

令和元年6月26日現在

機関番号：32622

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05420

研究課題名(和文) 分子Xを標的としたCAR-T 免疫療法の開発

研究課題名(英文) Development of CAR-T immunotherapy targeting molecule X

研究代表者

吉村 清 (Yoshimura, Kiyoshi)

昭和大学・大学共同利用機関等の部局等・教授

研究者番号：30346564

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,000,000円

研究成果の概要(和文)：CAR-Tの標的としての膜表面蛋白である分子Xに関して、正常組織の発現はきわめて限定的であり、がん組織で消化管がんと膵がんが高い発現が認められた。これを標的とした殺細胞効果を探索したところ強い効果を認めただ、より選択的で強い効果を期待してモノクローナル抗体作製を行った。一方で活性化したT細胞の腫瘍塊への抗腫瘍効果発揮のメカニズムの解析実験や情報収集を通じて固形がんに対する免疫細胞そのものの有効性発揮が可能などの性質(適切な活性化、浸潤能獲得など)を精査し、CAR-Tに限らずT細胞を用いる普遍的な次世代型細胞免疫療法の礎となる研究が進んだ。

研究成果の学術的意義や社会的意義

CAR-Tの標的としての膜表面蛋白である分子Xに関して、正常組織の発現はきわめて限定的であり、がん組織で消化管がんと膵がんが高い発現が認められた。これを標的とした殺細胞効果を探索したところ強い効果を認めただ、より選択的で強い効果を期待してモノクローナル抗体作製を行った。オリジナルな発想の元、メカニズムの解明、CAR-T細胞療法への応用の模索を行っており、早期かつ有効性と安全性についても実態のある開発を行いPOCの獲得を目指している。

研究成果の概要(英文)：With regard to molecule X, which is a membrane surface protein as a target of CAR-T, the expression of normal tissue was very limited, and high expression was observed in gastrointestinal cancer and pancreatic cancer in cancer tissue. When a cell killing effect targeting this was searched for, a strong effect was observed, but monoclonal antibody production was performed in expectation of a more selective and strong effect. On the other hand, analysis of the mechanism of anti-tumor effect on activated T cell tumor mass. Analysis of the effect of immune cells themselves against solid cancer through experiments and information collection (appropriate activation, invasion ability) The research, which has become a foundation for universal next-generation cell immunotherapy using T cells as well as CAR-T, has been advanced.

研究分野：細胞免疫療法、腫瘍免疫療法

キーワード：細胞免疫療法 腫瘍免疫療法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

造血器系腫瘍で高い有効性が報告されている Chimeric Antigen Receptor 遺伝子導入 T 細胞 (CAR-T) 療法は、固形がんに対しては明確な成果を上げていない。この理由の一つに CAR-T 療法の標的となる適切な分子の候補が不足していることが考えられる。

### 2. 研究の目的

我々は独自に開発した固形がん幹細胞様細胞の培養技術を基に、胃がん細胞とがん幹細胞様細胞に共通して発現する分子 X を同定した。本研究ではこの共通分子 X を標的とする CAR-T 療法の開発を目指して、その基盤的研究を行う。具体的には、(1)分子 X 標的 CAR-T による殺がん細胞効果の確認と、(2)正常組織での分子 X の発現確認を行う。

### 3. 研究の方法

### 4. 研究成果

CAR-T の標的としての膜表面蛋白である分子 X に関して、正常組織の発現はきわめて限定的であり、がん組織で消化管がんと膵がんで高い発現が認められた。これを標的とした殺細胞効果を探したところ強い効果を認めたが、より選択的で強い効果を期待してモノクローナル抗体作製を行った。この抗体が作製できれば早急にこの抗体による各種がんや正常組織での発現確認を確認する必要があるためこの準備を行った。

実際にはこの抗体作製においてリコンビナント蛋白を用いた動物免疫では一定の親和性のあるポリクローナル抗体が得られるが、モノクローナル抗体にして親和性の高い抗体のスクリーニングに入ると、良いものが得られない状況が続き、時間を要した。この結果ペプチド免疫による抗体作製に切り替えて抗体作製継続中であるが、この方法でもがん特異的な糖鎖修飾の部分で良い抗体が得られないため現在糖鎖修飾を含めた抗原感作により抗体を作製するため、時間を要している。

一方で活性化した T 細胞の腫瘍塊への抗腫瘍効果発揮のメカニズムの解析実験や情報収集を通じて固形がんに対する免疫細胞そのものの有効性発揮が可能なときの性質 (適切な活性化、浸潤能獲得など) を精査し、CAR-T に限らず T 細胞を用いる普遍的な次世代型細胞免疫療法の礎となる研究が進んだ。ここで少なくとも HLA-

TCR 間をペプチドにより送られるシグナル 1、PD-L1/PD-1 に代表される共シグナルであるシグナル 2 に対して、まだその意義が十分に判明されていないシグナル 3 が T 細胞においては非常に重要であることが判明しつつある。特に我々は NKG2DL/NKG2D によるシグナル (シグナル 1、2 非依存シグナル) を用いた免疫細胞療法の研究開発が非常に重要であることを見だし、この解析を行った。オリジナルな発想の元、これらのメカニズムの解明、CAR-T 細胞療法への応用の模索を行っており、早期かつ有効性と安全性に関しても実態のある開発を行い POC の獲得を目指している。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 6 件)

1. Kamei R, Yoshimura K, Yoshino S, Inoue M, Asao T, Fuse M, Wada S, Kuramasu A, Kondo T, Oga A, Iizuka N, Suzuki N, Maeda N, Watanabe Y, Matsukuma S, Iida M, Takeda S, Ueno T, Sasaki H, Hazama S, Oka M, Nagano H, Expression levels of UL16 binding protein 1 and natural killer group 2 member D affect overall survival in patients with gastric cancer after gastrectomy. (Corresponding author), *Oncol Lett*, 15(1), 747-754, 2018, 査読有

2. Nishiyama M, Tsunedomi R, Yoshimura K, Hashimoto N, Matsukuma S, Ogihara H, Kanekiyo S, Iida M, Sakamoto K, Suzuki N, Takeda S, Yamamoto S, Yoshino S, Ueno T, Hamamoto Y, Hazama S, Nagano H. Metastatic ability and the epithelial-mesenchymal transition in induced cancer stem-like hepatoma cells. *Cancer Sci.*, doi:10.1111/cas.13527, 2018, 査読有

3. Konagai, A., Yoshimura, K., Hazama, S., Yamamoto, N., Aoki, K., Ueno, T., et al. (2017). Correlation Between NKG2DL Expression and Antitumor Effect of Protein-bound Polysaccharide-K in Tumor-bearing Mouse Models. (Corresponding author), *Anticancer Research*, 37(8), 4093-4101 2018, 査読有

4. Matsui H, Hazama S, Yoshimura K, Takeda S, Oka M, Nagano H. et.al., Postoperative adjuvant therapy for resectable pancreatic cancer with gemcitabine and adoptive immunotherapy. *Pancreas*, 46(8), 994-1002, 2017, 査読有

5. Matsukuma S, Yoshimura K, Ueno T, Oga A, Inoue M, Watanabe Y, Kuramasu A, Fuse M,

Tsunedomi R, Nagaoka S, Eguchi H, Matsui H, Shindo Y, Maeda N, Tokuhisa Y, Kawano R, Furuya-Kondo T, Itoh H, Yoshino S, Hazama S, Oka M, Nagano H. Calreticulin is highly expressed in pancreatic cancer stem-like cells. (Corresponding author), *Cancer Sci.*, 107(11), 1599-1609, 2016, 査読有

6. Yamamoto S, Suga K, Maeda K, Maeda N, Yoshimura K, Oka M. Breast sentinel lymph node navigation with three-dimensional computed tomography-lymphography: a 12-year study. *Breast Cancer*, 23(3) 456-62, 2016, 査読有

〔学会発表〕(計 68 件)

1. 吉村清、Gut microbiota が切り拓くがん免疫療法の未来、第 92 回日本薬理学会年会、2019.03
2. 吉村清、Open the Door - 免疫療法の新展開、Immuno-Oncology Expert Meeting in chiba、2019.03
3. 吉村清、免疫の関門の解除に対する新たなアプローチ、区南部 肺癌分子標的治療セミナー、2019.02
4. 吉村清、腸内細菌が変える免疫療法の未来-昭和発便移植による創薬を目指して-、第 5 回昭和大学治験支援セミナー、2019.02
5. 吉村清、がん免疫療法の関門とは何か - 免疫療法の目指すもの -、第 10 回千葉食道疾患研究会、2019.02
6. 吉村清、Future direction of immunotherapy (combination immunotherapy)、JSMO/ASCO Young Oncologist Workshop、2019.02
7. 吉村清、がん免疫療法 関門の克服、第 3 回 NSCLC I-O Seminar、2019.02
8. 吉村清、がん免疫療法の新しい展開、第 7 回広島がんセミナー-先端のがん薬物療法研究会、2019.01
9. 吉村清、免疫療法が切り拓くがん治療の未来、がんプロセミナー ~ Educational Seminar in Kinki ~ 2018.12
10. 吉村清、食道がん手術患者における腸内細菌フローラの解析と免疫学的アプローチへの応用、第 31 回日本バイオセラピー学会学術集会総会、2018.12
11. 吉村清、新たな時代を迎えるがん免疫療法 今何を知り、考えるべきか、第 59 回日本肺癌学会学術集会ランチョンセミナー、2018.12
12. 吉村清、「免疫療法が切り拓くがん治療の未来」、緩和ケアセミナーとがん患者サロン、2018.11
13. 吉村清、免疫療法が切り拓くがん治療の未来、第 13 回 がん医療研究会、2018.11
14. 吉村清、がん免疫療法 関門の克服、東北大学病院腫瘍免疫カンファレンス、2018.11
15. 吉村清、免疫療法の関門、がんの関門、Lymphoma Forum in Osaka、2018.11
16. 吉村清、免疫の関門の解除に対する新たなアプローチ、第 18 回東北がん分子標的治療研究会、2018.10
17. 吉村清、免疫療法が切り拓くがん治療の未来、第 22 回日本統合医療学会学術大会、2018.10
18. 吉村清、Expectation for new technology and Premonition of the cancer immunotherapy ニューテクノロジーへの期待、がん免疫療法への予感、第 77 回日本癌学会学術総会ランチョンセミナー、2018.09
19. 吉村清、What is the Real Checkpoint of the Immunotherapy、annual meeting of Chang Gung Immunology Consortium、2018.09
20. 吉村清、がん免疫療法が切り拓くがん治療の未来、メラノーマ病診連携セミナー、2018.07
21. 吉村清、がん免疫療法が切り開くがん治療の未来、Oncology Conference、2018.07
22. 吉村清、がん免疫療法が切り開くがん治療の未来、Current Trends in Immuno-Oncology, CTIO、2018.07
23. 吉村清、がん免疫療法が切り開くがん治療の未来、呼吸器腫瘍セミナー、2018.06
24. 吉村清、免疫療法が切り開くがん治療の未来、第 1 回読売テクノフォーラムセミナー、2018.06
25. 吉村清、がん免疫療法の問題点とその克服、第 2 回がん免疫セミナー in 玉名、2018.06
26. 吉村清、がん免疫療法が切り開くがん治療の未来、第 77 回山口臨床外科学会特別講演、2018.06
27. 吉村清、がん免疫療法が切り開く外科医の未来、第 118 回日本外科学会定期学術集会ランチョンセミナー11、2018.04
28. 吉村清、がん免疫療法が切り開くがん治療の未来、Shinjyuku Lung Cancer Summit Meeting、2018.03
29. 吉村清、免疫チェックポイント阻害剤の挑戦、がん免疫療法連携セミナー、2018.03
30. 吉村清、がん免疫療法が切り開くがん治療の未来、高知 Lung Cancer Meeting、2018.02
31. 吉村清、がん免疫療法について、がん治療勉強会 in 下関、2018.02
32. 吉村清、がん免疫療法の“関門(チェックポイント)”の克服とその未来、がん免疫療法

セミナー in Otaru、2018.02

33. 吉村清、免疫療法の基礎、Immuno-Oncology Seminar、2018.01
34. 吉村清、がん免疫治療、Meet the Expert、2017.12
35. 吉村清、がん免疫治療、第 11 回冬のがん薬物療法セミナー、2017.12
36. 吉村清、がん免疫治療、第 6 回日本免疫・細胞治療学会 学術総会、2017.12
37. 吉村清、がん免疫治療、Educational Seminar in TOKYO、2017.12
38. 吉村清、がん免疫治療、がん免疫療法「反省からの大逆転」、2017.11
39. 吉村清、がん免疫治療、第 146 回山口県医師会生涯研修セミナー、2017.11
40. 吉村清、がん免疫治療、静岡災害医学研究センター研究報告会、2017.11
41. 吉村清、がん免疫治療、大腸癌 TR 研究会、2017.11
42. 吉村清、がん免疫治療、CBI 学会創薬研究会運営委員会 特別講演「免疫医療の A to Z」、2017.11
43. 吉村清、がん免疫治療、日本統合医療学会 熊本県支部学術講演会、2017.11
44. 吉村清、がん免疫治療、IMMUNO-ONCOLOGY SEMINAR in 多摩、2017.10
45. 吉村清、がん免疫治療、新潟がん治療学術講演会 PD-1 研究会 in Niigata 胃癌承認記念講演会、2017.10
46. 吉村清、免疫チェックポイント阻害剤のこれまで、第 45 回日本臨床免疫学会総会ランチョンセミナー4、2017.09
47. 吉村清、がん免疫治療、第 21 回日本がん免疫学会総会、2017.06
48. 吉村清、がん免疫の“チェックポイント”の克服、第 27 回日本サイトメトリー学会学術集会、2017.06
49. 吉村清、Build a future & break a checkpoint of cancer immunotherapy、第 26 回日本癌病態治療研究会、2017.06
50. 吉村清、-Change! Yes, We can!-免疫療法がもたらす外科医の未来、第 117 回日本外科学会定期学術集会、2017.04
51. 吉村清、膵癌治療の最前線、第 103 回日本消化器病学会総会、2017.04
52. 吉村清、肺癌治療における免疫療法 - 次の戦略、平成 28 年度国際がん研究シンポジウム、2017.02
53. 吉村清、反省からの大逆転 免疫チェックポイント阻害剤の開発の歴史から学ぶ今後の方向性、第 14 回日本免疫治療学研究会学術集会(ランチョンセミナー)、2017.02
54. 吉村清、免疫療法の変遷と未来 マイノリティからの進化を紐解く、第 5 回日本免疫・細胞治療学会学術集会、2016.12
55. 吉村清、これだけは知っておきたい!がん免疫の A - Z、日本統合医療学会熊本県支部学術講演会、2016.11
56. 吉村清、免疫療法の変遷と未来、Lung cancer young opinion's meeting、2016.10
57. 吉村清、抗 PD-L1 抗体の今後の展望 (招待講演) 広島がん免疫療法講演会、2016.08
58. 吉村清、免疫チェックポイント阻害剤と CAR-T 療法を基軸とした免疫療法の新展開(招待講演) 霜仁会福岡支部総会 2016.08
59. 吉村清、From Biology to Therapeutics (指定演者)、第 20 回日本がん免疫学会総会 International Session、2016.07
60. 吉村清、免疫チェックポイント阻害剤の開発とその先にあるもの(招待講演) 第 46 回大腸疾患外科療法研究会、2017.06
61. 吉村清、免疫チェックポイント阻害剤と CAR-T 療法を基軸とした免疫療法の新展開(招待講演) 第 3 回臨床腫瘍セミナー、2016.06
62. 吉村清、免疫療法開幕開け~免疫チェックポイント阻害剤の開発とその未来(招待講演) 第 16 回日本抗加齢学会総会 ランチョンセミナー 6、2016.06
63. 吉村清、免疫チェックポイント阻害薬に関する最先端研究動向(招待講演) 免疫チェックポイント阻害薬の先端開発動向と適応拡大戦略、2016.05
64. 吉村清、免疫チェックポイント阻害剤によるがん治療(招待講演) 免疫チェックポイント阻害剤によるがん治療...症例検討会...、2016.05
65. 吉村清、日本の著名な研究者等による最先端研究・技術の紹介(招待講演) 平成 28 年 5 月「第 88 回 JMAC ワーキンググループ会議」、2016.05
66. 吉村清、最新の腫瘍免疫療法に関する知見(招待講演) Taiwan Joint Cancer Conference(腫瘍免疫セッション)、2016.05
67. 吉村清、「Emerging immunotherapy-免疫チェックポイント阻害剤の開発とその先にあるもの-」(指定演者) 第 37 回癌免疫外科研究会特別講演 2、2016.05
68. 吉村清、「肺癌免疫治療 Update」(指定演者) 第 56 回日本呼吸器学会学術講演会、2016.04

〔図書〕(計 17 件)

1. 吉村清:「癌免疫カンファレンスルーム(第 11 回) 免疫細胞療法」消化器外科 41 巻 9 号 (2018.08)
2. 吉村清:「免疫療法開発分野チェックポイント阻害剤の新しい標的分子(PD-1,PD-L1,CTLA4

- 以外)」New targets of immune checkpoint inhibitors 月刊「腫瘍内科」第22巻第2号  
(2018年8月発行)科学評論社
3. 吉村清:「免疫細胞療法について」 消化器外科 2018年7月号(第41巻第8号) 株式会社へるす出版
  4. 吉村清:「免疫チェックポイント阻害剤の現在と未来」臨床免疫・アレルギー科(1881-1930)69巻6号(2018.06)
  5. 吉村清:「プレシジョン・メディシンの動向」遙か 第11号 EPSホールディングス株式会社 2018年2月
  6. 吉村清:「免疫療法開発分野チェックポイント阻害剤の現状」病理と臨床 Vol.36 No.1 文光堂 2018
  7. 吉村清:「がんの不均一性の克服に向けて」実験医学 Vol.36 No.2 羊土社 増刊 2018
  8. 吉村清:「免疫チェックポイント阻害薬と腫瘍抑制」炎症と免疫 Vol.26 No.2 株式会社先端医学社 2018年3月
  9. 吉村清:「免疫チェックポイント阻害剤の基礎」月刊「呼吸器内科」第32巻第6号 科学評論社 2017年12月
  10. 朝尾 哲彦、吉村清:「バイオマーカーとしてのPD-L1」癌免疫療法 What 's now and what 's next? 遺伝子医学MOOK 31巻 メディカル・ドゥ 2017年7月31日 164 -171
  11. 吉村清:「免疫アゴニスティック抗体の開発状況、次世代がん治療-発症・転移メカニズムからがん免疫療法・ウイルス療法、診断法まで-」株式会社エヌ・ティー・エス 2017年6月 111-118
  12. 和田 聡、吉村清:「免疫療法の歴史と今後の展望と課題」先端治療技術の実用化と開発戦略 No.1888 技術情報協会 2017年4月 95-100
  13. 朝尾 哲彦、吉村清:「免疫チェックポイント分子を標的とする分子治療薬とコンパニオン診断」病理と臨床 35巻3号 文光社 2017年2月25日 279 -285
  14. 布施 雅規、吉村清:「次世代免疫チェックポイント阻害剤の開発状況」日本臨牀 75巻2号 日本臨牀社 2017年2月 245-250
  15. 吉村清:「がん免疫療法における共刺激因子刺激抗体の役割」実験医学 Vol.34 - No.12 羊土社 2016年8月 141 - 147
  16. 吉村清:「免疫チェックポイント阻害剤」がん治療新時代 Vol.09 株式会社メディネット 2016 20 - 22
  17. 朝尾 哲彦、吉村清:「Immune checkpoint 阻害薬のバイオマーカー」Mebio ; Vol.33 (6) 株式会社メジカルビュー社 2016 June 107 24-30

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称:消化器系がん幹細胞を培養するための無血清培地、及びそれを用いた消化器系がん幹細胞の増殖方法

発明者:吉村清、恒富亮一、渡邊裕策、岡正朗

権利者:吉村清、恒富亮一、渡邊裕策、岡正朗

種類:特許

番号:特願 2012-47433

出願年:2012年

国内外の別:国内

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名:玉田 耕治

ローマ字氏名:Tamada Koji

所属研究機関名:山口大学

部局名:大学院医学系研究科

職名:教授

研究者番号(8桁):00615841

研究分担者氏名:倉増 敦朗

ローマ字氏名:Kuramasu Atsuo

所属研究機関名:山口大学

部局名:大学院医学系研究科

職名:准教授

研究者番号(8桁): 90302091

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。