

S. Watanabe T. TS-071, a Novel, potent and selective SGLT2 inhibitor, induced dose-related increase of urinary glucose excretion and showed good tolerability in Japanese healthy male subjects. American Diabetes Association 71st Scientific Sessions, San Diego, June. [Diabetes 2011 ; 60(Suppl1) : A313]

- 20) 比企能人, 藤本 啓, 根本昌実, 嶋田耕育, 佐々木敬. マトリゲル基底膜マトリックスを用いたマウス単離膵島の移植法と生体内培養系の確立. 第54回日本糖尿病学会年次学術集会. 札幌. 5月.

IV. 著 書

- 1) 横井貴之. 第2章: 各論 D. ライソゾーム膜代謝異常症 5. ダノン病. 衛藤義勝責任編集, 井田博幸, 遠藤文夫(熊本大学), 大橋十也, 奥山虎之(国立成育医療研究センター), 櫻庭 均(明治薬科大学), 鈴木康之(岐阜大学)編. ライソゾーム病: 最新の病態, 診断, 治療の進歩. 東京: 診断と治療社, 2011. p.237-8.
- 2) 西山由梨佳. 第2章: 各論 I. ライソゾーム病の特定疾患の申請法. 衛藤義勝責任編集, 井田博幸, 遠藤文夫(熊本大学), 大橋十也, 奥山虎之(国立成育医療研究センター), 櫻庭 均(明治薬科大学), 鈴木康之(岐阜大学)編. ライソゾーム病: 最新の病態, 診断, 治療の進歩. 東京: 診断と治療社, 2011. p.263-4.
- 3) 嶋田洋太. 第1章: 総論 A. ライソゾーム病の基礎 8. オートファジーとライソゾーム病. 衛藤義勝責任編集, 井田博幸, 遠藤文夫(熊本大学), 大橋十也, 奥山虎之(国立成育医療研究センター), 櫻庭 均(明治薬科大学), 鈴木康之(岐阜大学)編. ライソゾーム病: 最新の病態, 診断, 治療の進歩. 東京: 診断と治療社, 2011. p.32-4.
- 4) 小林博司. 第2章: 各論 A. 脂質代謝異常症 6. GM1 ガングリオシドーシス, モルキオ症候群 B型 (β -ガラクトシドーシス). 衛藤義勝責任編集, 井田博幸, 遠藤文夫(熊本大学), 大橋十也, 奥山虎之(国立成育医療研究センター), 櫻庭 均(明治薬科大学), 鈴木康之(岐阜大学)編. ライソゾーム病: 最新の病態, 診断, 治療の進歩. 東京: 診断と治療社, 2011. p.161-4.
- 5) 大橋十也. 第1章: 総論 D. ライソゾーム病の治療 10. 遺伝子治療. 衛藤義勝責任編集, 井田博幸, 遠藤文夫(熊本大学), 大橋十也, 奥山虎之(国立成育医療研究センター), 櫻庭 均(明治薬科大学), 鈴木康之(岐阜大学)編. ライソゾーム病: 最新の病態, 診断, 治療の進歩. 東京: 診断と治療社, 2011. p.123-6.

悪性腫瘍治療研究部

教授: 銭谷 幹男 (兼任)	消化器内科学, 肝臓病学
准教授: 本間 定	腫瘍免疫学
准教授: 小井戸薫雄 (兼任)	消化器内科学, がん免疫療法
講師: 赤崎 安晴 (兼任)	脳神経外科学, がん免疫療法

教育・研究概要

I. WT1 を標的とした進行膵癌に対するがんワクチン療法の第 I, II 相臨床試験

膵癌は極めて予後不良な悪性腫瘍であり, 有効な治療法の確立は急務と言える。本年度は WT1 ペプチドをバルスした樹状細胞療法の第 I 相臨床試験を柏病院消化器内科との共同研究で開始した。この臨床試験で用いられる WT1 ペプチドは HLA class I に結合して細胞傷害性 T 細胞に認識される抗原ペプチドと, MHC class II に結合してヘルパー T 細胞に認識される抗原ペプチドの 2 種類を使用しており, 内外でも初の試みであることからその臨床効果が期待される。また, WT1 ペプチドワクチンを使用した臨床試験は第 I 相臨床試験を完遂し, 現在研究結果の詳細な解析が進んでいる。治療関連有害事象はゲムシタピン単独療法と差がなく, 安全な治療法であることが実証された。また, 治療有効例に特徴的なくつかの免疫学的反応が見出され, 治療有効性を予見するためのバイオマーカーとなる可能性が示唆された。第 I 相試験に引き続き, ランダムイズドトリアルとしての WT1 ペプチドワクチン療法の第 II 相試験が開始され, 5 施設の参加した多施設共同研究となっており研究のスムーズな進展が予想される。

II. 術後グリオブラストーマ再発予防のための細胞融合ワクチンの臨床研究

悪性度の高い脳腫瘍であるグリオブラストーマも極めて予後不良な疾患である。われわれは患者由来の腫瘍細胞を抗原提示細胞である樹状細胞に融合させて作製した融合細胞ワクチンがグリオブラストーマに対して臨床的に有効性を示すことを報告してきた。化学療法剤テモゾロミドの登場によりグリオブラストーマの予後の改善が認められたが, その効果は未だ満足できるものではない。われわれは術後グリオブラストーマの再発予防を目的としてテモゾロ

ミドを併用した融合細胞ワクチンの臨床研究を継続してきた。その結果、最長5年を超える無再発例を含む長期生存例が存在し、テモゾロミド単独療法を凌駕する再発予防効果が期待される。現在、融合細胞ワクチンのグリオブラストーマ再発予防効果のメカニズムの基礎研究を進めている。

Ⅲ. 人工タンパク質による新規がんワクチンの開発

我々は、モチーフプログラミング技術を使用し、Ovalbumin (OVA) の MHC class I と MHC class II エピトープ配列、 α ヘリックス構造などのタンパク質安定化配列、無作為配列などのペプチドモチーフ配列がコンビナトリアルに多数繰返した人工タンパク質を作成し、OVA 特異的細胞性免疫誘導能を評価した。その結果、クローン F37A 及び F182A に細胞性免疫誘導が認められ、クロスプレゼンテーションを介して OVA に比べて 100 倍強い細胞性免疫を誘導できる人工タンパク質を創製することが可能となった。腫瘍免疫療法の本体である抗原特異的細胞性免疫を強力に誘導する人工タンパク質ワクチン開発の概念証明実験に成功したため、こと知見を生かしてヒト腫瘍抗原の対しても強い免疫反応を誘導する人工タンパク質ワクチンの開発を進めている。

Ⅳ. プロテオミクス解析による新規癌ペプチドワクチンの探索

ヒト培養癌細胞の HLA に結合して提示され CTL により認識される抗原性ペプチドを回収し、プロテオミクス解析を用いてペプチドの構造の決定、由来抗原蛋白の同定を行うことにより、新規がんペプチドワクチン開発と新規腫瘍マーカーの発見を目指して探索を進めている。これまでに前立腺癌細胞から複数のペプチドワクチン候補を同定し、疾患特異性や抗腫瘍効果などについて検討を行った。現在検討を進めている候補ペプチドは、その由来するタンパク質の mRNA 発現が多く正常組織では低く、数種類の癌細胞では特異的に高いことが判明し、有効ながんワクチンのための抗原ペプチドであることが期待される。

Ⅴ. 腫瘍血管を標的とした iPS 細胞からのがんワクチンの作製

多種の細胞に分化可能な特性を有する iPS 細胞を血管前駆細胞に分化させ、この細胞成分を樹状細胞に取り込ませてマウスを免疫すると、複数の種類の移植腫瘍に対する強い抗腫瘍効果が認められた。免

疫マウスに形成された小腫瘍は腫瘍血管の形成が不良で、iPS 由来血管前駆細胞で免疫したマウスの CD8⁺T 細胞は血管内皮細胞を強く傷害したが、未分化 iPS 細胞で免疫したマウスの CD8⁺T 細胞は殆ど傷害活性を示さなかった。以上より、iPS 細胞から血管前駆細胞に分化させた細胞でマウスを免疫すると、腫瘍血管内皮細胞に対する CTL が誘導されることが示唆された。iPS 細胞が血管前駆細胞へ分化することにより発現が上昇する遺伝子群と血管内皮細胞に共通に発現している遺伝子群をマイクロアレイにより解析し、標的抗原候補分子を絞り込みつつある。

Ⅵ. ホルマリン固定腫瘍組織標本からの腫瘍抗原ペプチド定量解析の試み

がんワクチン療法においては生体内の腫瘍細胞が標的となる腫瘍抗原分子を発現していることが治療有効性の前提条件となる。従来まで腫瘍細胞の腫瘍抗原の発現の有無は免疫組織化学的手法により決定されてきたが、T 細胞の認識する抗原ペプチドの腫瘍組織における存在の証明が最も重要である。この目的のためにホルマリン固定腫瘍組織標本を可溶化して LC/MS/MS を用いて解析することにより、腫瘍組織における腫瘍抗原ペプチドの定量解析を試みている。新鮮腫瘍組織では WT1 の MHC class I 結合性抗原性ペプチドの定量解析に成功しているが、ホルマリン固定組織標本からの解析のための基本条件の検討を行っている。

「点検・評価」

1. 研究について

膀胱癌やグリオブラストーマといった難治性の悪性腫瘍に対してがんワクチン療法の臨床試験が効率良く進展した。WT1 ペプチドパルス樹状細胞療法は DNA 医学研究所、GMP 対応細胞産生施設、大学附属病院がそれぞれの特性を生かして連携した臨床試験であり、MHC class I, class II の 2 種のペプチドをパルスした樹状細胞を用いるという新規性を有することからその効果が期待される。基礎研究ではユニークな構造的特徴を有する人工蛋白質でマウスを免疫すると強い細胞性免疫が誘導されることが証明された。今後、ヒト腫瘍抗原において同様の概念に基づく有効ながんワクチンを作製することが重要な課題である。一方、プロテオミクスを用いた解析により、興味ある腫瘍抗原ペプチドが同定された。新規腫瘍抗原、新規腫瘍マーカーとしての意義が期待される。上記の研究は現在精力的に解析が進めら

れているが、本年度は研究途上であるテーマが多く、論文発表の機会を多く持てなかった点が来年に向けての課題である。

本年度はセルソーターが導入され、使用希望者に対する2日間の講習会が数回開催されて熱心な討論が行われた。悪性腫瘍治療研究部はセルソーターを用いた研究サポート・管理という新たな役割を担うこととなった。フローサイトメーター、放射線照射装置など悪性腫瘍治療研究部に常備される装置の一般使用頻度は極めて高く、その管理、補修、装置の老朽化による買い替えなどは今後の重要な課題である。

3名の研究室配属の学生を受け入れて充実した研究活動を体験した。配属期間内に全員が英語で書かれたレポートを提出して研究を終了した。一題は2012年度の成医会における発表を予定している。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Takahara A, Koido S, Ito M, Nagasaki E, Sagawa Y, Iwamoto T, Komita H, Ochi T¹⁾, Fujiwara H¹⁾, Yasukawa M¹⁾(¹Ehime Univ.), Mineno J (Takara Bio.), Shiku H (Mie U), Nishida S²⁾, Sugiyama H²⁾(²Osaka Univ.), Tajiri H, Homma S. Gemcitabine enhances Wilms' tumor gene WT1 expression and sensitizes human pancreatic cancer cells with WT1-specific T-cell-mediated antitumor immune response. *Cancer Immunol Immunother* 2011; 60(9) : 1289-97.
- 2) Kimura Y¹⁾, Tsukada J¹⁾, Tomoda T²⁾, Takahashi H²⁾(²Seren Clinic), Imai K¹⁾, Shimamura K¹⁾(¹Tel-la), Sunamura M (Tohoku Univ.), Yonemitsu Y (Kyushu Univ.), Shimodaira S (Shinshu Univ.), Koido S, Homma S, Okamoto M (Musashino Univ.). Clinical and immunologic evaluation of dendritic cell-based immunotherapy in combination with gemcitabine and/or S-1 in patients with advanced pancreatic carcinoma. *Pancreas* 2012; 41(2) : 195-205.
- 3) Funamizu N, Kamata Y (National Cancer Institute), Misawa T, Uwagawa T, Lacy CR, Yanaga K, Manome Y. Hydroxyurea decreases gemcitabine resistance in pancreatic carcinoma cells with highly expressed ribonucleotide reductase. *Pancreas* 2012; 41(1) : 107-13.
- 4) Koido S, Homma S, Takahara A, Namiki Y, Komita H, Nagasaki E, Ito M, Nagatsuma K, Uchiyama K, Satoh K, Ohkusa T, Gong J (Boston Univ.), Tajiri H. Current immunotherapeutic approaches in pancreatic cancer. *Clin Dev Immunol* 2011; 2011 : 267539.
- 5) Koido S, Homma S, Takahara A, Namiki Y, Komita H, Nagasaki E, Ito M, Nagatsuma K, Uchiyama K, Satoh K, Ohkusa T, Gong J (Boston U), Tajiri H. Immunologic monitoring of cellular responses by dendritic/tumor cell fusion vaccines. *J Biomed Biotechnol* 2011; 2011 : 910836.
- 6) 小井戸薫雄, 本間 定, 高原映崇, 込田英夫, 大草敏史, 田尻久雄. 【睥瘡診療と研究の最先端】進行睥瘡に対する Gemcitabine 併用 WT1 標的免疫療法の意義. *胆と睥* 2011; 32(9) : 887-91.

III. 学会発表

- 1) Homma S, Sagawa Y, Ito M, Nagasaki E, Takahara A, Komita H, Koido S. Generation of cancer vaccine targeting tumor vessel from iPS cells. 第70回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10月.
- 2) 中野真範, 中川 良, 佐伯千里, 及川恒一, 高橋宏樹, 本間 定, 田尻久雄, 銭谷幹男. 自己免疫性肝障害を惹起する自己反応性 CD8⁺T 細胞の活性化と肝内誘導には肝内活性化 NKT 細胞が関与する. 第47回日本肝臓学会総会. 東京, 6月.
- 3) 赤崎安晴, 菊池哲郎, 本間 定, 山本洋平, 荒井隆雄, 田中俊英, 常喜達裕, 阿部俊昭. 樹状細胞とグリオーマ幹細胞の融合細胞を用いた免疫療法による抗 WT1 免疫反応の誘導. 第29回日本脳腫瘍学会学術集会. 下呂, 11月.
- 4) 木原 誠¹⁾, 田中直樹¹⁾, 尾辻真紀子¹⁾, 木村高弘, 鎌田裕子, 山本順啓, 穎川 晋, 西村俊秀¹⁾(¹メディカル・プロテオスコープ), 加藤治文 (新座志木中央総合病院). 個別化医療へ向けた FFPE 組織からの前立腺癌新規マーカーの探索. 第20回日本癌病態治療研究会. 東京, 6月.
- 5) 本間 定, 佐川由紀子, 伊藤正紀, 永崎栄次郎, 高原映崇, 込田英夫, 小井戸薫雄. iPS 細胞から腫瘍血管を標的とした癌ワクチンの作製. 第15回日本がん免疫学会総会. 大阪, 7月.
- 6) Nakano M, Nakagawa R, Saeki C, Oikawa T, Takahashi H, Homma S, Zeniya M. Activated NKT cells potentiate cytotoxic T cell-mediated autoimmune hepatic inflammation. 62nd Annual Meeting of the American Association for the Study of Liver Diseases. San Francisco, Nov.
- 7) かんしん¹⁾, 木村幸乃, 塚田 旬, 吉崎慎二, 石田尾武文¹⁾(¹テラ), 岡本正人 (武蔵野大学), 本間 定, 小井戸薫雄, 恒富亮一, 吉村 清, 裕 彰一, 岡 正

II. 総 説

- 1) Koido S, Homma S, Takahara A, Namiki Y, Tsukinaga S, Mitobe J, Odahara S, Yukawa T, Matsudaira H, Nagatsuma K, Uchiyama K, Satoh K, Ito M, Komi-

朗 (山口大学). 化学療法による癌細胞の免疫感受性の増強. 第70回日本癌学会学術総会, 名古屋, 10月.

8) Nakano M, Saeki C, Oikawa T, Takahashi H, Homma S, Zeniya M. Significant role of intrahepatic activated NKT cells to induce autoreactive T cells in the liver in experimental AIH model mouse. 21st Conference of the Asian Pacific Association for the Study of the Liver. Bangkok, Feb.

9) 西田純幸¹⁾, 小井戸薫雄, 原 一馬, 森本創世子, 坪井昭博¹⁾, 本間 定, 武田 裕¹⁾, 込田英夫, 永野浩昭, 岡 芳弘¹⁾, 大草敏文, 田尻久雄, 杉山治夫¹⁾ (¹⁾大阪大学). 睪癌に対するゲムシタビン併用 WT 1 ペプチドワクチン療法の臨床効果と免疫誘導. 第70回日本癌学会学術総会. 名古屋市, 10月.

IV. 著 書

1) Koido S, Homma S, Takahara A, Namiki Y, Komita H, Uchiyama K, Ohkusa T, Tajiri H. Chapter 13: Immunotherapy for Pancreatic Cancer. In: Sanjay SK editor. Pancreatic cancer: Molecular mechanism and targets. Rijeka: InTech, 2011. p.225-50.

分子遺伝学 研究部

教授: 山田 尚 分子腫瘍学, 血液学
講師: 河野 毅 分子腫瘍学, 血液学

教育・研究概要

I. 分子腫瘍学的研究

白血病は初回の寛解導入療法で約90%に完全寛解が得られる。しかし、多くが再発を引き起こす。再発に至る過程で白血病細胞は多様な機構を使って生存・治療抵抗性を獲得する。白血病細胞の可塑性もその一つの要因に挙げられる。我々は白血病細胞の可塑性に関して転写因子 FLI-1 と MAP キナーゼの活性化という観点から研究を行ってきた。我々が樹立した巨核芽球性白血病由来の細胞株 JAS-R は接着により表現系の異なる2つの細胞集団 (赤芽球系の JAS-REN, 巨核芽球系の JAS-RAD) から構成されている。このような可塑性を容易に示す JAS-R は培養条件の変化によって巨核球と赤芽球との間の形質転換を示すが、非幹細胞から白血病幹細胞様形質の獲得も可能なようである。

1. 転写因子 FLI-1 と血球分化

転写因子 FLI-1 はマウスに白血病を起こさせる friend leukemia virus の標的部位にある遺伝子として同定された。これまでの研究で血液細胞, とくに血小板や赤血球の分化に必須であることが判明している。そのノックアウトマウスは血小板および血管の形成不全により胎生致死となる。FLI-1 には isoform-1 と-2 が存在し, isoform-2 は細胞質のみに存在し, isoform-1 は逆に核にのみ存在する。FLI-1 が転写因子であることを考えれば, isoform-1 が転写因子として働いているであろうことは想像できるが, isoform-2 の機能はまだ解明されていない。そこで, われわれは各種白血病細胞株での FLI-1 の発現を検討した。すると慢性骨髄性白血病細胞株では FLI-1 の発現が isoform-2 のみで isoform-1 の発現は認められなかった。CML は造血幹細胞 (HSC) の腫瘍化と考えられており, HSC では FLI-1 isoform-1 が発現していないと予想される。また CML 細胞での分化阻害に FLI-1 が関与しているとも考えられる。そこで, FLI-1 の機能と CML の分子病理および HSC の制御に関して検討を進めている。現在までに, FLI-1 isoform-1 と MEK1 の活性変異体を同時に CML 細胞に遺伝子導入したところ, 接着細胞の増加と血小板への分化傾向を示した。またこれらの接着や分化には接着因子だけでなくベータ