

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
准教授：本間 定	腫瘍免疫学・消化器肝臓病学
准教授：山田 順子	血液学・分子腫瘍学
准教授：菊池 哲郎	脳腫瘍の治療・分子生物学

教育・研究概要

I. 抗腫瘍免疫反応誘導についての研究

1. 癌免疫療法と化学療法の併用による新たな癌治療の概念とその治療効果の検討

癌化学療法は薬剤の細胞毒性による殺細胞効果を基盤とした治療法であり、生体の免疫能を低下させるため癌免疫療法とは相いれない手法であると考えられてきた。しかし、われわれは日常診療で用いられる代表的な癌化学療法剤を用いて、細胞毒性を発揮しない位の低濃度処理を行うことにより腫瘍細胞表面に MHC 分子や co-stimulatory molecule, および T 細胞の標的となる腫瘍抗原の発現が著しく増加し、その結果、腫瘍細胞は抗原特異的細胞障害性 T 細胞に強く障害されるようになることを見出した。このことは適切な条件で使用された化学療法剤は腫瘍細胞の抗腫瘍免疫に対する感受性を向上させ、癌免疫療法の併用で活性化された抗腫瘍免疫機構の作用により強い抗腫瘍効果が得られる可能性を示している。このような概念に則り、進行膵臓癌を対象として代表的な癌ワクチンである WT1 ペプチドワクチンと膵臓癌の標準治療薬である塩酸ゲムシタピンの併用療法の第 1 相臨床試験を施行中であり、その安全性と臨床効果を検討中である。

2. 脳腫瘍に対する免疫療法の臨床研究

「悪性神経膠腫に対する樹状細胞と腫瘍細胞の融合細胞を用いた免疫療法」を継続して遂行している。手術時に摘出した腫瘍組織の一部を研究部内ヒト患者培養室にて処理し、GMP 対応細胞治療用細胞産生施設内で GMP に準拠した作業で樹状細胞との融合を行っている。対象症例数は少ないが細胞投与による有害事象はなく順調に進行している。

II. 白血病細胞の接着と分化についての研究

固形腫瘍と異なり白血病培養細胞は浮遊細胞であることが多いが、急性巨核球性白血病患者より樹立された JAS-R 細胞の一部は付着し形態変化を起

す。接着細胞 JAS-RAD と非接着細胞 JAS-REN を比較すると、それぞれ巨核球と赤芽球の特徴を有しており、JAS-RAD 細胞は共通前駆細胞から巨核球へ分化したと考えられる。この変化は JAS-REN 細胞にフィブロネクチン由来ペプチド RGDS を投与して誘導されることから、フィブロネクチンへの接着が契機となり引き起こされることを明らかにした。JAS-RAD への変化は転写因子 FLI-1, GATA2 の発現増加と比例する一方、EKLf は減少した。FLI-1 は ets-family の一つであり、巨核球分化のみならず血管内皮細胞にも重要な役割を果たしている転写因子である。このように JAS-RAD 細胞では接着によるインテグリンシグナルから転写因子の発現変化を介して巨核球分化が誘導されている。そこで、接着により活性化される FLI-1 遺伝子プロモーター領域について検討を進めている。また、臨床白血球細胞が接着性を有していると治療抵抗性であることが多いが、JAS-RAD 細胞と REN 細胞を比較しても薬剤感受性に差異がみられた。原因として P-gp などの薬剤排出ポンプの関与を調べたところ MRP4 に相異が観察された。

III. 自己免疫性肝炎の病態形成における制御性 T 細胞の意義

正常肝細胞に類似した肝臓の高分化形質を発現する肝癌細胞と樹状細胞を融合させてマウスに免疫すると、免疫的クロストークにより正常肝細胞に対する細胞障害性 T 細胞が誘導され、この免疫マウスにさらに IL-12 を投与すると臓器特異的な自己免疫性肝炎が誘導されることを報告した (Tamaki et al. Clin Immunol. 2005)。このような特性から、このマウスモデルは肝臓特異的な自己免疫現象の病態解析に有用なモデルである。制御性 T 細胞 (Treg) は免疫機構に対する抑制効果を示すことにより生体の免疫反応の調節機能を担っているが、自己免疫性肝炎の病態形成において Treg がどのような役割を示すのかは明確にされていない。上記モデルマウスを用いた解析の結果、肝炎の炎症極期においてすでに多数の Treg が肝臓の炎症局所に集積していることが明らかとなった。一方、肝炎極期においては脾臓中の Treg はむしろ低下し、経門脈的な Treg の脾から肝へのリクルートが示唆された。肝臓における Treg の集積は肝内における TGF- β や特定の接着分子の高発現が関与している可能性が示された。

「点検・評価」

1. 研究について

腫瘍免疫を臨床レベルでも有効な治療手段とするよう検討を重ねている。従来、化学療法と免疫療法は相容れないものと考えられていたが、細胞死の機構を調べてみるとむしろ協調的に作用していることが分かってきた。両者を上手に併用すれば固形腫瘍に対しても治療効果が期待でき、臨床への応用を目指して検討している。一方、これまでの基礎・臨床研究で安全性が確認された脳腫瘍に対しトランスレーショナル研究としてGMP対応施設を使用しGMPに準拠した手順で臨床治療研究を遂行している。実施してみて明らかになった問題点に対して最善策をとりながら行っている。白血病を用いた接着と分化についての検討はFLI-1という転写因子を対象として分子メカニズムの一端を解明しているが、生物学的あるいは医学的意義を意識しながら時間とマンパワーの面から効率的に研究を進める必要がある。

2. 教育について

学生教育として選択実習、研究室配属を、大学院教育として共通カリキュラムの一部を担当したが、実質的には大学院生の研究の実際を指導していることが最大の任務である。医師研究者の衰退が懸念されるなか、臨床を下支えする研究や研究成果を臨床へ還元する医学研究を体験し継続していく医師の育成を目標としているが、いくつかの面でさらに工夫が必要と感じている。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Yamada H, Sekikawa T, Agawa M, Iwase S, Suzuki H, Horiguchi-Yamada J. Adhesion to fibronectin induces megakaryocytic differentiation of JAS-REN cells. *Anticancer Res* 2008; 28(1A): 261-6.
- 2) Suzuki H, Arakawa Y, Ito M, Saito S, Takeda N, Yamada H, Horiguchi-Yamada J. MLF1-interacting protein is mainly localized in nucleolus through N-terminal bipartite nuclear localization signal. *Anticancer Res* 2007; 27(3B): 1423-30.
- 3) Yamada H, Sekikawa T, Iwase S, Arakawa Y, Suzuki H, Agawa M, Akiyama M, Takeda N, Horiguchi-Yamada J. Segregation of megakaryocytic or erythroid cells from a megakaryocytic leukemia cell line (JAS-R) by adhesion during culture. *Leukemia Res* 2007; 31(11): 1537-43.

- 4) Koido S, Hara E (Saitama Cancer Center), Homma S, Mitsunaga M, Takahara A, Nagasaki E, Kawahara H, Watanabe N, Toyama Y, Yanagisawa S, Kobayashi S, Yanaga K, Fujise K, Gong J (Boston Univ), Tajiri H. Synergistic induction of antigen-specific CTL by fusions of TRL-stimulated dendritic cells and heat-stressed tumor cells. *J Immunol* 2007; 179(7): 4874-83.
- 5) Leng Y, Cao C, Ren J, Huang L, Chen D, Ito M, Kufe D. Nuclear import of the MUC1-C oncoprotein is mediated by nucleoporin Nup62. *J Biol Chem* 2007; 282(27): 19321-30.
- 6) Shibata H, Takano H, Ito M, Shioya H, Hirota M, Matsumoto H, Kakudo Y, Ishioka C, Akiyama T, Kanegae Y, Saito I, Noda T. Alpha-catenin is essential in intestinal adenoma formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(46): 18199-204.
- 7) Kawano T, Ito M, Raina D, Wu Z, Rosenblatt J, Avigan D, Stone R, Kufe D. MUC1 oncoprotein regulates Bcr-Abl stability and pathogenesis in chronic myelogenous leukemia cells. *Cancer Res* 2007; 67(24): 11576-84.
- 8) 山田 尚, 河野 毅, 山田順子. 遺伝子診断によるがん罹患ハイリスク群の設定. 成人病と生活習慣病 2007; 37(11): 1213-7.

II. 総説

- 1) Koido S, Hara E, Homma S, Fujise K, Gong J, Tajiri H. Dendritic/tumor fusion cell-based vaccination against cancer. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2007; 55(5): 281-7.

III. 学会発表

- 1) Horiguchi-Yamada J, Yamada H. Adhesion to the substratum of culture dishes induces the lineage switching of megakaryo-erythroid JAS-R cells. AACR (American Association for Cancer Research) Annual Meeting 2007. Los Angeles, Apr.
- 2) Horiguchi-Yamada J, Yamada H. Cell adhesion induces megakaryocytic differentiation in megakaryo-erythroid leukemia JAS-R cells. 第66回日本癌学会学術総会. 横浜, 10月.
- 3) 山田順子, 関川哲明, 岩瀬さつき, 山田 尚. インテグリン刺激は巨核芽球系・赤芽球系の分化シフトに影響する. 第69回日本血液学会・第49回日本臨床血液学会(合同総会). 横浜, 10月.
- 4) 小井戸薫雄, 本間 定, 光永 真, 鳥居 明, 柳沢 暁, 遠山洋一, 河原秀次郎, 渡辺通章, 吉田清哉, 小林 進, 矢永勝彦, 藤瀬清隆, 田尻久雄. OK-432は樹状細胞

胞と大腸癌細胞の融合細胞の融合効率を増強し、自己大腸癌に対する効果的 CTL を誘導する。第 93 回日本消化器病学会総会。青森，4 月。

- 5) 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) を用いた肝癌の T 細胞認識抗原の探索。第 43 回日本肝臓学会総会。東京，5 月。
- 6) Koido S, Homma S, Takahara A, Nagasaki E, Mitsunaga M, Tanaka Y, Fujise K, Tajiri H. Generation of antigen-specific T cells stimulated by fusions of dendritic cells and allogeneic cancer and allogeneic cancer cell line. 66th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Yokohama, Oct.
- 7) Homma S, Sagawa Y, Koido S, Nagasaki E, Takahara A. Characterization of hepatoma antigen identified from denritic/hepatoma fusion cells by mass spectrometric analysis. 66th Annual Meeting of Japanese Cancer Association. Yokohama, Oct.

分子遺伝学研究部

教授：山田 尚 分子腫瘍学
 講師：河野 毅 分子腫瘍学
 講師：秋山 政晴 小児腫瘍学
 (兼任)

教育・研究概要

I. 分子腫瘍学的研究

1. 巨核芽球性白血病の分化系統転換と血小板への分化誘導

巨核芽球性白血病は小児ダウン症では比較的頻度が高く予後良好な疾患である。しかし、成人巨核芽球性白血病の発症頻度はきわめて低く、化学療法に抵抗性であり予後不良である。我々は、巨核芽球性白血病細胞株 JAS-R を樹立したが、この細胞株を用いて巨核芽球性白血病の成因および巨核球・血小板への分化を研究している。

巨核球と赤芽球はその前駆細胞を共有している。JAS-R においても巨核球と赤芽球の両性格が認められ、細胞接着がこの形質転換に関与していた。すなわち、接着性細胞 JAS-RAD は巨核球系であり、浮遊性細胞 JAS-REN は赤芽球系であった。さらに興味あることには、JAS-RAD はエリスロポエチンを産生するが JAS-REN ではその産生が認められず、エリスロポエチンに部分的に依存して増殖していた。接着がどのような機構によるかを検討した結果、接着には二価の陽イオンが必要であり、RGDS テトラペプチドが接着を抑制した。また、JAS-RAD はコラーゲンに比べてフィブロネクチンに強く接着した。これらの結果から、JAS-RAD の接着はインテグリンを介したものであることが推定された。分化系統の決定は転写因子の組み合わせで調節されている。JAS-RAD においては FLI1, GF11, RUNX1 の発現が亢進していたが GATA1, FOG1, NFE2 の発現には両者の相違が認められなかった。このことは、後者の遺伝子群は巨核芽球および赤芽球の増殖に共に必要なものであり、前者の遺伝子群が巨核芽球の性質を規定していると推定された。

JAS-RAD は TPA をはじめとする分化誘導化合物によって proplatelet 様の形態を呈する。この巨核球・血小板への分化がどのような情報伝達系を介しているかは不明である。現在、MAPK 系をはじめとする情報伝達系と JAS-RAD の最終分化の関連を検討している。