, Arakawa Y, Saito S, Agawa M, Kano Y, Horiguchi-Yamada J. Dipeptide-resistant KU812 cells show reversible P-glycoprotein expression, hyper-acetylated histones, and modulated gene expression profile. Leuk Res 2006; 30(6): 723-34.
- 8) 本間 定. 樹状細胞ワクチン効果増強のための様々な試み. Bio Clin 2006; 21(2): 59-64.

II. 総 説

- 1) Homma S. Dendritic/tumor-fusion vaccine. Mod Asp Immunobiol 2006; 19: 37.
- 2) 山田 尚, 鈴木英明, 荒川泰弘, 山田順子. ここまでわかった造血器腫瘍発症のメカニズム: 急性骨髄性白血病. 成人病と生活習慣病 2007; 37(2): 220-3.

III. 学会発表

- 1) 小井戸薫雄, 本間 定, 鳥居 明, 遠山洋一, 河原秀次郎, 小川匡市, 渡部通章, 矢永勝彦, 戸田剛太郎, 藤瀬清隆, 田尻久雄. 自己樹状細胞と転移性大腸癌との融合細胞により誘導された CD4 CD8 T cell の解析. 第

92 回日本消化器病学会総会. 北九州, 4月. [日消誌 2006; 103(臨時増刊号 第 92 回日本消化器病学会総会抄録集): A210]

- 2) 菊池哲郎. Stat-3 siRNA の樹状・腫瘍融合細胞に対する影響. 厚生労働省がん研究助成. 指定研究「難治がんの総合的な対策に関する研究」班会議. 東京, 5月.
- 3) 本間 定. 癌免疫療法の実施状況と新規臨床試験紹介. 第 19 回東日本癌免疫療法研究会. 東京, 5月.
- 4) 小井戸薫雄, 本間 定, 藤瀬清隆, 田尻久雄, 戸田剛太郎. (ワークショップ) 自己肝細胞癌細胞と樹状細胞の融合細胞ワクチン療法を施行した肝細胞癌患者の抗腫瘍免疫誘導. 第 42 回日本肝臓学会総会. 京都, 5月. [肝臓 2006; 47 (Suppl. 1): A56]
- 5) 本間 定, 込田英夫, 小井戸薫雄, 戸田剛太郎. (ワークショップ) 樹状細胞ワクチンによる肝癌に対する新たな抗腫瘍免疫エフェクター機構. 第 42 回日本肝臓学会総会. 京都, 5月. [肝臓 2006; 47 (Suppl. 1): A55]
- 6) 本間 定. 癌免疫療法に必要な施設・管理基準とは. 第 19 回東日本癌免疫療法研究会. 東京, 5月.
- 7) Koido S, Hara E (Saitama Cancer Center), Homma S, Fujise K, Toda G, Tajiri H. Dendritic cells fused with allogeneic colorectal cancer cell line present colorectal cancer-specific antigens and induce antitumor immunity against autologous tumor cells. International Symposium of Molecular Cell Biology of Macrophages and Dendritic Cells 2006. Tokyo, June.
- 8) 小松誠和¹⁾, 七条茂樹¹⁾, 本間 定, 飯沼久恵, 野口正典¹⁾, 前田好章¹⁾, 正村裕紀¹⁾, 本間重紀¹⁾, 唐 宇飛¹⁾, 峯 孝志¹⁾, 伊東恭悟¹⁾(¹⁾久留米大). 非特異免疫療法における抗ペプチド抗体を指標とした治療効果の評価と予測可能性. 第 10 回基盤の癌免疫研究会総会. 札幌, 7月.
- 9) 山田順子, 関川哲明, 山田 尚. 2つの悪性リンパ腫を合併した症例. 第 43 回日本臨床分子医学会学術総会. 札幌, 7月.
- 10) 小井戸薫雄, 原 栄一 (埼玉がんセンター), 本間 定, 鳥居 明, 柳沢 暁, 遠山洋一, 河原秀次郎, 渡部通章, 吉田清哉, 小林 進, 矢永勝彦, 藤瀬清隆, 田尻久雄. OK-432 で刺激された樹状細胞と自己大腸癌細胞との融合細胞は自己大腸癌に対する腫瘍抗原特異的 polyclonal CTL の誘導を増強する. 第 65 回日本癌学会学術総会. 横浜, 9月. [日癌会 65 回総会記 2006; 315]
- 11) 本間 定, 込田英夫, 小井戸薫雄, 山田順子, 小幡徹. 質量分析システム (LC/MS/MS) を用いた樹状細胞の MHC class II 分子上に提示される腫瘍抗原ペプチドの同定. 第 65 回日本癌学会学術総会. 横浜, 9月. [日癌会 65 回総会記 2006; 59]

- 12) 小松誠和¹⁾, 七条茂樹¹⁾, 本間 定, 飯沼久恵 (帝京大), 野口正典¹⁾, 唐 宇飛¹⁾, 峯 孝志¹⁾, 伊東恭悟¹⁾ (久留米大). 非特異免疫療法における抗ペプチド抗体を指標とした治療効果の評価と予後. 第 65 回日本癌学会学術総会. 横浜, 9 月. [日癌会 65 回総会記 2006; 77]
- 13) 佐川由紀子, 伊藤正紀, 本間 定. 樹状細胞ワクチン療法における抗体核抗体陽性化症例の臨床的特徴. 第 65 回日本癌学会学術総会. 横浜, 9 月. [日癌会 65 回総会記 2006; 16]
- 14) 山田順子, 山田 尚. 巨核芽球性白血病株細胞JAS-R の樹立と血液分化からみた特徴. 第 65 回日本癌学会学術総会. 横浜, 9 月. [日癌会 65 回総会記 2006; 206-7]
- 15) 山田順子, 荒川泰弘, 斉藤 忍, 阿川美幸, 山田 尚, 関川哲明. 巨核芽球性白血病株細胞の接着刺激に伴う遺伝子発現変化. 第 68 回日本血液学会・第 48 回日本臨床血液学会合同総会. 福岡, 10 月.
- 16) 小井戸薫雄, 本間 定, 鳥居 明, 遠山洋一, 河原秀次郎, 渡部通章, 矢永勝彦, 藤瀬清隆, 戸田剛太郎, 田尻久雄. 大腸癌における樹状細胞とアロ癌細胞株の融合細胞をもちいた癌免疫ワクチンの開発. 第 48 回日本消化器病学会大会・第 14 回日本消化器関連学会週間 (DDW-Japan2006). 札幌, 10 月. [日消誌 2006; 103 (臨時増刊号 第 48 回日本消化器病学会大会抄録集): A886]
- 17) 本間 定, 小井戸薫雄, 戸田剛太郎. (ワークショップ) 進行消化器癌に対する樹状細胞ワクチン療法のトランスレーショナルリサーチと今後の課題. 第 48 回日本消化器病学会大会・第 14 回日本消化器関連学会週間 (DDW-Japan2006). 札幌, 10 月. [日消誌 2006; 103 (臨時増刊号 第 48 回日本消化器病学会大会抄録集): A636]
- 18) 本間 定, 佐川由紀子, 永崎栄次郎, 小井戸薫雄, 小幡 徹. プロテオーム解析技術 (LC/MS/MS) を用いた腫瘍ワクチン標的分子の探索. 第 19 回日本バイオセラピー学会総会学術集会. 福岡, 11 月.
- 19) Koido S, Hara E (Saitama Cancer Center), Homma S, Torii A, Mitsunaga M, Yanagisawa S, Toyama Y, Kawahara H, Watanabe M, Yoshida S, Kobayashi S, Yanaga K, Fujise K, Tajiri H. Streptococcal preparation OK-432 promotes fusion efficiency and enhances induction of antigen-specific CTL by fusions of dendritic cells and colorectal cancer cells. 第 7 回日米癌合同会議 (Seventh AACR/JCA Joint International Conference). Hawaii, Jan.
- 20) 菊池哲郎. 悪性神経膠腫に対する樹状・腫瘍細胞の融合細胞を用いた免疫療法の改良. 厚生労働省がん研究助成金 指定研究「難治がんの総合的な対策に関する研究」班会議. 東京, 1 月.
- 21) 本間 定. (シンポジウム) 当施設における樹状細胞ワクチン療法の基礎的, 臨床的研究. 第 4 回日本免疫治療学研究会学術集会. 横浜, 2 月.