

平成 30 年 6 月 25 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15829

研究課題名(和文)新規癌抗原CDCA5を標的とした免疫治療医薬品の開発

研究課題名(英文)Development of the immunotherapy targeting the cancer antigen CDCA5

研究代表者

岡本 正人 (OKAMOTO, MASATO)

大阪大学・薬学研究科・寄附講座教授

研究者番号：10243718

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：免疫療法が期待されているが満足できる成果はない。我々は口腔癌細胞に特異的に発現するCDCA5抗原を発見した。CDCA5タンパクに含まれるHLA class I及びclass II拘束性ペプチドは、各々CDCA5特異的細胞傷害性T細胞(CTL)及びヘルパーT細胞I型(Th1)を誘導した。これらの細胞はヒト口腔扁平上皮癌細胞株移植xenograftマウスにて抗腫瘍効果を発現した。GMPグレードのCDCA5ペプチドを作製し安全性を評価するため第I相臨床試験を開始する。上記CTLおよびTh1細胞からT細胞受容体(TCR)遺伝子のクローニングにも成功しCDCA5特異的TCR遺伝子導入リンパ球を作製した。

研究成果の概要(英文)：The prognosis of the patients with advanced oral cancer is very poor. Although immunotherapy of cancer is expected in recent years, its effect is still limited. We have found CDCA5 antigen which express specifically in oral cancer cells. We have clarified that the HLA class I-restricted, and HLA class II-restricted epitopes included in CDCA5 protein strongly induced CDCA5-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) and type I helper T cells (Th1), respectively, and that these cells elicited anti-tumor effect in the xenograft mouse model bearing the oral squamous cell carcinoma cell lines. Based on these results, we made the CDCA5 peptide in GMP grade, and are going to start the phase I clinical study to evaluate the safety and anti-cancer effects of these CDCA5 peptides. At the same time, we also succeeded in a cloning of a T-cell receptor (TCR) genes from the above CTL and Th1 cells, and made CDCA5 specific TCR-engineered T lymphocytes.

研究分野：口腔外科学

キーワード：癌免疫療法 口腔癌 CDCA5 癌ワクチン

### 1. 研究開始当初の背景

進行期口腔癌の予後は極めて不良である。近年、免疫療法が注目されており、特にチェックポイント阻害剤抗 PD-1 抗体は期待されているが、その奏効率は 24.8% にすぎなかった(2015 meeting of the ASCO)。チェックポイント阻害剤だけでは充分ではなく、癌抗原特異的に抗腫瘍免疫反応を賦活する治療法の併用がより効果的である事が示唆されている。効果的な癌特異的免疫療法を確立するためには治療標的として適切な抗原を選択する事が最も重要である。我々は、口腔癌に特異的に発現し、口腔癌の進展に重要な役割を演じている CDCA5 抗原を発見した。

### 2. 研究の目的

CDCA5 が治療標的となりうる新規癌抗原である事を証明し、CDCA5 をターゲティングした癌ワクチンならびに T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子導入リンパ球治療を薬事承認・医薬品化させるため GMP/GCP 基準に従って治験準備を整えることである。

### 3. 研究の方法

(1) 本研究において臨床検体での CDCA5 の発現と臨床的意義に関する解析は症例数を増やして継続する。

(2) CDCA5 タンパクのアミノ酸配列より HLA 分子に親和性の高い配列を有するペプチドを作製し同抗原に特異的な細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) あるいは type I ヘルパー T リンパ球 (Th1) の誘導能ならびに抗腫瘍効果を検討する。

(3) CDCA5 ペプチドを用いた癌ワクチンを GMP/GCP 基準に従って調整し、第 I 相臨床試験を開始する。

(4) 上記 in vitro での確認実験の際に誘導された CTL/Th1 より TCR 遺伝子を単離し、レトロウイルスベクターに組み込み、TCR 遺伝子導入リンパ球輸注療法のために調整する。

### 4. 研究成果

(1) CDCA5 は、口腔扁平上皮癌において強発現し、正常口腔粘膜上皮にはほとんど発現を認められない事を免疫染色法に確認した。

(2) CDCA5 強発現症例は弱発現症例に比較して予後不良である事が明らかになった。CDCA5 発現が予後予測/治療効果予測可能なバイオマーカーになりうる事が明らかになった。さらに CDCA5 は癌遺伝子として癌細胞の増殖等に重要な働きをしていることから、治療標的になりうる可能性も強く示唆された。

(3) CDCA5 遺伝子発現も解析し上記タンパク

発現解析結果と同様の結果を得た。

(4) CDCA5 タンパクのアミノ酸配列より、HLA-A\*2402 ならびに HLA-A\*0201 拘束性の配列を有する 8-10mer のペプチドならびに HLA Class II 分子に結合する配列を有する 15-20mer のペプチドを数パターン作成し、これらのペプチドを樹状細胞にパルスし、CD8 陽性および CD4 陽性 T 細胞と混合培養し、CTL ならびに Th1 活性を測定する事により、CTL および Th1 を強く誘導する配列が in vitro 実験にて明らかになった。

(5) 上記の in vitro 実験系にて誘導された HLA-A\*2402 ならびに HLA-A\*0201 拘束性 CDCA5 特異的 CTL および HLA Class II 拘束性 Th1 細胞が、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株を移植した xenograft マウスモデルにて抗腫瘍効果を発現する事を確認した。

(6) これらの結果を受け、GMP/GCP 基準に則って、医療安全管理、衛生管理、情報管理、製造管理、品質管理等に関する様々な基準書ならびに手順書等を作製し、進行・再発口腔扁平上皮癌患者を対象とした第 I 相臨床試験を開始する。

(7) 上記 CTL および Th1 細胞から T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子のクローニングにも成功し、CDCA5 特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球を作製した。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 23 件)

- Hirabayashi K, Yanagisawa R, Saito S, Higuchi Y, Koya T, Sano K, Koido S, Okamoto M, Sugiyama H, Nakazawa Y, Shimodaira S. Feasibility and immune response of WT1 peptide vaccine in combination with OK-432 for paediatric solid tumours. *Anticancer Res*, 38: 2227-2234, 2018. 査読有  
doi:10.21873/anticancer.12465
- Yanagisawa R, Koizumi T, Koya T, Sano K, Koido S, Nagai K, Kobayashi M, Okamoto M, Sugiyama H, Shimodaira S. WT1-pulsed dendritic cell vaccine combined with chemotherapy for

- resected pancreatic cancer in a phase I study. *Anticancer Res*, 38: 2217-2225, 2018. 査読有  
doi:10.21873/anticancerres.12464
3. Matsuda T, Takeuchi H, Sakurai T, Mayanagi S, Booka E, Fujita T, Higuchi H, Taguchi J, Hamamoto Y, Takaishi H, Kawakubo H, Okamoto M, Sunamura M, Kawakami Y, Kitagawa Y. Pilot study of WT1 peptide-pulsed dendritic cell vaccination with docetaxel in esophageal cancer, *Oncol Lett*, in press, 2018. 査読有
  4. Kanai T, Ito Z, Oji Y, Suka M, Nishida S, Takakura K, Kajihara M, Fujioka S, Misawa T, Akiba T, Yanagisawa H, Saruta M, Okamoto M, Sugiyama H, Koido S. Prognostic significance of Wilms' tumor 1 expression in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncol Lett*, in press, 2018. 査読有
  5. Fukuda K, Funakoshi T, Sakurai T, Nakamura Y, Mori M, Tanese A, Tanikawa A, Taguchi J, Fujita T, Okamoto M, Amagai M, Kawakami Y. Peptide-pulsed dendritic cell vaccine in combination with carboplatin and paclitaxel chemotherapy for stage IV melanoma. *Melanoma Res*, 27(4): 326-334, 2017. 査読有 doi: 10.1097/CMR.0000000000000342
  6. Goda H, Okamoto M, Nakashiro K, Hino S, Murase R, Hamakawa H. Prognostic impact of preoperative serum interleukin-6 levels in early stage oral squamous cell carcinoma patients strictly defined by sentinel node biopsy. *Oncol Lett*, 14 (6): 7965-7969, 2017. 査読有 doi: 10.3892/ol.2017.7183.
  7. Koido S, Okamoto M, Kobayashi M, Shimodaira S, Sugiyama H. Significance of Wilms' Tumor 1 antigen as a cancer vaccine for pancreatic cancer. *Discovery Med*, 24 (130): 41-49, 2017. 査読有
  8. Sakaue T, Sakakibara I, Uesugi T, Fujisaki A, Nakashiro KI, Hamakawa H, Kubota E, Joh T, Imai Y, Izutani H, Higashiyama S. The CUL3-SPOP-DAXX axis is a novel regulator of VEGFR2 expression in vascular endothelial cells. *Sci Rep*, 7:46915, 2017. 査読有 doi: 10.1038/srep46915.
  9. Sento S, Kitamura N, Yamamoto T, Nakashiro K, Hamakawa H, Ibaragi S, Sasaki A, Takamaru N, Miyamoto Y, Kodani I, Ryoke K, Mishima K, Ueyama Y; ORAL CANCER STUDY GROUP OF CHUGOKU-SHIKOKU. Palonosetron Prevents Highly Emetogenic Chemotherapy-induced Nausea and Vomiting in Oral Cancer Patients. *Anticancer Res*. 37:6977-6981, 2017. 査読有
  10. Sakaue T, Sakakibara I, Uesugi T, Fujisaki A, Nakashiro KI, Hamakawa H, Kubota E, Joh T, Imai YK, Izutani H, Higashiyama S. The CUL3-SPOP-DAXX axis is a novel regulator of VEGFR2 expression in vascular endothelial cells. *Sci Re*, 7:42845, 2017. 査読有 doi: 10.1038/srep42845.
  11. Takahashi H, Shimodaira S, Ogasawara M, Ota S, Kobayashi M, Abe H, Morita Y, Nagai K, Tsujitani S, Okamoto M, Suzuki Y, Nakanishi Y, Yonemitsu Y; DC Vaccine Study Group at the Japanese Society of Immunotherapy and Cell Therapy. Lung adenocarcinoma may be a more susceptible subtype to a dendritic cell-based cancer vaccine than other subtypes of non-small cell lung cancers:

- a multicenter retrospective analysis.  
Cancer Immunol Immunother.  
65(9):1099-111, 2016. 査読有 doi:  
10.1007/s00262-016-1872-z.
12. Takakura K, Ito Z, Suka M, Kanai T, Matsumoto Y, Odahara S, Matsudaira H, Haruki K, Fujiwara Y, Saito R, Gocho T, Nakashiro K, Hamakawa H, Okamoto M, Kajihara M, Misawa T, Ohkusa T, Koido S. Comprehensive assessment of the prognosis of pancreatic cancer: Peripheral blood neutrophil-lymphocyte ratio and immunohistochemical analyses of the tumor site. Scand J Gastroenterol, 51(5): 610-617, 2016. 査読有 doi: 10.3109/00365521.2015.1121515.
  13. Koido S, Okamoto M, Shimodaira S, Sugiyama H. Wilms' tumor 1 (WT1)-targeted cancer vaccines to extend survival for patients with pancreatic cancer. Immunotherapy, 8 (11): 1309-1320, 2016. 査読有
  14. Kajihara M, Takakura K, Kanai T, Ito Z, Matsumoto Y, Shimodaira S, Okamoto M, Ohkusa T, Koido S. Advances in inducing adaptive immunity using cell-based cancer vaccines: Clinical applications in pancreatic cancer. World J Gastroenterol 22(18): 4446-4458, 2016. 査読有 doi: 10.3748/wjg.v22.i18.4446.
  15. Kajihara M, Takakura K, Kanai T, Ito Z, Saito K, Takami S, Shimodaira S, Okamoto M, Ohkusa T, Koido S. Dendritic cell-based cancer immunotherapy for colorectal cancer. World J Gastroenterol 22(17): 427542-86, 2016. 査読有 doi: 10.3748/wjg.v22.i17.4275.
  16. 岡本正人：癌ワクチンとチェックポイント阻害剤の併用に関する検討。Pharm Stage, 15 (10), 54-59, 2016. 査読無（依頼原稿）
  17. Fukuda S, Nishida-Fukuda H, Nanba D, Nakashiro K, Nakayama H, Kubota H, Higashiyama S. Reversible interconversion and maintenance of mammary epithelial cell characteristics by the ligand-regulated EGFR system. Sci Rep, 6:20209, 2016. 査読有 doi: 10.1038/srep20209.
  18. Murase R, Ishikawa A, Sumida T, Shinohara K, Nakashiro K, Hamakawa H. Objective validity of an implant-retained overdenture with a ball attachment system after marginal mandibulectomy. Br J Oral Maxillofac Surg, 54:e21-5, 2016. 査読有 doi: 10.1016/j.bjoms.2015.11.017.
  19. Oka R, Nakashiro K, Goda H, Iwamoto K, Tokuzen N, Hamakawa H. Annexin A8 is a novel molecular marker for detecting lymph node metastasis in oral squamous cell carcinoma. Oncotarget, 7: 4882-4889, 2016. 査読有 doi: 10.18632/oncotarget.6639.
  20. Tokuzen N, Nakashiro K, Tanaka H, Iwamoto K, Hamakawa H. Therapeutic potential of targeting cell division cycle associated 5 for oral squamous cell carcinoma. Oncotarget, 7: 2343-2353, 2016. 査読有 doi: 10.18632/oncotarget.6148.
- 〔学会発表〕(計 29 件)
- 1 . 第 30 回日本バイオセラピー学会学術集会総会、2017 年 11 月 30 日、12 月 1 日、ホテルグランヴェール岐山  
パネルディスカッション 3 「がん免疫療法におけるバイオマーカーの開発 ( 2 )」  
岡本正人：膀胱癌における WT1 タンパク発現と予後
  - 2 . JDDW2017 第 25 回日本消化器関連学会週間、2017 年 10 月 12 , 13 , 14 , 15 日、福岡国際センター、福岡サンパレス、福岡国際会議場、マリンメッセ福岡

一般演題 臓器8：膵臓

金井友哉：膵臓癌患者におけるウィルムス腫瘍遺伝子(WT1)発現の臨床的意義

3. 第26回日本癌病態治療研究会、2017年6月1日、2日、横浜マリントワーホールシンポジウム3「癌治療におけるバイオマーカーの開発」

○岡本正人、合田啓之、中城公一、浜川裕之：口腔扁平上皮癌のバイオマーカーIL-6～治療標的としての可能性を探る～

4. 第38回癌免疫外科研究会、2017年5月25、26日、倉敷アイビースクエア、岡山シンポジウム1「癌局所と炎症(主題II)」

岡本正人：口腔扁平上皮癌微小環境における免疫パラメーターと予後～治療標的になりうるか?～

5. 第71回NPO法人日本口腔科学会学術集会、2017年4月27日、ひめぎんホール、愛媛ワークショップ4「がん免疫療法最前線」

【講演1】

岡本正人：樹状細胞がんワクチン～Bench to Bedside～

6. 【市民公開講座】がん医療の最前線、2017年4月9日、京都大学百周年時計台記念館第「免疫療法と統合医療」

岡本正人：新WT1を用いた樹状細胞ワクチンについて

7. 第29回日本バイオセラピー学会学術集会総会、2016年12月1、2日、久留米シティプラザ、福岡

シンポジウム1「がん微小環境の解明と免疫治療」

岡本正人：がん微小環境におけるIL-8関連免疫抑制細胞の役割～膵癌と口腔癌～

8. 第37回癌免疫外科研究会、2016年5月12、13日、川越プリンスホテル、埼玉シンポジウム「主題」免疫抑制機構

岡本正人：化学療法による免疫抑制解除～Th1誘導とチェックポイント阻害～

〔図書〕(計2件)

1. 岡本正人、小井戸薫雄、下平滋隆、杉山治夫. 癌に対するWT1ペプチドパルス樹状細胞ワクチンの開発.(株)技術情報協会編、ペプチド医薬品のスクリーニング・安定化・製剤化技術、第11章第6節、p465-474、2017.

2. Okamoto M. Dendritic cell-based vaccine for cancer. In Yamaguchi Y ed., Immunotherapy of Cancer: An Innovative Treatment Comes of Age. Part IV Vaccine Therapy, Dendritic Cell-Based Vaccine for Cancer, Springer Japan KK, Tokyo, Japan, 2016.

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況(計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等

6. 研究組織  
(1)研究代表者  
岡本 正人(OKAMOTO, Masato)  
大阪大学・大学院薬学研究科・寄附講座教授  
研究者番号：10243718

(2)研究分担者  
なし