

SSIM (Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism) 2015. Lyon. Sept.

- 18) Akiyama K, Shimada Y, Higuchi T, Yokoi T, Yokoi K, Kobayashi H, Ida H, Ishii M, Ohashi T. The therapeutic efficacy of bone marrow transplantation from heterozygous donor in mucopolysaccharidosis type II mice. SSIM (Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism) 2015. Lyon. Sept.
- 19) Shirai Y, Shiba H, Uwagawa T, Saito N, Sugano H, Horiuchi T, Iwase R, Haruki K, Fujiwara Y, Furukawa K, Ohashi T, Yanaga K. (Integrated oral presentations session I) Recombinant thrombomodulin suppresses tumor growth of pancreatic cancer in mice by inhibition of NF- κ B. 11th Annual Academic Surgical Congress. Jacksonville, Feb.
- 20) Horiuchi T, Shiba H, Saito N, Shirai Y, Iwase R, Haruki K, Fujiwara Y, Furukawa K, Uwagawa T, Ohashi T, Yanaga K. (Integrated oral presentations session II) Nafamostat mesilate suppresses NF- κ B activation and enhances antitumor effect of gemcitabine plus nab-paclitaxel therapy for pancreatic cancer. 11th Annual Academic Surgical Congress. Jacksonville, Feb.

V. その他

- 1) 厚生労働省難治性疾患等政策研究事業ライソゾーム病（ファブリー病を含む）に関する調査研究班編. 診断の手引きに準拠したムコ多糖症診療マニュアル. 東京：診断と治療社, 2016.
- 2) 厚生労働省難治性疾患等政策研究事業ライソゾーム病に関する調査研究班編. ライソゾーム病・ペルオキシゾーム病診断の手引き. 東京：診断と治療社, 2015.

悪性腫瘍治療研究部

教授：本間 定 腫瘍免疫学
准教授：小井戸薫雄 消化器病学
(内科学講座(消化器・肝臓内科)より出向中)
講師：伊藤 正紀 分子生物学
講師：赤崎 安晴 中枢神経悪性腫瘍
(脳神経外科科学講座より出向中)

教育・研究概要

I. 膠芽腫における免疫原性変異抗原の探索

悪性腫瘍治療研究部は脳神経外科と共同で膠芽腫に対する樹状細胞／腫瘍細胞ワクチン療法を行ってきた。この治療法により生存期間の延長を認めたが、この治療法の効果を事前に予測するような因子はない。近年、腫瘍免疫療法の抗腫瘍効果には、腫瘍細胞の遺伝子変異に由来する腫瘍変異抗原が関与することがわかってきた。そこで、樹状細胞／腫瘍細胞ワクチン療法を行った患者を対象に腫瘍変異抗原の探索や遺伝子発現解析を行い、治療法の効果に関連する因子を解析した。腫瘍変異抗原の探索は、次世代シーケンサーを用いた全エクソン解析と全トランスクリプトーム解析で行った。発現している遺伝子の変異情報から変異型タンパク質配列を取得し、HLA との結合の強い変異型ペプチドを予測し、これを腫瘍変異抗原候補とした。腫瘍変異抗原候補は治療効果に関わらずどの症例でも 40 個程度検出された。また、全例に共通な腫瘍変異抗原候補も複数見つかったが、治療効果が認められた群だけに共通の腫瘍変異抗原は見つからなかった。遺伝子発現解析の結果から、治療効果が認められた群では MHC クラス II 分子の発現が高いことが分かった。これらのことから、樹状細胞／腫瘍細胞ワクチン療法の効果には、コンピュータ解析で予測した腫瘍変異抗原候補の数や特定の腫瘍変異抗原の有無よりも MHC クラス II 分子の発現が関与している可能性が考えられた。今後、腫瘍変異抗原候補の抗腫瘍効果の確認や樹状細胞／腫瘍細胞ワクチン療法での MHC クラス II 分子の機能などの解析を行っていく予定である。

II. Nafamostat の腫瘍細胞におけるインターフェロ γ (IFN- γ) 誘導性 programmed cell death ligand-1 (PD-L1) の発現抑制効果の研究

腫瘍細胞に発現する PD-L1 は活性化リンパ球上に発現する programmed death-1 (PD-1) と結合すると T リンパ球を不活化し、腫瘍細胞の免疫逃

避に重要な役割を果たす。殺腫瘍細胞活性を示す活性化Tリンパ球は腫瘍細胞を攻撃する際、IFN- γ を産生するが、このIFN- γ により腫瘍細胞にはPD-L1の発現が強く誘導される。従って、IFN- γ 誘導性PD-L1の発現抑制は腫瘍細胞の免疫逃避を妨げ、生体の免疫反応による腫瘍排除を促進する可能性がある。われわれは、前年度 serine protease inhibitor の一種である nafamostat mesilate (NM) がIFN- γ 誘導性PD-L1の発現を強力に抑制することを見出した。T細胞免疫反応に必須のHLA class I分子もPD-L1と同様にIFN- γ により強い発現増強が誘導されるが、NMはIFN- γ によるHLA class Iの発現誘導を抑制せず、それを裏付けるようにNMはIFN- γ によるSTAT1, IRF1の活性化に全く影響を及ぼさないことが判明した。今後は、NMのPD-L1発現抑制効果のユニークな作用機序の解明と臨床応用に向けた動物実験を行う予定である。

Ⅲ. 抗原提示細胞成熟化を促進するTLR4活性化モチーフの導入人工抗原作成の研究

強力な免疫を誘導するワクチンにはアジュバントが必須である。アジュバントは抗原提示細胞への抗原取込を促進する物離アジュバントと、抗原提示細胞を成熟化させる信号アジュバントに機能面から分ける事ができる。我々はアジュバントを使用しないワクチンを作成するために、TLR4を活性化する機能を持つペプチドモチーフを結合した人工抗原を作成した。抗原のC末端に3つのTLR4活性化モチーフを組み込んだ人工抗原は、抗原提示細胞のTLR4を介してNF- κ Bシグナルを活性化した。また、人工抗原は炎症性サイトカインTNF- α の産生と副刺激分子CD40の発現を誘導する事から、抗原提示細胞を成熟化する能力がある事が示唆された。

Ⅳ. 進行膵癌患者血中可溶性PD-L1と血中免疫細胞に発現するPD-L1の意義に関する研究

前年度の研究により進行膵癌患者血中には健常人に比較して有意に高値の可溶性PD-L1 (sPD-L1)が存在することを明らかにした。さらに、Flow cytometry解析により同じ進行膵癌患者血中の免疫担当細胞にも高いPD-L1の発現が認められ、特に進行膵癌患者のCD4⁺T細胞の約25%には高いPD-L1の発現が見られた。PD-L1の発現はCD4⁺T細胞、CD8⁺T細胞、NK細胞の順に高い発現が認められたが、B細胞、単球にはPD-L1の発現は殆ど認められなかった。患者と健常者のCD4⁺T細胞を単離して短期培養すると、その培養上清にはsPD-L1の

存在が認められた。このことから、患者血中のCD4⁺T細胞などの免疫細胞がsPD-L1の産生細胞となっている可能性が示唆された。sPD-L1が進行膵癌の病態形成にどのように関与しているかを明らかにしていく。

Ⅴ. 進行肺癌患者血中の可溶性PD-L1の測定とその臨床的意義の研究

都立駒込病院呼吸内科との共同研究で進行肺癌患者の血中sPD-L1の測定をELISAを用いて行った。対象は肺腺癌73例、扁平上皮癌7例、大細胞癌1例、小細胞癌15例の計96例である。測定の結果、sPD-L1高値群は低値群に比較して有意に生存期間が短いことが明らかとなり、血中sPD-L1は進行肺癌の予後予測因子となりうる可能性が示された。血中sPD-L1の肺癌患者に対する免疫抑制などの機能的意義を明らかにしていく。

「点検・評価」

腫瘍免疫学は免疫チェックポイント阻害療法やCART療法が発表された2013年を区切りに大きな変貌を遂げた。すなわち、遺伝子変異により生じたネオアンチゲンなど抗原性の強い腫瘍抗原を発現する腫瘍に対しては生体の免疫系は自然発生的に強い免疫反応を示しており、生体恒常性を保つ意味からもこの抗腫瘍免疫活性は免疫チェックポイント機構により抑制されている。従って、抗腫瘍免疫のブレーキとなる免疫チェックポイント機構の遮断が各種悪性腫瘍に対して予想をはるかに超えた高い治療効果を示す事例が数多く示され、免疫チェックポイント阻害療法は急速に現代医療界に進展していった。かつて治療上重要視された腫瘍抗原に対する免疫反応の活性化の促進は再検討を強いられ、腫瘍免疫学には大きなパラダイムシフトが訪れたといえる。一方、免疫チェックポイント阻害療法には重篤な副作用を生ずるリスクがあり、自己免疫機構の活性化がその根底にある可能性が示されている。このような腫瘍免疫学に関する激しい潮流の変化や、あふれ出る新知見にキャッチアップした研究を行っていくことは容易ではない。なにより、この大きなパラダイムシフトの中で、どのような独自性、新規性を打ち出していけるかは大きな課題である。当研究室は旧来の癌免疫療法の研究から得られた多くの知見の中から将来に結び付くものを選択し、独自の研究として発展させていく必要性に迫られているといえる。このような意味からは、本年度は新しい研究の方向へスタートを切った時期といえる。さらなる研究の発展

と迅速な社会への報告が必須といえる。また、免疫チェックポイント療法の奏功バイオマーカーの探索研究が臨床科との共同研究で開始された点は貴重なことであり、根気強い継続と思い切った発想の転換を要すると考えられる。

研究業績

I. 原著論文

- 1) Takakura K, Koido S, Kan S, Yoshida K, Mori M, Hirano Y, Ito Z, Kobayashi H, Takami S, Matsumoto Y, Kajihara M, Misawa T, Okamoto M (Kitasato Univ), Sugiyama H (Osaka Univ), Homma S, Ohkusa T, Tajiri H. Prognostic markers for patient outcome following vaccination with multiple MHC class I/II-restricted WT1 peptide-pulsed dendritic cells plus chemotherapy for pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2015; 35(1): 555-62.
 - 2) Komita H, Koido S, Hayashi K, Kan S, Ito M, Kamata Y, Suzuki M, Homma S. Expression of immune checkpoint molecules of T cell immunoglobulin and mucin protein 3/galectin-9 for NK cell suppression in human gastrointestinal stromal tumors. *Oncol Rep* 2015; 34(4): 2099-105.
 - 3) Kan S, Koido S, Okamoto M (Kitasato Univ), Hayashi K, Ito M, Kamata Y, Komita H, Ishida T (Tella), Nagasaki E, Homma S. Gemcitabine treatment enhances HER2 expression in low HER2-expressing breast cancer cells and enhances the antitumor effects of trastuzumab emtansine. *Oncol Rep* 2015; 34(1): 504-10.
 - 4) Takakura K, Shibasaki Y¹⁾, Yoneyama H¹⁾, Fujii M¹⁾, Hashiguchi T¹⁾ (¹Stelc Institute & Co.), Ito Z, Kajihara M, Misawa T, Homma S, Ohkusa T, Koido S. Inhibition of cell proliferation and growth of pancreatic cancer by silencing of carbohydrate sulfotransferase 15 in vitro and in a xenograft model. *PLoS One* 2015; 10(12): e0142981.
 - 5) Kan S, Koido S, Okamoto M (Kitasato Univ), Hayashi K, Ito M, Kamata Y, Komita H, Nagasaki E, Homma S. Up-regulation of HER2 by gemcitabine enhances the antitumor effect of combined gemcitabine and trastuzumab emtansine treatment on pancreatic ductal adenocarcinoma cells. *BMC Cancer* 2015; 15: 726.
- ### II. 総説
- 1) 本間 定. 【がん闘う体の免疫】. 予医ジャーナル 2015; 480: 12-9.
- ### III. 学会発表
- 1) 本間 定. 樹状細胞を用いた癌治療の新展開. 日本輸血・細胞治療学会関東甲信越支部第139回支部例会. 東京, 2015年2月.
 - 2) Komita H, Koido S, Tajiri H, Suzuki M, Homma S. (Poster session: Tumor immunology) Tim-3/galectin-9 interaction might be associated with immunosuppression of gastrointestinal stromal tumor (GIST). AACR (American Association for Cancer Research) Annual Meeting 2015. Philadelphia, Apr.
 - 3) Homma S, Koido S, Sagawa Y, Hayashi K, Komita H, Kamata Y, Ito M. (Poster) Soluble PD-L1 in blood of the advanced pancreatic cancer patients. International Conference of Cancer Immunotherapy and Macrophages 2015. Tokyo, July.
 - 4) Ito M, Hayashi K, Homma S, Koido S, Minamisawa T, Shiba K. (Poster) Antigen-presenting cells recognize the molecular contexts of artificial protein antigen. International Conference of Cancer Immunotherapy and Macrophages 2015. Tokyo, July.
 - 5) 伊藤正紀, 林 和美, 小井戸薫雄, 本間 定, 南澤宝美后, 芝 清隆. (ポスター: がん免疫 (1)) Toll様受容体 4 アゴニスト・リガンド・モチーフの埋め込みにより人工蛋白質抗原の細胞性免疫誘導能力を増強する. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10月.
 - 6) 鎌田裕子, 久原映子, 林 和美, 永崎栄次郎, 本間 定. (ポスター: がん免疫 (2)) 遺伝子変異による変異型ペプチドは強い HLA 結合能力を持つ. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10月.
 - 7) 込田英夫, 小井戸薫雄, 林 和美, 伊藤正紀, 鎌田裕子, 田尻久雄, 鈴木正章, 本間 定. (ポスター: がん免疫 (3)) GIST における免疫チェックポイント関連分子 Tim-3/galectin-9 の発現. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10月.
 - 8) 佐川由紀子, 林 和美, 小井戸薫雄, カンシン, 込田英夫, 鎌田裕子, 伊藤正紀, 本間 定. (口演: 免疫チェックポイント阻害薬とデリバリーシステム) セリンプロテアーゼ阻害剤はがん細胞の IFN- γ 誘導性 PD-L1 の発現上昇を抑制する. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10月.
 - 9) 本間 定, 小井戸薫雄, 佐川由紀子, 林 和美, 込田英夫, 鎌田裕子, 伊藤正紀. (口演: 免疫チェックポイント阻害薬とデリバリーシステム) 進行膵癌患者血中の可溶性 PD-L1. 第74回日本癌学会学術総会. 名古屋, 10月.
 - 10) 林 和美, 永崎栄次郎, 鎌田裕子, 伊藤正紀, 小井戸薫雄, 相羽恵介, 本間 定. (ポスター: 臓器がんの基礎・診断・治療 (37)) ゲムシタピンによる B 細胞リンパ腫細胞の CD20 発現増強は NF- κ B の活性化

による。第74回日本癌学会学術総会。名古屋。10月。

- 11) 永崎栄次郎, 林 和美, 鎌田裕子, 本間 定. (ポスター: 薬理効果の評価と予測 (6)) エリブリン耐性乳癌細胞株の樹立と耐性機序の検討. 第74回日本癌学会学術総会。名古屋。10月。

分子免疫学研究部

准教授: 斎藤 三郎	免疫学, アレルギー学
講 師: 秋山 暢丈	免疫学, 分子生物学
教 授: 黒坂大太郎 (兼任)	臨床免疫学
講 師: 大野 裕治 (兼任)	免疫薬理学

教育・研究概要

I. インターロイキン 31 (IL-31) の機能解析

IL-31 は, T 細胞から産生され, かゆみや脱毛を誘発し, アトピー性皮膚炎 (AD) や気管支炎などのアレルギー疾患に関与するサイトカインとして知られている。IL-31 レセプターは, IL-31 receptor A (IL-31RA) とオンコスタチン M レセプター (OSMR) からなるヘテロダイマーで, 後根神経節ばかりでなく表皮ケラチノサイト, 気管支上皮細胞, 活性化マクロファージや肥満細胞などに発現していることから, IL-31 が多様な生理的機能を担っていると考えられる。IL-31 の発現量は AD 患者で高く Th2 サイトカインと関連することが知られている。IL-31 過剰発現マウスでは AD に似た症状が認められることから, IL-31 が Th2 免疫応答に関与することが示唆される。

一方, IL-31RA ノックアウト (KO) マウスを用いた解析では野生マウスに比べてより強い炎症反応や Th2 サイトカイン発現が誘導されることから, IL-31 のシグナルは Th2 反応を促進するよりもむしろ抑制的に調節していると報告されている。これらの IL-31 機能の矛盾した結果は IL-31RAKO マウスを用いた解析のために, 他のレセプター (OSMR) の動態によると指摘されている。当研究室で作成した IL31RAKO マウスを用いた解析では, Th2 免疫応答は IL-31 の標的となる IL-31RA 発現細胞によって正にも負にも調節されることが明らかになった。このことは, Th2 免疫応答に関与する IL-31 シグナルは IL-31 レセプターを発現している細胞によって異なることを意味している。

II. スギ花粉症緩和米を用いた第二相臨床研究

前回の臨床研究では, 被験者をプラセボ米 80g 経口摂取群 15 名とスギ花粉症緩和米 80g 経口摂取群 15 名の 2 群に無作為に割付し, 試験食品を 5 ヶ月間 (20 週間) 経口摂取させた。その結果, スギ花粉症緩和米 80g 経口摂取安全性と免疫学的有効性が明らかになった。そこで, 今回少量のスギ花粉症