

ety of Gene Therapy the 14th Annual Meeting. Sapporo, June.

- 16) Kyosen SO, Iizuka S, Morita A, Kimura T, Kobayashi H, Ohashi T, Eto Y. Lentivirus mediated gene therapy for murine Pompe disease. The 50th Annual Meeting of the Japan Society of Inborn Errors of Metabolism. Yonago, Nov.
- 17) 大橋十也. ライソゾーム病の新規遺伝子・細胞治療法の開発. 第7回遺伝子治療シンポジウム. 大阪, 1月.
- 18) Ohashi T. Clinical and molecular aspects of Fabry disease and Pompe disease. The 7th Korean MPS Symposium. Korea, May.

IV. 著 書

- 1) 佐々木敬. 混合型インスリン. 田嶋尚子, 及川眞一, 春日雅人, 岡 芳知 編. 糖尿病カレントライブラリー 9: 糖尿病治療のエビデンス: 薬物療法の光と影. 東京: 文光堂, 2008. p.20-2.

悪性腫瘍治療研究部

教 授: 銭谷 幹男 (兼任)	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
講 師: 小井戸薫雄 (兼任)	消化器病学

教育・研究概要

I. 抗腫瘍免疫療法についての基礎および臨床研究

1. 抗腫瘍免疫療法と化学療法の併用モデルでの殺細胞メカニズム

樹状細胞 (DC) ワクチンと 5-fluorouracil (5-FU) の併用療法の抗腫瘍効果の機序をマウス大腸癌細胞 MC38 で検討した。DC 接種マウス脾細胞は 5-FU 処理後 MC38 細胞に強い殺細胞効果を発揮するが、この効果は NK 細胞除去や抗 TNF- α 抗体処理で消失した。DC 接種は脾臓 NK 細胞数を増加させ、NK 細胞上の TNF- α の発現を増強させた。一方、5-FU 処理 MC-38 細胞は procaspase-8 発現が増強し TNF- α 処理により caspase-8 経路でアポトーシスに陥った。このように DC ワクチンと 5-FU の併用により強い殺細胞効果を得られることが分かった。

2. 膵臓癌での塩酸ゲムシタピンと WT1 ペプチドワクチン抗腫瘍免疫効果の検討

臨床試験と平行して WT1 (Wilms' tumor gene 産物) ペプチドワクチンと塩酸ゲムシタピンの相乗的抗腫瘍効果機序について検討した。ヒト膵臓癌細胞株 PaCa2 はゲムシタピン処理で WT1 mRNA を強く発現する。HLA-A24 陽性健常人末梢血単核球を WT1 ペプチドパルス樹状細胞で刺激し特異的 CD8 + 細胞傷害性 T 細胞を誘導して細胞障害試験を行うと、ゲムシタピン処理後 PaCa2 がより強く傷害された。これらの結果はゲムシタピン処理で膵臓癌細胞の WT1 発現が増強し、より効率的に傷害される可能性を示唆している。

3. 家族性大腸腺腫症モデルマウスを用いた新規癌関連抗原の同定

家族性大腸腺腫症 (FAP) モデルマウスから樹立した腫瘍細胞と DC を融合し免疫すると腫瘍内のパネート様細胞と正常パネート細胞に反応する抗体が出現する。この抗体はウエスタンブロット解析で正常腸管および腫瘍組織の 270kD 蛋白を認識し、

電子顕微鏡解析でパネート細胞分泌顆粒に反応する。cDNA 発現クローニング法で抗原は Melanoma Inhibitory Activity 3 にホモロジーを持つ新規蛋白と判明した。この抗原分子は腸内細菌モジュレーターとなる可能性を持つ。

4. 活性型グリオーマワクチンの開発

脳腫瘍に対する免疫療法は有望であるが、免疫応答を増強させる手段が必要とされる。グリオーマ/DC の融合細胞の活性化を目指して抑制性サイトカインのノックダウンを検討した。融合細胞に対し IL-10-siRNA を導入しても IL-12 分泌増強や co-stimulatory molecules は増強されないが、double-stranded RNA を導入すると IL-12 と IL-10 分泌が増加した。両者を導入したところ低 IL-10・高 IL-12 分泌型融合細胞が得られ IL-12 分泌時間も延長し、活性化融合細胞が誘導できた。

5. 進行膵臓癌を対象とした WT1 ペプチドワクチンと塩酸ゲムシタピンの併用療法の第 1 相臨床試験

WT1 は悪性形質の発現を促進するがん遺伝子と考えられるが、その遺伝子産物は HLA 拘束性に免疫原性を示す。変型 WT1 ペプチドワクチン (235-243AA) は HLA-A*2402 癌患者に癌ワクチンとして使用され有効症例が報告されている。大阪大学との共同研究として進行膵臓癌症例を対象に WT1 ペプチドワクチンと塩酸ゲムシタピンの併用療法第 1 相臨床試験を施行した。Primary endpoint は安全性の評価、secondary endpoint は WT1 特異的抗腫瘍免疫活性誘導の確認と抗腫瘍効果の評価である。今年度は 2 名の患者が本試験に登録され重篤な治療関連有害事象を認めることなく治療が遂行できた。1 症例では早期から腫瘍縮小効果 (最終縮小率 82%) と腫瘍マーカー値の正常化、自覚症状の消失を認めた。

6. 悪性神経膠腫に対する免疫療法臨床研究

悪性神経膠腫に対して融合細胞を用いた免疫療法の臨床研究を継続している。投与する融合細胞は GMP 対応細胞治療用細胞生産室において GMP 準拠作業で生産している。これまで有害事象はなく、化学療法剤テモゾロミドとの併用で長期生存例もみられ順調に進行している。

II. 巨核球分化に作用する接着刺激の分子機構

血小板を産生する巨核球は巨核球赤芽球前駆細胞 (MEP) から分岐するが、この分岐機構について JAS-R 白血病細胞を用いて検討した。JAS-R 細胞は細胞外マトリックスへの接着で巨核球へ分化し、

その際 ets-family 転写因子 FLI-1 が大きな役割を果たしていることをノックダウン法により証明した。また、インテグリンを介した接着と FLI-1 タンパク自身が FLI-1 遺伝子の転写活性を亢進させることを確認した。これらの結果は、MEP 白血病細胞にインテグリン刺激シグナルが伝達されると FLI-1 の自己増強が成立し巨核球分化に傾くことを示している。

III. 自己免疫性肝炎モデルマウスでの制御性 T 細胞の検討

樹状細胞を用いた自己免疫性肝炎モデルマウスで制御性 T 細胞 (Treg) の関与を検討した。肝炎極期に一致して Treg が増加し、Treg での CXCR3 と肝組織での CXCL9 発現も有意に増強した。また、Treg 誘導に必須である TGF- β と IL-2 の mRNA 発現も亢進していた。採取した Treg は CD4 + CD25-T 細胞の増殖を抑制し Treg としての機能を保持していた。プレドニソロン投与により肝臓内 Treg 集積は抑制された。以上より、肝炎極期においてはケモカインを介して Treg が肝臓に集積すること、TGF- β や IL-2 を介して局所で Treg が増殖すること、Treg として抑制的機能を有していることが観察できた。このような Treg の動態は自己免疫反応を抑制する生体防御機構であり、この Treg 機能の欠落が自己免疫性肝炎の活動性や持続性に関係する要因の一つと考えられる。

「点検・評価」

1. 研究について

今年度は、研究部設立以来の研究テーマである腫瘍免疫療法について複数の研究課題が進行した。また、2 つの臨床治療研究を実施していることは研究所として意義あることと自負している。その一つは以前より継続している脳腫瘍に対する免疫療法で、担当者の変更にも拘らずスムーズに実施できていることは特筆すべきである。この臨床治験は大学で唯一 GMP に準拠して行われている細胞療法で、GMP 対応細胞生産施設を利用し SOP に基づいて進行している。WT1 ペプチド併用の膵臓癌への治療は柏病院との共同研究で臨床は柏病院消化器肝臓病内科で実施されている。このようなトランスレーショナルリサーチは医科大学として重要な意味を持つものであり、大学として評価するのみならず病院組織として支持することも必要ではないだろうか？逆に言えば、職員にも研究内容を広く理解してもらえよう働きかける姿勢が研究者側に充分でないの

かもしれない。機会を見つけコミュニケーションを図るように心がけたい。基礎研究としてはこれらの臨床研究を下支えする基礎データの集積と平行して、以前取り組んでいた自然発癌モデル FAP マウスで産生される抗体の抗原同定が進んだ。また、白血病を利用した巨核球分化機序についての研究も前進した。様々な問題もあるが、医学部研究所として機能しつづけるよう奮起したい。

2. 教育について

学部教育としては教員それぞれができる範囲で、研究室配属・医学英語・チューターなどを担当した。研究所としての主な任務は大学院教育であり、研究の実際を指導することが中心である。医療と研究が乖離しないよう継続して努力していく。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Homma S, Koido S, Sagawa Y, Suzuki H, Komita H, Nagasaki E, Takahara A, Horiguchi-Yamada J, Tajiri H, Zeldin DC (Nat. Inst. Env. Hlt.), Obata T. Antigenic stimulation with cytochrome P450 2J expressed in mouse hepatocellular carcinoma cells regulates host anti-tumour immunity. *Clin Exp Immunol* 2009; 156(2): 344-52. (Epub 2009 Mar 2.)
- 2) Koido S, Homma S, Hara E (Saitama Cancer Center), Mitsunaga M, Namiki Y, Takahara A, Nagasaki E, Komita H, Sagawa Y, Ohkusa T, Fujise K, Gong J (Boston Univ.), Tajiri H. In vitro generation of cytotoxic and regulatory T cells by fusions of human dendritic cells and hepatocellular carcinoma cells. *J Trans Med* 2008; 6: 51-70.
- 3) 永崎栄次郎, 高原映崇, 小井戸薫雄, 相羽恵介, 本間 定. C ワクチンと 5-FU 併用の NK 細胞を介する抗腫瘍増強効果. 第 21 回日本バイオセラピー学会学術集会総会. 東京, 11 月.
- 4) Ito M, Sagawa Y, Suzuki H, Homma S. Identification and functional analyses of a novel MIA (melanoma inhibitory activity) homolog. 第 67 回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10 月.
- 5) 小井戸薫雄, 原 栄一, 本間 定, 光永真人, 高原映崇, 永崎栄次郎, 河原秀次郎, 遠山洋一, 込田英夫, 小林 進, 矢永勝彦, 大草敏史, 田尻久雄. トール様受容体を刺激した樹状細胞と熱処理した癌細胞との融合細胞による細胞障害性 T 細胞の誘導 (Synergistic induction of antigen-specific CTL by fusions of TLR-stimulated dendritic cells and heat-stressed tumor cells). 第 67 回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 448]
- 6) 原 栄一, 坂本裕彦, 小川匡市, 渡辺通章, 田中俊英, 本間 定, 小井戸薫雄. 初代がん細胞株の樹立: 大腸癌, 膵臓癌, メラノーマ, 脳転移性腫瘍 (Establishment of many types of primary cancer cell lines: Colon, pancreas, melanoma, and metastatic brain tumors). 第 67 回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 435]
- 7) 小井戸薫雄, 本間 定, 光永真人, 高原映崇, 藤瀬清隆, 田尻久雄. 樹状細胞と肝細胞癌との融合細胞ワクチンによる免疫応答の誘導. 第 50 回日本消化器病学会大会 (JDDW 2008). 東京, 10 月.
- 8) 込田英夫, 小井戸薫雄, 田尻久雄, 本間 定, Amoscato AA, Alber SL, Storkus WJ. IL-12 遺伝子導入樹状細胞の腫瘍内投与は腫瘍血管を標的とした抗腫瘍効果を示す (Intratumoral DC:IL12 therapy elicits protective immunity against the tumor-associated vasculature). 第 67 回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 437]
- 9) 鎌田裕子, 車 英俊, 木村高弘, 曾川一幸¹⁾, 佐藤守¹⁾, 下村達也, 佐々木裕, 三木 淳, 朝長 毅¹⁾, 野村文夫¹⁾ (千葉大学), 颯川 晋, 山田順子. SELDI-TOF MS を用いた新規前立腺癌血清マーカーの探索 (Search for the novel serum markers for prostate cancer diagnosis). 第 67 回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 110]
- 10) 山田順子, 河野 毅, 山田 尚. 接着による赤芽球・巨核球系統分岐の分子機構の解明 (Adherence to ECM influences on lineage switching through induc-

II. 総 説

- 1) Horiguchi-Yamada J, Suzuki H, Takeda N, Yamada H. Sequential alterations in cell cycle and survival after X-ray irradiation in p53-deficient leukemia cells. *Cytometry Res* 2009; 19(1): 53-60.
- 2) 本間 定, 小井戸薫雄, 小幡 徹. 【癌ワクチン療法 現状と展開】プロテオーム解析技術を用いた腫瘍ワクチン標的分子の探索. *Biotherapy* 2008; 22(6): 385-8.

III. 学会発表

- 1) Ito M, Sagawa Y, Suzuki H, Homma S. Identification and functional analyses of a novel MIA (melanoma inhibitory activity) homolog. 第 31 回日本分子生物学会. 神戸, 12 月.

- tion of FLI-1 in human leukemia JAS-R cells) 第 67 回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 267]
- 11) 山田順子, 岩瀬さつき, 河野 毅, 山田 尚. 接着刺激に伴う赤芽球/巨核球-系統分岐制御機構の解明. 第 70 回日本血液学会総会. 京都, 10 月. [臨血液 2008; 49(9): 988]
- 12) 木村高弘, 車 英俊, 鎌田裕子, 鷹橋浩幸, 下村達也, 佐々木裕, 三木 淳, 清田 浩, 颯川 晋. 新規前立腺癌バイオマーカー-Staphylococcal nuclease domain-containing protein 1 (SND1) (Staphylococcal nuclease domain-containing protein 1 (SND1) as a novel biomarker for prostate cancer). 第 67 回日本癌学会総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 323]
- 13) 森實芳仁¹⁾, 鎌田裕子, 車 英俊, 三木 淳, 川名敬, 颯川 晋, 芝崎 太¹⁾(東京都医学研究機構東京都臨床医学総合研究所). 超高感度同時多項目測定法 (MUSTag 法) を用いた蛋白バイオマーカーの臨床プロファイリング (MAP) 診断 (Clinical profiling diagnosis for protein biomarkers with supersensitive MUSTag technology). 第 67 回日本癌学会総会. 名古屋, 10 月. [日癌会総会記 2008; 67 回: 337]
- 14) 鎌田裕子, 車 英俊, 佐々木裕, 木村高弘, 下村達也, 三木 淳, 鷹橋浩幸, 松本和将 (北里大学), 西森孝典¹⁾, 朝長 毅¹⁾, 野村文夫¹⁾(千葉大学), 山田順子, 颯川 晋. 上部尿路癌におけるプラキンファミリータンパク質発現の解析. 第 73 回日本泌尿器科学会東部総会. 東京, 9 月.
- 15) 込田英夫, 小井戸薫雄, 田尻久雄, 本間 定, Amoscato AA, Storkus WJ. Dendritic cells engineered to secrete interleukin-12 delivered into sarcoma results in the cross-priming of CD8+T cell response against hemoglobin-bata. 第 12 回基盤的癌免疫研究会総会. 大宮, 7 月.
- 16) 波多野孝史, 鈴木 鑑, 大塚則臣, 山口泰広, 面野寛, 岸本幸一, 讃岐邦太郎, 吉本ちえ子, 鎌田裕子, 車英俊, 颯川 晋, 大西哲郎 (聖隷佐倉市民病院). 免疫組織化学的手法による両側腎細胞癌の染色性に関する検討. 第 96 回日本泌尿器科学会総会. 横浜, 4 月.
- 17) 長谷川雄一, 車 英俊, 鎌田裕子, 木村高弘, 鷹橋浩幸, 古田 希, 池本 庸, 三木健太, 颯川 晋. Tissue Microarray を用いた新規癌マーカータンパクの臨床的有用性の検討. 第 96 回日本泌尿器科学会総会. 横浜, 4 月.
- 18) 木村高弘, 車 英俊, 鎌田裕子, 鷹橋浩幸, 下村達也, 山田裕紀, 佐々木裕, 三木健太, 清田 浩, 山崎春城, 颯川 晋. 新規前立腺癌関連蛋白質 TT902 の前立腺癌における発現および機能の解析. 第 96 回日本泌尿器科学会総会. 横浜, 4 月.
- 19) 車 英俊, 鎌田裕子, 木村高弘, 大石正道¹⁾, 小寺義男¹⁾, 三木健太, 長谷川雄一, 佐々木裕, 前田忠計¹⁾(北里大学), 颯川 晋. Two Dimensional Differential Gel Electrophoresis (2D-DIGE) 法を用いた前立腺癌血清マーカー蛋白質の探索. 第 96 回日本泌尿器科学会総会. 横浜, 4 月.
- 20) 鎌田裕子, 車 英俊, 木村高弘, 曾川一幸¹⁾, 下村達也, 山田裕紀, 佐々木裕, 朝長 毅¹⁾, 野村文夫¹⁾(千葉大学), 颯川 晋. SELDI-TOF MS を用いた新規前立腺癌血清マーカーの探索. 第 96 回日本泌尿器科学会総会. 横浜, 4 月.