

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：26301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02839

研究課題名(和文)新規抗体改変技術を用いたがん特異的一本鎖抗体の作製とがん免疫療法への応用

研究課題名(英文)Development and clinical application of cancer-specific single-chain antibody using new technology of antibody modification

研究代表者

安川 正貴 (YASUKAWA, MASAKI)

愛媛県立医療技術大学・保健科学部・教授

研究者番号：60127917

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、一本鎖抗体(scFv)作製技術を基軸に、がん抗原を特異的に認識する既知の抗体の可変領域を利用して、ヒト免疫グロブリン可変領域ライブラリーと組み合わせる。そして、scFvライブラリーをキメラ抗原受容体(CAR)遺伝子に組み込んで、CARライブラリーT細胞を作製した。さらに、CAR-T細胞の刺激・増殖・生存・細胞傷害活性などを総合的に評価しながら新たなscFvを同定する新規技術を確立した。本技術を用いることで、がん抗原を認識する様々な新規scFvを搭載した高機能性CAR-T細胞を作製することが可能となり、難治性がんに対する次世代CAR-T細胞療法開発が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

今回我々が確立した新規一本鎖抗体(scFv)作製技術を用いれば、CAR-T細胞が発現するscFvの標的認識様式を繊細に調律しながら、CAR-T細胞の機能と抗腫瘍効果を最大限に誘導できるscFvを迅速かつ安定して作製することが可能となる。本研究は、これまでと異なる視点から、CAR-T細胞が標的抗原を認識するために重要な働きを担うscFvに着目した。本技術は、これまでに開発されてきた様々な改良型CAR-T細胞の機能をさらに高めることにも応用が可能であることから、難治性がんを標的とした次世代CAR-T細胞療法開発領域におけるインパクトは特に大きく、社会的意義も高いと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, we have generated a single-chain antibody generation system in which CAR-library T cells have been screened based on their antitumor functions. A variable region library obtained from the human immunoglobulin was fused with that of an existing antitumor antibody to generate an scFv library. CAR-library T cells which express the scFv library were stimulated with tumor cells to enrich antigen-specific population. As the results, target-specific recognition of newly generated scFv-expressing CAR-T cells could be finely tuned by changing a new variable region. Moreover, scFv-optimized CAR-T cells showed sufficient antitumor cytotoxicity and better proliferation capacity with long-lived T-cell phenotype, resulting in enhanced antitumor effects in humanized mouse in vivo system. Collectively, this system can be applied to generate a new scFv optimal for each CAR-T cell targeting a variety of surface tumor antigens, resulting in further advancement of CAR-T-cell therapy.

研究分野：内科学、血液学、免疫学、腫瘍学

キーワード：がん免疫療法 CAR-T細胞 一本鎖抗体

1. 研究開始当初の背景

近年、免疫チェックポイント阻害剤や遺伝子改変 T 細胞など、がんに対する T 細胞免疫療法が目覚ましい発展を遂げている。がん特異的抗原に由来するペプチド断片は、HLA 分子と結合してがん細胞表面に出される。これまでに、これらの複合体を特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR: T-cell receptor) 遺伝子導入療法が我々の研究グループをはじめ国内外で進められてきた (*Science* 2006, *J Clin Oncol* 2011, *Nat Med* 2015, *Blood* 2017)。これらの臨床試験によって、TCR の標的 HLA/ペプチド複合体に対する結合力 (標的親和性) を十分に高めることが、高い治療効果に繋がることが示されている。しかしながら、TCR の標的抗原親和性を人為的に向上させた際、がん特異性が低下し、正常細胞も交差認識する off-target effect の危険性が示唆されている (*Sci Transl Med* 2013)。また、TCR の HLA 拘束性から治療適応患者が HLA 型によって限定される点も問題である。

TCR に関わる課題を解決する手段の一つとして、抗体の重鎖と軽鎖可変領域配列をもとに一本鎖抗体 (scFv: single chain fragment variable) を作製し、抗体特異性を T 細胞活性化に結びつけるキメラ抗原受容体 (CAR: chimeric antigen receptor) に応用することが試みられている。これらの治療法の一部はすでに承認を受け、一般臨床の場でも用いられる段階に至っている。scFv は TCR と標的分子を認識する様式が全く異なり、数千倍標的親和性が高いとされている。従って、抗体の可変領域を備えた scFv を利用すれば、安全性を担保しつつ T 細胞をがん特異的に活性化し、がん細胞を効率的に排除できる可能性がある。

このような背景のもと、がん抗原特異的 scFv を網羅的かつ効率よくスクリーニングして、遺伝子改変型抗体の作製に繋げる新たな技術開発が求められており、企業も含めた競争が激化しているが、我が国における開発は遅れを取っていると看做されるを得ない。特に、CAR-T 細胞全体の機能を高めて、高いがん治療効果の誘導に繋がるような scFv を網羅的に作製して選別する技術は、これまでにほとんど開発されてはいない。

2. 研究の目的

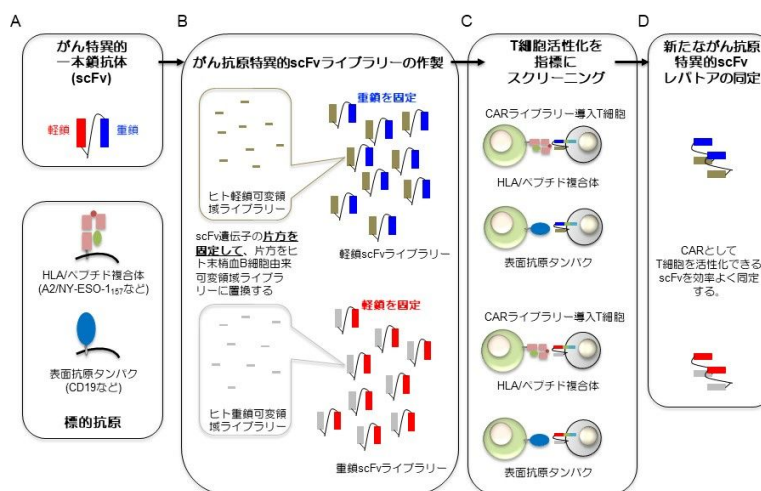
本研究では、がん抗原を特異的に認識する既知の抗体の可変領域配列を利用して、ヒト免疫グロブリン可変領域ライブラリーと組み合わせる (図 1A, B)。具体的には、軽鎖もしくは重鎖可変領域のいずれかを固定することで、 10^6 程度のヒト免疫グロブリン可変領域ライブラリーから抗原特異的 scFv をスクリーニングする。このように作製した scFv ライブラリーを、CAR 遺伝子の基本構造に組み込んで CAR ライブラリーとし、T 細胞に遺伝子導入することで CAR ライブラリー-T 細胞を作製する。そして、CAR-T 細胞の反応性をリードアウトとした独自の完全ヒト型 scFv スクリーニング法の確立を目指す (図 1C, D)。このように、新たな着眼点からがん抗原を認識するさまざまな新規 scFv を作製し、高機能性 CAR-T 細胞の作製に繋げる。そして、造血器腫瘍や固形癌に対する新たな CAR-T 細胞療法の確立を目指すことを目的に研究を遂行した。

3. 研究の方法

(1) scFv ライブラリーソースの作製

ヒト末梢血単核球 (PBMCs) を単離し、CD19 マイクロビーズを用いて $2.0\text{-}3.0 \times 10^6$ 個のヒト末梢血 B 細胞を回収する。RNA を抽出、5' RACE 法により cDNA を作製して、免疫グロブリン遺伝子 J 領域に特異的なプライマーを用いて、ヒト免疫グロブリン軽鎖、および重鎖可変領域遺伝子を増幅する。PCR 産物の 3' 末にリンカー配列の一部を組み込み、既知の抗原特異的軽鎖もしくは重鎖と結合できるように工夫する。こうして作製したヒト免疫グロブリン可変領域ライブラリーを、scFv ライブラリーソースとして使用する。

図1. CAR-T細胞を用いたscFvスクリーニング法



Commun Biol 2021;4:273より改変して引用

(2) CAR ライブラリー-T 細胞の作製と抗原刺激

HLA-A*02:01/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ ペプチド複合体 (A2/NY-ESO-1₁₅₇) を認識する抗体 (clone 3M4E5)、CD19 を認識する抗体 (clone 35-G01) の重鎖可変領域、軽鎖可変領域を、それぞれ対応する scFv ライブラリーソースと連結した。作製した標的特異的 scFv ライブラリーを第二世代 CAR (CD28z) に組み込んで、CAR ライブラリー遺伝子を作製した。ヒト PBMCs を 100 U/mL IL-2、50 ng/mL ヒト CD3 抗体 (OKT3) 存在下において培養してヒト T 細胞を刺激増幅し、CAR ライブラリー遺伝子を導入して CAR ライブラリー T 細胞を作製した。

次に、CAR ライブラリー T 細胞を、標的抗原を発現する腫瘍細胞を用いて刺激した。週 1 回、計 3 回刺激後に、CAR ライブラリー T 細胞を A2/NY-ESO-1₁₅₇ テトラマー、可溶性 CD19 ダイマーで染色して、標的特異的な集団をフローサイトメトリー法で単離した。

(3) 新規 scFv を保有する CAR-T 細胞の in vitro/in vivo 機能解析

CAR ライブラリー T 細胞から単離した標的特異的 CAR-T 細胞より cDNA を作製して、新たな scFv を同定した。新規 scFv-CAR をそれぞれ TCR/CD3 欠損細胞株である Jurkat 76 細胞株に遺伝子導入して、標的特異性を確認した。また、代表的なクローンについてはヒト末梢血 T 細胞に遺伝子導入して、従来型 CAR-T 細胞と新規 CAR-T 細胞とを作製した。各 CAR-T 細胞におけるサイトカイン産生 (細胞内サイトカイン染色法)、細胞傷害活性 (⁵¹Cr 放出試験)、増殖性試験 (CFSE: carboxyfluorescein succinimidyl ester 法) を評価するとともに、CD19 陽性 Raji 細胞株を NOD/Shi-scid IL2rgamma(null) (NOG) マウスに移植した CD19 標的モデルを用いて、in vivo 抗腫瘍効果の比較検討も行った。

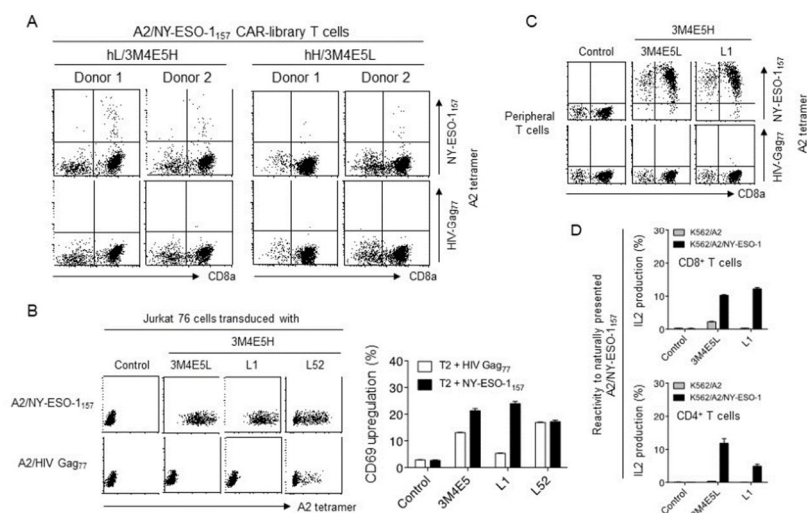
4. 研究成果

(1) A2/NY-ESO-1₁₅₇ CAR ライブラリー T 細胞の作製と新規 CAR-T 細胞の機能解析

A2/NY-ESO-1₁₅₇ 特異的抗体の可変領域 (3M4E5H/3M4E5L) を利用して、ヒト免疫グロブリン軽鎖ライブラリー (hL) または重鎖ライブラリー (hH) と連結し、scFv ライブラリー (hL/3M4E5H、hH/3M4E5L) を作製した。この scFv ライブラリーを第二世代 CAR 遺伝子に組み込んで、ヒト末梢血 T 細胞に遺伝子導入して CAR ライブラリー T 細胞を作製した。そして、CAR ライブラリー T 細胞を抗原特異的に刺激することで、A2/NY-ESO-1₁₅₇ 特異的な CAR-T 細胞集団を増幅させることに成功した (図 2A)。

次に、CAR ライブラリー T 細胞から、A2/NY-ESO-1₁₅₇ テトラマー陽性集団を単離して、新規 scFv の同定を行った。そして、新たに同定した scFv を搭載した CAR-T 細胞を用いて in vitro 機能解析を行った。その結果、同じ 3M4E5H を保持するにも関わらず、scFv 内でペアとなる軽鎖を変えることによって、標的である HLA/ペプチド複合体の認識様式と CAR-T 細胞の反応性が繊細に変化することが示された (図 2B)。

図2. A2/NY-ESO-1₁₅₇ CARライブラリーT細胞の作製と新規scFvの同定



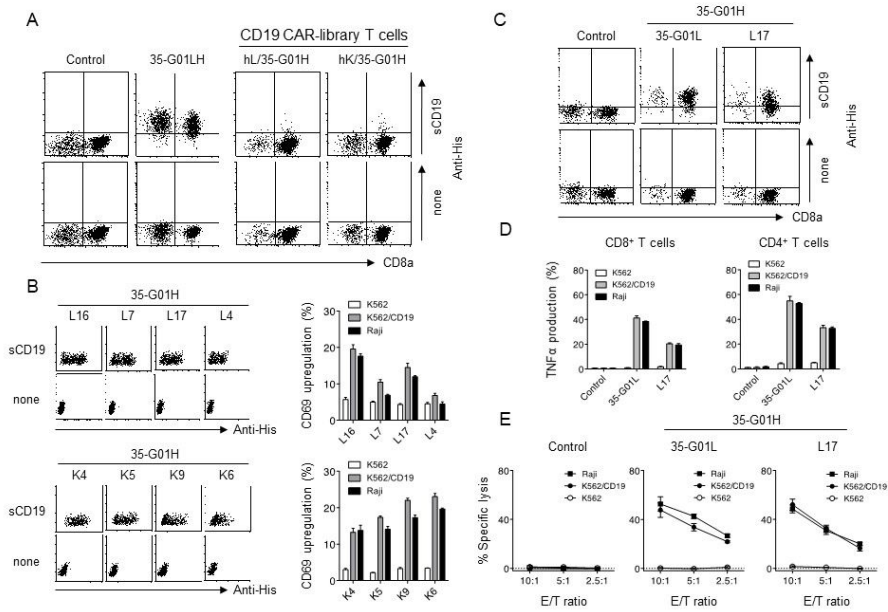
そこで、新規 scFv の 1 つである L1/3M4E5H を用いてヒト末梢血 T 細胞より CAR-T 細胞を作製し、従来型の 3M4E5LH CAR-T 細胞との比較解析を行った。新たに同定した L1 CAR-T 細胞では、A2/NY-ESO-1₁₅₇ 複合体への反応性を保持しつつ、従来型 CAR-T 細胞と比較して非特異的な反応が低下していることが明らかとなった (図 3C, D)。

異なる 2 人のドナーに由来するヒト免疫グロブリン軽鎖/重鎖可変領域ライブラリーを用いて、A2/NY-ESO-1₁₅₇ CAR ライブラリー T 細胞を作製した。CAR ライブラリー T 細胞を、それぞれ A2/NY-ESO-1₁₅₇ テトラマー、および A2/HIV-Gag₇₇ テトラマー (20 ug/mL) で染色した (A)。Jurkat 76 細胞株に、新規に同定した scFv を持つ CAR 遺伝子 (L1/3M4E5H、L52/3M4E5H)、従来型の CAR 遺伝子 (3M4E5L/3M4E5H) を導入した。Jurkat 76/CAR-T 細胞を各テトラマー (5 ug/mL) で染色した。また HLA-A*02:01 陽性 T2 細胞株に各ペプチド (10 ug/mL) を添加した標的細胞と共培養の後に、Jurkat 76/CAR-T 細胞における CD69 発現をフローサイトメトリー法で検討した (B)。L1/3M4E5H CAR、ならびに 3M4E5LH CAR 遺伝子をヒト末梢血 T 細胞に導入した CAR-T 細胞を樹立した。各 CAR-T 細胞を各テトラマー (20 ug/mL) で染色した (C)。K562/A2 (HLA-A2+NY-ESO-1-)、K562/A2/NY-ESO-1 (HLA-A2+NY-ESO-1+) 細胞株とヒト末梢血 T 細胞より作製した各 CAR-T 細胞を共培養し、IL2 産生を検討した (D)。(Commun Biol 2021;4:273 より引用)

(2) CD19 CAR ライブラリー-T 細胞の作製と新規 CAR-T 細胞の機能解析

そこで次に、CD19 特異的抗体の重鎖可変領域 (35-G01H) を利用して、軽鎖ライブラリー (hL, hK) と連結し、scFv ライブラリー (hL/35-G01H、hK/35-G01H) を作製した。同様に第二世代 CAR 遺伝子に組み込んで、CAR ライブラリー-T 細胞を作製した。抗原特異的に刺激することによって、CD19 特異的な CAR-T 細胞集団を増幅させることに成功した (図 3A)。

図3. CD19 CARライブラリー-T細胞の作製と新規scFvの同定



上記と同様に、CAR ライブラリー-T 細胞から、可溶性 CD19 ダイマー陽性集団を単離して、新規 scFv の同定を行った。新たに同定した scFv を保持した CAR-T 細胞を作製したところ、異なる標的反応性を保有することが明らかとなった (図 3B)。

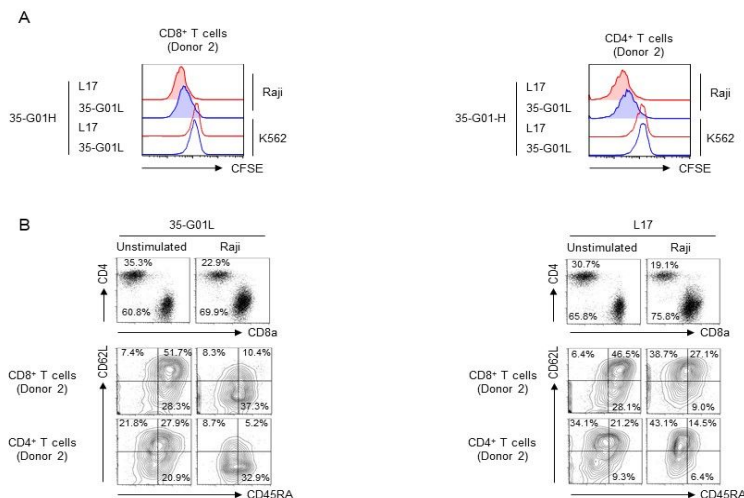
そこで、新規 scFv の 1 つである L17/35-G01H (L17) を用いてヒト末梢血 T 細胞より CAR-T 細胞を作製した。従来型の 35-G01LH (35-G01L) CAR-T 細胞と比較したところ、L17 CAR-T 細胞ではサイトカイン産生能はやや低下する一方、L17、35-G01L CAR-T 細胞ともに同等の細胞傷害活性を誘導することが明らかとなった (図 3C-E)。

CD19 CAR ライブラリー-T 細胞を作製した。CD19 細胞外ドメインを 6xhis 標識した可溶性タンパクを作製し、PE 標識抗 his 抗体と混合して可溶性 CD19 ダイマーを作製した。CAR ライブラリー-T 細胞と従来型 CD19 CAR-T 細胞とを可溶性 CD19 ダイマーもしくは抗 his 抗体のみで染色した (A)。Jurkat 76 細胞株に新たに同定した scFv を持つ CAR 遺伝子 (L16, L7, L17, L4, K4, K5, K9, K6/35-G01H) を導入した。Jurkat 76/CAR-T 細胞を可溶性 CD19 ダイマーで染色し、また各細胞株 K562 (CD19-), K562/CD19 (CD19+), Raji (CD19+) と共培養後の Jurkat 76/CAR-T 細胞の CD69 発現を検討した (B)。L17/35-G01H CAR、ならびに 35-G01LH CAR 遺伝子をヒト末梢血 T 細胞に導入した CAR-T 細胞を作製した。これらの CAR-T 細胞を可溶性 CD19 ダイマーで染色した (C)。また、各細胞株と共培養を行って、CAR-T 細胞の CD69 発現 (D) と、細胞傷害活性 (E) とをそれぞれ検討した。(Commun Biol 2021;4:273 より引用)

(3) 新規 CD19 CAR-T 細胞の増殖・形質と *in vivo* 抗腫瘍効果の検討

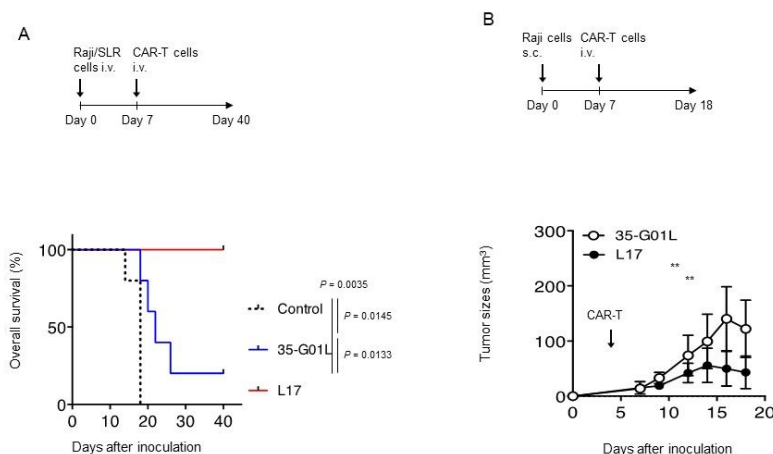
続いて、L17、35-G01L CAR-T 細胞の増殖性と T 細胞形質とを比較検討した。CFSE で染色した CAR-T 細胞を CD19 陽性腫瘍細胞と共培養すると、新型 CAR-T 細胞 (L17 CAR-T 細胞) の方が、若く長期生存に関わる T 細胞形質 (naïve: CD45RA+CD62L+、Central memory: CD45RA-CD62L+) を維持しつつ、よく分裂できることが明らかとなった (図 4)。CFSE で染

図4. 新型CD19 CAR-T細胞の増殖性とその形質



色した各 CAR-T 細胞を、K562 (CD19-)、Raji (CD19+) 細胞株と共培養した。L17 CAR-T 細胞と 35-G01L CAR-T 細胞の分裂割合を比較検討した (A)。同時に、CD8、CD4 陽性細胞における、共培養前後の CD45RA と CD62L 陽性細胞の割合を比較検討した。各群における CD8、CD4 陽性 T 細胞の割合と、Naïve T 細胞 (CD45RA+CD62L+)、Central memory T 細胞 (CD45RA-CD62L+)、疲弊した T 細胞 (CD45RA+CD62L-) の割合を図内に示した (B)。(Commun Biol 2021;4:273 より引用)

図5. 新型CD19 CAR-T細胞の*in vivo*抗腫瘍効果



また、2つの CAR-T 細胞を用いて *in vivo* 抗腫瘍効果の検討も行った。まず、CD19 陽性腫瘍細胞株を NOG マウスに経静脈的に移植して、腫瘍が進展した Day 7 の時点で各 CAR-T 細胞を用いて治療を行った。その結果、従来型である 35-G01L CAR-T 細胞よりも、L17 CAR-T 細胞の方が有意にマウス全生存率を延長した (図 5A)。さらに、同細胞株を NOG マウス皮下に移植した腫瘍形成モデルも作製した。同様に Day 7 の時点で各 CAR-T 細胞を用いて治療を行うと、L17 CAR-T 細胞の方が、高い腫瘍縮小効果を示すことが明らかとなった (図 5B)。

NOG マウスに 5.0×10^5 個の Raji 細胞株を経静脈的に投与した (Day 0)。Day 7 に L17 CAR-T 細胞と 35-G01L CAR-T 細胞を経静脈的に投与して、全生存率を比較検討した (A)。 1.0×10^6 個の Raji 細胞株を NOG マウス皮下に移植した (Day 0)。Day 7 に各 CAR-T 細胞を経静脈的に投与して、腫瘍径を比較検討した。** $p < 0.01$ 。(Commun Biol 2021;4:273 より引用)

このように本研究では、ヒト免疫グロブリン可変領域ライブラリーを利用して、CAR-T 細胞をベースとした新たな scFv 作製技術を開発した。本技術では、scFv スクリーニングの段階で、CAR-T 細胞の増殖・生存・細胞傷害活性など高い *in vivo* 抗腫瘍効果に繋がるために重要な複数の指標をスクリーニング内に組み込んでいる。その結果として、CAR-T 細胞の *in vivo* 抗腫瘍効果を全体として高めることができる新規 scFv の同定に繋がると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 13件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Maruta, M., Ochi, T., Tanimoto, K., Asai, H., Saitou, T., Fujiwara, H., Imamura, T., Takenaka, K., Yasukawa, M.	4. 巻 9
2. 論文標題 Direct comparison of target-reactivity and cross-reactivity induced by CAR- and BiTE-redirected Tcells for the development of antibody-based T-cell therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 13293
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49834-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Yamada T, Nabe S, Toriyama K, Suzuki J, Inoue K, Imai Y, Shiraiishi A, Takenaka K, Yasukawa M, Yamashita M.	4. 巻 202
2. 論文標題 Histone H3K27 Demethylase Negatively Controls the Memory Formation of Antigen-Stimulated CD8+ T Cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 1088-1098
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1801083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 越智俊元, 安川正貴	4. 巻 37
2. 論文標題 造血管腫瘍に対する免疫療法 新たな標的抗原とその治療応用	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 実験医学	6. 最初と最後の頁 2622-2626
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Ikeda Y, Yamanouchi J, Hato T, Yasukawa M, Takenaka K.	4. 巻 30
2. 論文標題 Safe childbirth for a type 1 antithrombin-deficient woman with novel mutation in the SERPINC1 gene undergoing antithrombin concentrate therapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Blood Coagul Fibrinolysis	6. 最初と最後の頁 47-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1097/MBC.0000000000000785.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamada T, Nabe S, Toriyama K, Suzuki J, Inoue K, Imai Y, Shiraishi A, Takenaka K, Yasukawa M, Yamashita M.	4. 巻 202
2. 論文標題 Histone H3K27 demethylase negatively controls the memory formation of antigen-stimulated CD8+ T cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Immunol.	6. 最初と最後の頁 1088-1098
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4049/jimmunol.1801083	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Minagawa A, Yoshikawa T, Yasukawa M, Hotta A, Kunitomo M, Iriguchi S, Takiguchi M, Kassai Y, Imai E, Yasui Y, Kawai Y, Zhang R, Uemura Y, Miyoshi H, Nakanishi M, Watanabe A, Hayashi A, Kawana K, Fujii T, Nakatsura T, Kaneko S.	4. 巻 23
2. 論文標題 Enhancing T cell receptor stability in rejuvenated iPSC-derived T cells improves their use in cancer immunotherapy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell	6. 最初と最後の頁 850-858
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2018.10.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ikeda Y, Yamanouchi J, Kumon Y, Yasukawa M, Hato T.	4. 巻 172
2. 論文標題 Association of platelet response to cilostazol with clinical outcome and CYP genotype in patients with cerebral infarction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Thromb Res	6. 最初と最後の頁 14-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.thromres.2018.10.003	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nabe S, Yamada T, Suzuki J, Toriyama K, Yasuoka T, Kuwahara M, Shiraishi A, Takenaka K, Yasukawa M, and Yamashita M.	4. 巻 109
2. 論文標題 Reinforce the antitumor activity of CD8+ T cells via glutamine restriction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 3737-3750
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13827	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamanouchi J, Tokumoto D, Ikeda Y, Maruta M, Kaneko M, Hato T, and Yasukawa M.	4. 巻 57
2. 論文標題 Development of an FVIII inhibitor in a mild hemophilia patient with a Phe595Cys mutation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Intern Med.	6. 最初と最後の頁 3179-3182
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2169/internalmedicine.1145-18	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Suzuki J, Yamada T, Inoue K, Nabe S, Kuwahara M, Takemori N, Takemori A, Matsuda S, Makoto Kanoh M, Imai Y, Yasukawa M, and Yamashita M.	4. 巻 9
2. 論文標題 The tumor suppressor menin prevents effector CD8 T cell dysfunction via metabolic restriction by targeting mTOR activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 3296
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-018-05854-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kashima S, Maeda T, Masuda K, Nagano S, Inoue T, Takeda M, Kono Y, Kobayashi T, Saito S, Higuchi T, Ichise H, Kobayashi Y, Iwaisako K, Terada K, Agata Y, Numakura K, Saito M, Narita S, Yasukawa M, Ogawa O, Habuchi T, Kawamoto H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Cytotoxic T lymphocytes regenerated from iPS cells have therapeutic efficacy in a patient-derived xenograft solid tumor model.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 100998
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2020.100998	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 239.Iriguchi S, Yasui Y, Kawai Y, Arima S, Kunitomo M, Sato T, Ueda T, Minagawa A, Mishima Y, Yanagawa N, Baba Y, Miyake Y, Nakayama K, Takiguchi M, Shinohara T, Nakatsura T, Yasukawa M, Kassai Y, Hayashi A, Kaneko S.	4. 巻 12
2. 論文標題 A clinically applicable and scalable method to regenerate T-cells from iPSCs for off-the-shelf T-cell immunotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nat Commun.	6. 最初と最後の頁 430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-20658-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 240.Suemori K, Saijo M, Yamanaka A, Himeji D, Kawamura M, Haku T, Hidaka M, Kamikokuryo C, Kakihana Y, Azuma T, Takenaka K, Takahashi T, Furumoto A, Ishimaru T, Ishida M, Kaneko M, Kadowaki N, Ikeda K, Sakabe S, Taniguchi T, Ohge H, Kurosu T, Yoshikawa T, Shimojima M, Yasukawa M.	4. 巻 15
2. 論文標題 A multicenter non-randomized, uncontrolled single arm trial for evaluation of the efficacy and the safety of the treatment with favipiravir for patients with severe fever with thrombocytopenia syndrome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLoS Negl Trop Dis.	6. 最初と最後の頁 e0009103
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pntd.0009103	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ochi T, Maruta M, Tanimoto K, Kondo F, Yamamoto T, Kurata M, Fujiwara H, Masumoto J, Takenaka K, Yasukawa M.	4. 巻 4
2. 論文標題 A single-chain antibody generation system yielding CAR-T cells with superior antitumor function	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 273
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-01791-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計12件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Ochi, T., Maruta, M., Tanimoto, K., Fujiwara, H., Takenaka, K., Yasukawa, M.
2. 発表標題 Establishment of a novel T-cell-based scFv screening technology to advance modified antibody-based immunotherapy
3. 学会等名 The 17 th Annual Meeting of the Association for Cancer Immunotherapy (CIMT) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ochi, T., Maruta, M., Tanimoto, K., Fujiwara, H., Takenaka, K., Yasukawa, M.
2. 発表標題 Next-generation CAR T-cell therapy using antitumor scFvs optimized by a cell-based screening system
3. 学会等名 The 81 st Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 4)Ochi, T., Maruta, M., Tanimoto, K., Asai, H., Saitou, T., Yakushijin, Y., Fujiwara, H., Imamura, T., Takenaka, K., Yasukawa, M.
2. 発表標題 Development of anti-myeloma immunotherapy by exploiting modified antibodies specific for A2/NY-ESO-1
3. 学会等名 The fourth CRI-CIMT-EATI-AACR International Cancer Immunotherapy Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 5)Yamanouchi, J., Ikeda, Y., Hato, T., Yasukawa, M., Takenaka, K.
2. 発表標題 A Heterozygous Mutation of G-Protein-Coupled Receptor 25 in a Family with Inherited Thrombocytopenia and Thrombosis
3. 学会等名 60th ASH Annual Meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yasukawa, M.
2. 発表標題 Clinical Study on Favipiravir in Patients with Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome
3. 学会等名 Nikkei Asian Conference on Communicable Diseases 2018 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 名部彰悟, 山田武司, 鈴木淳平, 山下政克, 安川正貴
2. 発表標題 グルタミン代謝抑制によるCD8+ T細胞の抗腫瘍活性増強メカニズム
3. 学会等名 第22回がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸田雅樹, 越智俊元, 谷本一史, 東太地, 齋藤卓, 藤原弘, 今村健志, 安川正貴
2. 発表標題 改変抗体を用いた難治性骨髄腫に対する新規T細胞免疫療法の開発
3. 学会等名 第22回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 越智俊元, 丸田雅樹, 谷本一史, 朝井洋晶, 齋藤卓, 藤原弘, 今村健志, 竹中克斗, 安川正貴
2. 発表標題 改変抗体を応用した難治性骨髄腫に対する新規T細胞免疫療法の開発
3. 学会等名 第10回血液疾患免疫療法学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 丸田雅樹, 越智俊元, 谷本一史, 東太地, 齋藤卓, 藤原弘, 今村健志, 安川正貴
2. 発表標題 難治性骨髄腫を標的とした改変抗体T細胞免疫療法
3. 学会等名 第80回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ochi, T., Maruta, M., Tanimoto, K., Takenaka, K., Yasukawa, M.
2. 発表標題 Optimized scFv-expressing CAR-T cells showed marked antitumor reactivity in vivo
3. 学会等名 第24回日本がん免疫学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 越智俊元, 丸田雅樹, 谷本一史, 倉田美恵, 増本純也, 竹中克斗, 安川正貴
2. 発表標題 次世代型一本鎖抗体作製技術に基づき調整したCAR-T細胞を用いた有効かつ安全な免疫療法の開発
3. 学会等名 第12回日本血液疾患免疫療法学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Ochi, T., Maruta, M., Tanimoto, K., Kurata, M., Masumoto, J., Takenaka, K., Yasukawa, M.
2. 発表標題 Fine-tuned scFv-expressing CAR-T cells show marked antitumor reactivity in vivo
3. 学会等名 第82回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 CARライブラリおよびscFvの製造方法	発明者 越智俊元、安川正貴、竹中克斗、藤原弘	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2020/004123	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 CARライブラリ、scFvのスクリーニング方法、抗体またはその結合断片、キメラ抗原受容体、核酸、細胞、および細胞の製造方法	発明者 越智俊元、安川正貴、藤原弘	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2019-018269	出願年 2019年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

愛媛大学大学院医学系研究科血液・免疫・感染症内科学ホームページ https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/int.med1/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	越智 俊元 (OCHI TOSHIKI) (10571086)	愛媛大学・医学系研究科・講師 (16301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関