

- 19) 大橋十也. ファブリー病の診断と治療. 第54回日本神経学会学術大会. 東京, 5月.
- 20) Ohashi T. Gene therapy for lysosomal storage disease. 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Disease/55th Annual Meeting of the Japanese Society for Inherited Metabolic Disease. Urayasu, Nov.

## 悪性腫瘍治療研究部

教授：本間 定 腫瘍免疫学  
教授：銭谷 幹男 肝臓病学  
(消化器・肝臓内科)  
准教授：小井戸薫雄 消化器病学  
(消化器・肝臓内科)  
講師：赤崎 安晴 脳腫瘍の診断と治療  
(脳神経外科学)

### 教育・研究概要

#### I. 進行膵がんに対する WT1 class I/II ペプチドパルス樹状細胞療法の第1相臨床試験

Wilms' Tumor 1 (WT1) 蛋白は悪性腫瘍に広範に発現するがん遺伝子産物であり、強い抗原性を示すことから抗腫瘍免疫の標的抗原として研究が進められてきた。本研究は膵がんを発現する WT1 に対する免疫反応を誘導・活性化して治療効果を上げる試みであり、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が認識する WT1 class I ペプチドに加えて、WT1 特異的ヘルパー T 細胞も活性化する WT1 class II ペプチドを併用使用する新規性がある。アフエレーシスにより樹状細胞前駆細胞を採取し、大学1号館 GMP 対応細胞産生施設において樹状細胞を大量培養後凍結保存、2週に1回の頻度で WT1 class I/II ペプチドをパルスした樹状細胞を患者に皮内接種した。この方法に加えて定法に則ったゲムシタビン (GEM) 治療を併用した。2012年から2013年度にかけて、3例の患者に WT1 class I ペプチドパルス樹状細胞投与、1例の患者に WT1 class II ペプチドパルス樹状細胞投与を行い、安全性を確認後、WT1 class I/II の両方のペプチドをパルスした樹状細胞の投与を開始した。2013年度末までに治療クライテリアを満たす7例の進行膵がん症例が登録され治療を受けた。35才、男性例は治療開始後約3か月目に間質性肺炎を発症し、効果安全委員会により本治療との関連性 (GEM による間質性肺炎発症が知られている) ありと判断されたため、本症例は臨床試験を中止、ステロイドパルス療法により軽快した。また、49才、女性例は治療開始後約3か月目に脳梗塞を発症して死亡したが、効果安全委員会の審査では治療関連性はなしと判定された。残りの5例は治療関連有害事象を認めず、良好な状態で外来治療を継続した。5例中4例は WT1 に対する皮膚皮内反応 (DTH) が経過中に陽性化し、それぞれの2013年度末までの生存期間は18か月 (死亡)、19か月 (生存中)、16か月 (生存中)、10か月 (死亡)、であった。

## II. 悪性膠芽腫に対する樹状細胞療法

患者由来の腫瘍細胞と樹状細胞を用いて作成する樹状細胞ワクチンは大学1号館のGMP対応細胞産生施設を利用して作製されている。樹状細胞療法と化学療法剤テモゾラミドとの併用治療は5年生存例も経験され、良好な治療成績が示されている。本年度は凍結保存された患者末梢血単核球を用いて、個々の症例において免疫原として使用した患者由来膠芽腫細胞の発現する代表的な腫瘍抗原 (WT1, GP-100, MAGE-A3) に対する免疫反応の誘導の有無をテトラマー法を用いて検討した。その結果、6例中3例に上記抗原に対する細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導が認められ、CTL反応の認められた症例中には経過良好で長期生存を示す例があった。本治療法は現在、厚労省、PMDAなどの指導を受けつつ先進医療の獲得に向けて準備中である。

## III. 蛋白工学技術を用いた人口蛋白がんワクチンの開発

モルクラフト技術により作り出される人口蛋白質から新規がんワクチンの作製を試みている。OVAなどの可溶性蛋白質は生体に投与されると免疫反応は抗体産生の方向に傾く。がん細胞を傷害するためには細胞性免疫の誘導が必要であり、この目的のためにOVAの抗原性ペプチドの数と配置の改変を試みた。OVAのMHC class I結合抗原性ペプチド、class II結合抗原性ペプチド、OVA蛋白を構成する介在配列ペプチドなどを種々の数と順番で組み合わせさせて結合した人口蛋白ライブラリーを作成し、その中から強く細胞性免疫を誘導する構造を有する蛋白を見出すことができた。この人口蛋白が細胞性免疫を誘導する機序のひとつとして、スカベンジャー受容体による抗原提示細胞への取り込みが関与していることも明らかとなった。細胞性免疫を誘導する特性を示す人口蛋白の抗原性ペプチド配列パターンには一定の法則性が存在することが示唆され、現在、このような法則性に則った抗原ペプチドの配列を示す人口蛋白をヒトがん抗原WT1をモデルとして作成中である。

## IV. がん細胞の産生する変異蛋白の内因性抗腫瘍免疫の標的抗原としての意義

がん細胞は種々のゲノム変異を有しており、変異遺伝子から生み出された数多くの変異蛋白の中には強い抗原性を示すものもあるはずである。このような抗原蛋白は当然生体の免疫系から認識され、免疫学的な腫瘍排除における標的抗原分子となりうる。

がん細胞は強力な免疫抑制機構を有しているが、近年、がん細胞の免疫抑制機構の分子メカニズムの解明が進み、免疫抑制を担う免疫チェックポイント分子に対する抗体療法が試みられた。その結果、抑制されていたがんに対する内因性の免疫反応は再活性化し、黒色腫、腎臓がん、肺がんなどで確実な治療効果が報告されるようになった。このような、内因性の抗腫瘍免疫反応のT細胞認識抗原はゲノム変異により生み出された変異抗原蛋白と想定されるが、その具体的な実証はなされていない。代表的なヒト前立腺がんと膀胱がんの細胞株を対象として次世代シーケンサーを用いてゲノム解析を行い、多種の変異蛋白質の構造を決定した。同時に、酸抽出法により同細胞のMHC class I分子上に提示されているT細胞反応性抗原ペプチドの構造をLC/MS/MSを用いて網羅的に解析し、変異蛋白質由来の抗原性ペプチドの存在の有無を探索している。どのような変異蛋白質からどのような抗原性ペプチドが生み出され、内因性の抗腫瘍免疫の標的抗原となっているのかを解明することを目指す。

## V. 標的分子発現増強誘導と抗体製剤を用いた強化抗体療法の開発。

ゲムシタピン(GEM)は膀胱がん細胞や乳がん細胞のHER2の発現を増強させる効果があることを明らかにしてきた。GEMを投与してこの作用を利用すると、元来HER2発現量が低くHER2抗体製剤が有効でなかったがんにも、trastuzumab(T)のようなHER2抗体製剤の抗腫瘍効果が得られる可能性がある。特にTに中間径フィラメント合成阻害剤emtansineを結合させたtrastuzumab-emtansine(T-DM1)はT抵抗性乳がんに対しても高い有効性が示されている。元来HER2発現が低い膀胱がんや一部の乳がんもGEMで前処置されるとHER2発現量の増加が得られ、さらにT-DM1を追加処理すると、がん細胞に対する抗体結合量が増加することにより強い殺腫瘍細胞効果が得られることが*in vitro*の実験系で明らかとなった。今後、HER2低発現の膀胱がんや乳がんに対する新規治療法となる可能性がある。

同様にびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)の細胞表面に発現するCD20を標的分子とした抗体製剤rituximab(RTX)は同疾患治療に高く貢献しているものの、難治例、再発例などにたいするより強力な治療法の開発が望まれる。われわれはGEMやプロテアソーム阻害剤のボルテゾミブがヒトDLBCL細胞のCD20の発現を増強させることを見

いでした。これらの薬剤で前処理された DLBCL 細胞にはより多くの RTX の結合と補体依存性細胞傷害の増強が認められた。これらの薬剤を用いた併用療法による治療効果の増強が期待される。

## VI. がん細胞の免疫抑制分子 programmed cell death ligand-1 の発現制御と治療への応用

がん細胞上に発現する programmed cell death ligand-1 (PD-L1) 分子は代表的ながん細胞の免疫チェックポイント分子であり、がん細胞を攻撃する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 上に発現する programmed cell death-1 (PD-1) と結合することにより CTL のアポトーシスを誘導する。その結果、がん細胞は免疫から逃れて増殖するが、近年、抗 PD-1 抗体、抗 PD-L1 抗体の確実な抗腫瘍効果が報告され注目された。がん細胞上の PD-L1 はそのほとんどが CTL から産生されるインターフェロン- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) により誘導されたものであり、この反応を抑制できればがん細胞の免疫逃避機構を抑制することが可能となるかもしれない。われわれは、合成セリンプロテアーゼ阻害剤である nafamostat mesylate が IFN- $\gamma$  によるがん細胞の PD-L1 発現誘導を強く抑制することを発見した。NM は抗 PD-L1 抗体との併用によりがんの免疫チェックポイント抑制療法に寄与する可能性がある。

### 「点検・評価」

がん治療は大きな変革期を迎えている。その代表的なものが近年明らかにされつつある免疫チェックポイント機構の解明とがん治療への導入であろう。これまでがん細胞が免疫系に反応しうる抗原性を有していることは多くの研究者により示されてきたが、その標的抗原に対する免疫反応を人為的に誘導・活性化することががん治療に寄与すると考えられてきた。しかし、同分野の急速な研究の進歩により、がん細胞の抗原性はすでに自然発生的に強く免疫系に認識されており、それゆえに抗腫瘍免疫活性は生体の恒常性を保つため抑制されていることが示された。すなわち、アクセルとブレーキが両方踏み込まれ、一見何もなかったように停止しているように見えたが、実はがんに対する免疫は強く活性化され、それ故に強く抑制されていたといえる。そのメカニズムを支える免疫抑制分子として CTLA-4, PD-1, PD-L1, Tim-3, Galectin-9 などが次々に同定された。このような標的分子に対する抗体療法は、同時に踏まれていたアクセルとブレーキからブレーキだけを緩めてやるという簡明な法則に従って難治性のがん

に驚異的な治療効果を発揮し、悪性黒色腫に対する PD-1 抗体製剤は異例な速さで本邦でも 9 月より承認を獲得した。研究の進歩の速さ、臨床への導入の迅速さばかりではなく、あらたに実証された概念が過去のそれを払しょくし、新たな進歩をもたらしたわけである。ショッキングであり、しかし、嬉しい進歩ともいえる。このような急速な学術面の進歩にしっかりとキャッチアップできているか、過去の実績にとらわれて時代遅れとなりつつあるのではないかとこの反省と独自のヴァージョンアップが常に求められている。

われわれの研究は上記のような新知見の奔流の中で、過去の研究実績を活かした独自の originality を発揮しなければならない。われわれは昨年度から免疫チェックポイント機構の制御を目指した独自の研究を開始したが、徒に最新の外来知識に盲従するだけでは、研究施設としての存在意義は少ない。当該分野の大きな変革期のなかで、当研究施設がどれだけそれに対応し、受け入れると同時に批判し、自己の研究の素材とするためにどれだけ消化・吸収できたかは現時点で不明である。しかし、次年度以降にその努力の有無の結果が大きく問われてくることは明確である。吸収し、考え、悩み、新たな視点を見出し、さらに発展的な方向へと導くという努力の継続が求められる。

一方、がんの抗体療法に新知見を提供できたことは有意義であった。標的分子の発現を人為的に増強させ、その結果、抗体製剤の反応性を増強させる試みは他に殆ど類を見ない方法といえる。臨床に導入され、患者治療に貢献することが期待される。

## 研究業績

### I. 原著論文

- 1) Nishida S<sup>1)</sup>, Koido S, Takeda Y<sup>1)</sup>, Homma S, Komita H, Takahara A, Morita S (Yokohama City Univ), Ito T<sup>1)</sup>, Morimoto S<sup>1)</sup>, Hara K<sup>1)</sup>, Tsuboi A<sup>1)</sup>, Oka Y<sup>1)</sup>, Yanagisawa S, Toyama Y, Ikegami M, Kitagawa T<sup>1)</sup>, Eguchi H<sup>1)</sup>, Wada H<sup>1)</sup>, Nagano H<sup>1)</sup>, Nakata J<sup>1)</sup>, Nakae Y<sup>1)</sup>, Hosen N<sup>1)</sup>, Oji Y<sup>1)</sup>, Tanaka T<sup>1)</sup>, Kawase I<sup>1)</sup>, Kumanogoh A<sup>1)</sup>, Sakamoto J (Nagoya Univ), Doki Y<sup>1)</sup>, Mori M<sup>1)</sup>, Ohkusa T, Tajiri H, Sugiyama H<sup>1)</sup> (<sup>1</sup>Osaka Univ). Wilms tumor gene (WT1) peptide-based cancer vaccine combined with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer. *J Immunother* 2014; 37(2) : 105-14.
- 2) Komoike N, Kato T, Saijo H, Arihiro S, Hashimoto H, Okabe M, Ito M, Koido S, Homma S, Tajiri H. Photo-

dynamic diagnosis of colitis-associated dysplasia in a mouse model after oral administration of 5-aminolevulinic acid. *In Vivo* 2013; 27(6): 747-53.

- 3) Koido S, Homma S, Okamoto M (Keio Univ), Namiki Y, Takakura K, Uchiyama K, Kajihara M, Arihiro S, Imazu H, Arakawa H, Kan S, Komita H, Ito M, Ohkusa T, Gong J (Boston Univ School of Medicine), Tajiri H. Fusions between dendritic cells and whole tumor cells as anticancer vaccines. *Oncoimmunology* 2013; 2(5): e24437.
- 4) Kamata Y, Kuhara A, Iwamoto T, Hayashi K, Koido S, Kimura T, Egawa S, Homma S. Identification of HLA class I-binding peptides derived from unique cancer-associated proteins by mass spectrometric analysis. *Anticancer Res* 2013; 33(5): 1853-9.
- 5) Koido S, Homma S, Okamoto M (Keio Univ), Namiki Y, Takakura K, Takahara A, Odahara S, Tsukinaga S, Yukawa T, Mitobe J, Matsudaira H, Nagatsuma K, Kajihara M, Uchiyama K, Arihiro S, Imazu H, Arakawa H, Kan S, Hayashi K, Komita H, Kamata Y, Ito M, Hara E (Saitama Cancer Center Research), Ohkusa T, Gong J (Boston Univ School of Medicine), Tajiri H. Augmentation of antitumor immunity by fusions of ethanol-treated tumor cells and dendritic cells stimulated via dual TLRs through TGF- $\beta$ 1 blockade and IL-12p70 production. *PLoS One*. 2013; 8(5): e63498.

### Ⅲ. 学会発表

- 1) 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がんワクチンの作製. 第23回日本樹状細胞研究会. 京都, 5月.
- 2) 伊藤正紀, 林 和美, 本間 定, 小井戸薫雄, 芝清隆. Optimization of mpeular context of antigenic peptides in artificial protein for enhanced cellular immunogenicity. 第17回日本がん免疫学会総会. 宇部, 7月.
- 3) Kamata Y, Kuhara A, Iwamoto T, Kimura T, Hayashi K, Koido S, Egawa S, Homma S. Proteomic analysis of HLA Class I binding peptides from prostate cancer cell lines to seek for novel cancer vaccine and cancer biomarker. HUPO (Human Proteome Organization) 12th Annual World Congress. Yokohama, Sept.
- 4) 伊藤正紀, 林 和美, 本間 定, 小井戸薫雄, 芝清隆 (がん研究会). (Japanese Oral Sessions J12-1: 腫瘍抗原と特異的 T 細胞誘導) 外来抗原エピトープの分子コンテクストを最適化した人工タンパク質は細

胞性免疫を誘導する. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜, 10月.

- 5) カンシン, 小井戸薫雄, 岡本正人 (慶應義塾大), 林 和美, 伊藤正紀, 鎌田裕子, 込田英夫, 永崎栄次郎, 本間 定. (Poster Sessions P12-1: 抗体療法 (1)) 新規分子標的治療薬 Trastuzumab-Emtansine のヒト膀胱がん細胞に対する抗腫瘍効果. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜, 10月.
- 6) 鎌田裕子, 久原映子, 岩本武雄, 木村高弘, 林 和美, 小井戸重雄, 颯川 晋, 本間 定. (Poster Sessions P14-46: 泌尿器がんの実験的治療) 前立腺癌細胞における HLA クラス I 分子結合ペプチドの探索. 第72回日本癌学会学術総会. 横浜, 10月.
- 7) 小井戸薫雄, 西田純幸, 本間 定, 込田英夫, 高原映崇, 高倉一樹, 内山 幹, 今津博雄, 荒川廣志, 大草敏史, 田尻久雄. 進行膀胱癌に対する WT1 ペプチドワクチンとゲムシタピンによる集学的治療法の選択基準. 第55回日本消化器病学会大会. 東京, 10月.
- 8) 本間 定. がんワクチンの挑戦. 第10回がんワクチン療法研究会学術集会. 東京, 11月.