

令和 3 年 5 月 13 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08361

研究課題名(和文) 白血病に対するネオアンチゲン特異的な革新的遺伝子改変ヘルパーT細胞療法の開発

研究課題名(英文) Development of novel anti-leukemia immunotherapy using neo-antigen specific CD4 helper T cells

研究代表者

藤原 弘 (Fujiwara, Hiroshi)

三重大学・医学系研究科・産学官連携講座准教授

研究者番号：20398291

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：難治性骨髄性白血病に対して、新規に白血病ドライバー遺伝子変異由来ネオアンチゲンに特異的なTCR遺伝子導入T細胞(TCR-T)療法開発を続けている。ドライバー遺伝子変異モデルとして成人T細胞性白血病の原因ウイルスHTLV-1由来 p40Tax特異的なTCR-Tを新たに作製して新規細胞免疫療法の有用性を検討した。ネオアンチゲン探索と特異的TCR-T作製法確立を目指して、遺伝子変異を多く持つ大腸がんをモデルに、患者がん細胞の遺伝子変異探索と腫瘍浸潤Tリンパ球のTCR遺伝子解析、同ネオアンチゲン特異的TCR-T細胞作製から構成される方法を確立した。以上を基に、AMLを含む他癌種へ解析を広げている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん細胞特有のネオアンチゲンを認識するT細胞療法は、従来のがん抗原特異的T細胞療法が抱える問題点である正常組織に対するon-target/off-tumor有害事象を解決できる可能性が高い。一方で、がん細胞が持つ遺伝子変異からネオアンチゲンを同定し、かつそれを特異的に認識するTCR遺伝子を腫瘍浸潤Tリンパ球から得て、治療用TCR遺伝子導入T細胞を作製するまでには膨大な作業を要しボトルネックとなっている。この行程を確立出来たことは、今後細胞製剤のみならずがんワクチンの臨床応用の可能性も高める社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：For the treatment of refractory acute myeloid leukemia (rAML), a currently unmet need, we have been studying the capability of novel adoptive cellular immunotherapy using driver mutation-coded neoantigen reactive T cell receptor (TCR) gene-modified T cells (TCR-T). As a model for driver mutation-coded neoantigen, we chose HTLV-1 p40 Tax, the extrinsic causative factor for adult T-cell leukemia (ATL). We newly achieved HLA-A24 and -A2 restricted TCR genes with high affinities from ATL patients, established TCR gene-modified T cells, and subsequently assessed the capability of this TCR-T therapy. As to development of strategy for neoantigen screening in cancer cells and generation of neoantigen-reactive TCR-T cells using TCR- genes from tumor infiltrating lymphocytes (TIL), instead of rAML, we started to employ cancerous tissues from colon cancer patients, because of its abundance in mutations. Taking above, we are currently expanding this strategy to rAML and other cancers.

研究分野：血液内科学

キーワード：ネオアンチゲン 遺伝子改変ヘルパーT細胞 骨髄性白血病 細胞免疫療法 白血病幹細胞

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、研究者個人に帰属します。

## 1. 研究開始当初の背景

2017年8月、米国FDAは小児・若年成人の難治性・再発性B細胞性急性リンパ性白血病(B-ALL)に対する治療薬として、B細胞分化抗原CD19を標的とする抗CD19キメラ型抗原受容体遺伝子導入T細胞(CAR-T細胞)(CTL019; tisagenlecleucel)を承認した。新規遺伝子改変T細胞療法であるCAR-T療法が実臨床に登場し劇的な患者予後の改善を齎したのに対して、難治性急性骨髄性白血病(AML)に対する遺伝子改変T細胞療法の開発は大きく遅れていた。

その主な理由は、tisagenlecleucelの正常CD19陽性B細胞に対する治療関連on-target/off-tumor有害事象が臨床的に許容できる程度の無グロブリン血症(8B細胞欠損)であったのに対して、AML細胞に対する治療標的抗原であるCD123やCD33に特異的なCAR-T療法は、これら治療標的抗原が正常造血前駆細胞にも少なからず発現している自己抗原であるため、重篤な造血障害を必発した事による。一方で、我々は、難治性AMLに対する白血病関連抗原Wilms Tumor 1(WT1)特異的HLA-A24拘束性TCR遺伝子導入自家T細胞療法の臨床試験を実施したが(Tawara I. et al. Blood, 2017)その臨床効果は限定的で輸注されたWT1-siTCR-T細胞の生着期間が短い事が重要な要因と考えられた。そこで、これらの問題点を解決できる、難治性AMLに対する安全で有効な革新的遺伝子免疫細胞療法の構築を目指した。その手段として、本研究では、固形がんに対する免疫チェックポイント阻害剤療法の有効性を示唆するバイオマーカーとして提唱されていたがん細胞特有の遺伝子変異に由来する免疫原性エピトープであるネオアンチゲンを鑑みて、白血病細胞特異的な遺伝子変異がコードするネオアンチゲンに着目した。固形がん検出されるネオアンチゲンの大部分は、個々のがん細胞に特異的で付加的なパッセンジャー変異に由来する。これらは、がん免疫療法の個別化には適しているが個人差が大きく臨床的汎用性に乏しい(Rosenberg SA, Restifo NP. Science, 2015)。特に重要な問題は、AMLの遺伝子変異は固形がんに比べて極めてその数が少ないことである(Alexsandrov LB et al, Nature, 2013)。そこで、我々は、白血病発症原因であるドライバー変異に着目した。ドライバー変異は、白血病幹細胞を含めて白血病進展の過程で良く保存されている事が知られている。しかし、一方で、長期間患者の免疫系に暴露されているため、ドライバー変異由来抗原特異的な患者T細胞の多くは機能的anergyに陥っていると考えられている。

以上を考慮して、ドライバー変異特異的なTCR遺伝子を導入した、疲弊していない正常なT細胞は、白血病細胞を認識・排除する能力を獲得する可能性があること、その際に、ネオアンチゲン特異的CD4陽性ヘルパーT細胞を有効利用出来れば、我々がWT1特異的TCR遺伝子を導入した人工ヘルパーT細胞で確認した様に(Fujiwara H. et al, Leukemia, 2015)、ドライバー変異特異的白血病細胞傷害性T細胞(人工CTL)の生着と抗腫瘍効果を助長して、より効果的な抗白血病効果を得ることができると考えられた。

## 2. 研究の目的

On-target/off-tumor治療関連有害事象である重篤な造血障害を伴わず、白血病幹細胞も抑制し、かつ輸注後患者体内に長期間生着して高い臨床効果を発揮できる、難治性AMLに対する革新的な細胞免疫療法の構築を目指して、白血病driver変異由来のネオアンチゲン特異的な新規遺伝子免疫細胞療法、特にHLA class II拘束性ネオアンチゲンエピトープを認識するTCR遺伝子導入ヘルパーT細胞を有効活用する新規細胞免疫療法の開発を目指す。

## 3. 研究の方法

研究計画立案時は、脳腫瘍グリオーマのドライバー変異として発見され、AMLでもその可能性が指摘されているisocitrate dehydrogenase 1(IDH1)R132H変異に加えて、骨髄増殖性疾患(MPD)のドライバー変異JAK2-V617F変異を含む15アミノ酸からなるHLA class IIエピトープをアルゴリズム検索と組み合わせ、reversed immunology法を用いて、既に作製していた日本人に頻度が高いHLA-DR9, DR4, DR15遺伝子を導入したK562細胞を人工抗原提示細胞に利用して反応性T細胞を得ることを試みた。しかし、現実には、IDH1変異を持つAML患者は極めて少なく、またJAK2-V617F変異を含むエピトープの同定とそれに反応するT細胞の樹立に難渋した。

この時期、現職の三重大学大学院医学系研究科へ異動したことを契機に、よりユニバーサルな基盤技術を確立する戦略に方向転換した。

具体的には、第一に、白血病発がんドライバー変異モデルとして成人T細胞白血病発症遺伝子であるHTLV-1 p40Tax遺伝子を選択して、HLA-A2及びHLA-A24陽性患者末梢血から、抗原特異的T細胞(CTL)をp40Tax/HLA tetramerでソーティングして、直接NGS法でTCR $\alpha\beta$ 遺伝子を同定し、Gibson assembly法を用いてレトロウイルス発現ベクターに組み込む方法を用いて高親和性TCR- $\alpha\beta$ 遺伝子を同定した。さらに白血病ドライバー変異特異的TCR遺伝子導入T細胞療法を発展させるためにoff-the-shelf化を視野に入れて、健康人由来同種 $\gamma\delta$ -T細胞を用いる遺伝子改変細胞の有用性をin vitro及びin vivoで検討した。

第二に、AML細胞が持つ遺伝子変異の数が少ないことが知られていることから、ネオアンチ

ゲンエピトープ自体をよりユニバーサルに探索・同定する方法の導入・確立を目指した。具体的には、遺伝子変異を数多く持つことが知られている大腸がん患者がん組織を用いて、個々の患者検体で、がん細胞と腫瘍浸潤 T リンパ球 (TIL) を分離採取した後、両者の DNA と mRNA を網羅的にシークエンスして、全ての遺伝子変異と TCR- $\alpha\beta$  遺伝子を同定した。がん細胞の変異遺伝子の中で、mRNA 発現量が多い変異遺伝子をネオアンチゲン候補として選択し、HLA 拘束性情報をアルゴリズムで検索すると共に、変異を含む 10 個のアミノ酸からなる複数のペプチドの作製とそれらペプチドをコードする mRNA を全て繋いだ tandem minigene を作製し、エレクトロポレーション法で遺伝子導入した患者自身の EBV-LCL を抗原提示細胞として、第一の方法を用いて TIL から同定した頻度の高い TCR- $\alpha\beta$  遺伝子を選択して発現レトロウイルスベクターを作製して正常 T 細胞に遺伝子導入して作製した人工 CTL と反応させて、ネオアンチゲンエピトープをスクリーニングした。これらネオアンチゲンエピトープを認識する TCR- $\alpha\beta$  遺伝子を自家 T 細胞に導入した人工 CTL を細胞免疫療法用エフェクター細胞として、個々の患者自身のがん細胞に対する反応性を *in vitro* 及び、個々のがん細胞を担癌させた NOG マウス治療モデルで評価した。さらに、ネオアンチゲン候補の HLA 拘束性を HLA の異なるドナー由来 EBV-LCL を用いて決定する。

#### 4. 研究成果

ネオアンチゲン特異的な TCR 遺伝子導入 T 細胞療法を構築するには、腫瘍細胞の網羅的な全エクソン DNA 遺伝子解析による変異の検出と mRNA 解析による変異遺伝子の発現頻度の情報を基に、アルゴリズムを用いた *in silico* HLA 拘束性発現情報と合わせて、同定した変異を含むエピトープを決定して行く必要がある。と、同時に同定した遺伝子変異を含むエピトープが、想定した HLA と結合してがん細胞表面上に提示されているかどうかを評価する read-out 細胞が必要となる。この read-out 細胞が患者がん組織に浸潤する TIL や末梢血中の腫瘍特異的 T 細胞から得た TCR- $\alpha\beta$  遺伝子を導入した T 細胞であり、細胞免疫療法での治療用エフェクター細胞となる。この一連の工程は、膨大な作業量と時間を必要とするが、安定したハイスループットな方法が確立出来た。合わせて、以下の成果を得た。

1) 新たに同定した HLA-A2 及び HLA-A24 拘束性高親和性 p40Tax 特異的 TCR- $\alpha\beta$  遺伝子を導入した T 細胞は各々 HLA 拘束性かつ p40Tax 特異的に ATL 細胞に対して、抗腫瘍効果を発揮した。

2) 上記 p40Tax 特異的 TCR- $\alpha\beta$  遺伝子を、off-the-shelf 化遺伝子導入 T 細胞の製造を目指して、健常者由来同種  $\gamma\delta$ -T 細胞に遺伝子導入した。結果、同 TCR- $\alpha\beta$  遺伝子導入  $\gamma\delta$ -T 細胞は *in vitro* 及び *in vivo* で HLA 拘束性かつ標的特異的に抗腫瘍効果を発揮する一方で、担癌 NOG マウス治療実験において全く GVHD を生じず、この治療戦略が、同種造血幹細胞移植適応の無い大多数の難治性 ATL 患者に対する新たな治療戦略となるのみならず、off-the-shelf 化の可能性が示された。現在、ATL に対する新たな細胞免疫療法の具体化を目指して開発を続けている。これらの結果は、国内外の学会で報告し、現在論文投稿準備中である。

3) これまでに 16 例の大腸がん患者検体を用いて、複数のネオアンチゲンエピトープを同定した。さらに患者 TIL から TCR $\alpha\beta$  遺伝子を同定して、read out 細胞としての人工 CTL を作製して、患者自身のがん細胞に対する抗腫瘍効果を確認した。結果、5 例の患者の TIL から得た TCR- $\alpha\beta$  遺伝子導入 CTL が患者自身のがん細胞を認識して IFN- $\gamma$  を産生した。内 2 例で、患者自身のがん細胞を担癌した NOG マウス治療モデルにおいて、個々の患者自身のがん細胞を特異的に認識して抗腫瘍効果を示すことを確認した。加えて、腫瘍部位の免疫染色で、それぞれ抗腫瘍効果を認めたマウス腫瘍組織内にヒトリンパ球の浸潤を確認し、輸注したネオアンチゲン特異的 TCR-T 細胞による抗腫瘍効果である事を確認出来た。さらに、標的となったネオアンチゲンと HLA 拘束性も複数同定した。一方で、患者自身の EBV-LCL 自体を認識する自己抗原反応性と考えられる TCR- $\alpha\beta$  も検出され、標的抗原特異性の慎重な確認が合わせて重要であることも明らかになった。これらの結果は、国内の学会で報告している。現在、これらの知見を基盤として、AML を含む他癌腫に解析対象を広げて、ネオアンチゲンの同定と臨床応用を進めている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 2件）

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Ochi T, Maruta M, Tanimoto K, Kondo F, Yamamoto T, Kurata M, Fujiwara H, Masumoto J, Takenaka K, Yasukawa M.  | 4. 巻<br>4(1)          |
| 2. 論文標題<br>A single-chain antibody generation system yielding CAR-T cells with superior antitumor function.   | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Communication Biology   | 6. 最初と最後の頁<br>273     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1038/s42003-021-01791-1.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |
| 1. 著者名<br>Nakano N, Utsunomiya A, Matsuo K, Yoshida N, Seto M, Ohshima K, Fujiwara H, Fuji S, Takatsuka1 Y, Ito A, Miyamoto T, Suehiro Y, Nakamae H, Sawayama Y, Yuasa M, Miyazaki Y, Ota S, Imada K, Fukuda T, Ichinohe T, Atsuta Y, Kato K. | 4. 巻<br>5(2)          |
| 2. 論文標題<br>Chromosomal defects and survival in adult T cell leukemia/lymphoma patients after allogeneic HSCT.   | 5. 発行年<br>2021年       |
| 3. 雑誌名<br>Blood Advances  | 6. 最初と最後の頁<br>475-486 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1182/bloodadvances.2020003639.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |
| 1. 著者名<br>Ikeda Y, Tanimoto K, Azuma T, Fujiwara H, Ochi T, Asai H, Nabe S, Maruta M, Takeuchi K, Yamanouchi J, Kitazawa S, Takenaka K.   | 4. 巻<br>-             |
| 2. 論文標題<br>Disseminated infection with novel human adenovirus (genotype 79) following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.   | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Annals of Hematology  | 6. 最初と最後の頁<br>-       |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>10.1007/s00277-020-04151-x.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |
| 1. 著者名<br>藤原 弘  | 4. 巻<br>26(6)         |
| 2. 論文標題<br>TCR受容体遺伝子改変T細胞療法の問題点と改善策 -エピトープ・HLA複合体を標的とした遺伝子改変T細胞療法-  | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>腫瘍内科  | 6. 最初と最後の頁<br>1-7     |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子）<br>なし   | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                         | 4. 巻<br>78            |
| 2. 論文標題<br>CAR-T細胞療法                   | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>日本臨床                         | 6. 最初と最後の頁<br>261-266 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                 |
|--|-----------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                               | 4. 巻<br>62(2)   |
| 2. 論文標題<br>Rinketsu Dictionary 免疫チェックポイント阻害剤 | 5. 発行年<br>2021年 |
| 3. 雑誌名<br>臨床血液                               | 6. 最初と最後の頁<br>1 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし               | 査読の有無<br>無      |
| オープンアクセス<br>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<br>-       |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Casey NP, Kyte JA, Fujiwara H  | 4. 巻<br>2115          |
| 2. 論文標題<br>Use of RNA Interference with TCR Transfer to Enhance Safety and Efficiency. | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>Methods Molecular Biology.   | 6. 最初と最後の頁<br>327-349 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/978-1-0716-0290-4_18.                              | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>該当する          |

|  |                    |
|--|--------------------|
| 1. 著者名<br>Maruta M, Ochi T, Tanimoto K, Asai H, Saitou T, Fujiwara H, Imamura T, Takenaka K, Yasukawa M.   | 4. 巻<br>9(1):13293 |
| 2. 論文標題<br>Direct comparison of target-reactivity and cross-reactivity induced by CAR- and BiTE-redirceted T cells for the development of antibody-based T-cell therapy. | 5. 発行年<br>2019年    |
| 3. 雑誌名<br>Scientific Reports   | 6. 最初と最後の頁<br>1-13 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41598-019-49834-2.  | 査読の有無<br>有         |
| オープンアクセス<br>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<br>-          |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Sawayama Y, Itonaga H, Fukushima T, Nakano N, Fujiwara H, Utsunomiya A, Fukuda T, Miyamoto T, Eto T, Miyashita K, Nakamae H, Ogata M, Yamanoha A, Miyazaki Y, Kanda J, Atsuta Y, Kato K; ATL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. | 4. 巻<br>94(5)           |
| 2. 論文標題<br>Cytomegalovirus reactivation is associated with increased mortality more than 100 days after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for adult T-cell leukemia/lymphoma.  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>American Journal of Hematology.   | 6. 最初と最後の頁<br>E143-E146 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1002/ajh.25438.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Yoshimitsu M, Utsunomiya A, Fuji S, Fujiwara H, Fukuda T, Ogawa H, Takatsuka Y, Ishitsuka K, Yokota A, Okumura H, Ishii K, Nishikawa A, Eto T, Yonezawa A, Miyashita K, Tsukada J, Tanaka J, Atsuta Y, Kato K; ATL Working Group of the Japan Society for Hematopoietic Cell Transplantation. | 4. 巻<br>54(8)           |
| 2. 論文標題<br>A retrospective analysis of haplo-identical HLA-mismatch hematopoietic transplantation without posttransplantation cyclophosphamide for GVHD prophylaxis in patients with adult T-cell leukemia-lymphoma.  | 5. 発行年<br>2019年         |
| 3. 雑誌名<br>Bone Marrow Transplantation.  | 6. 最初と最後の頁<br>1266-1274 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1038/s41409-018-0400-5.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                         | 4. 巻<br>38(2)         |
| 2. 論文標題<br>固形がんに対する新たな複合免疫療法の考え方       | 5. 発行年<br>2020年       |
| 3. 雑誌名<br>実験医学                         | 6. 最初と最後の頁<br>135-141 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                            | 4. 巻<br>268(1)      |
| 2. 論文標題<br>急性リンパ性白血病に対するCAR-T細胞療法-その現状と展望 | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>医学のあゆみ                          | 6. 最初と最後の頁<br>54-60 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし            | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                         | 4. 巻<br>37(10)      |
| 2. 論文標題<br>急性リンパ性白血病に対するCAR-T細胞療法      | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>Pharma Medica                | 6. 最初と最後の頁<br>49-53 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                         | 4. 巻<br>79(1)       |
| 2. 論文標題<br>急性骨髄性白血病に対するCAR-T細胞療法の展望    | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>血液内科                         | 6. 最初と最後の頁<br>12-18 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘   | 4. 巻<br>24(6)         |
| 2. 論文標題<br>白血病細胞のCAR-T耐性獲得機序としてのtrogocytosisとCAR遺伝子細胞内ドメインの共刺激シグナル分子 | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>腫瘍内科   | 6. 最初と最後の頁<br>684-690 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                                       | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|   |                   |
|---|-------------------|
| 1. 著者名<br>Ohta R, Demachi-Okamura A, Akatsuka Y, Fujiwara H, Kuzushima K. | 4. 巻<br>466       |
| 2. 論文標題<br>Improving TCR affinity on 293T cells.                          | 5. 発行年<br>2019年   |
| 3. 雑誌名<br>Journal of Immunological Methods                                | 6. 最初と最後の頁<br>1-8 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1016/j.jim.2018.11.010.                    | 査読の有無<br>有        |
| オープンアクセス<br>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<br>-         |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>Watanabe N, Takaku T, Takeda K, Shirane S, Toyota T, Koike M, Noguchi M, Hirano T, Fujiwara H, Komatsu N.   | 4. 巻<br>108(6)        |
| 2. 論文標題<br>Dasatinib-induced anti-leukemia cellular immunity through a novel subset of CD57 positive helper/cytotoxic CD4 T cells in chronic myelogenous leukemia patients. | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>International Journal of Hematology   | 6. 最初と最後の頁<br>588-597 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1007/s12185-018-2517-0.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                         |
|--|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Akahori Y, Wang L, Yoneyama M, Seo N, Okumura S, Miyahara Y, Amaishi Y, Okamoto S, Mineno J, Ikeda H, Maki T, Fujiwara H, Akatsuka Y, Kato T, Shiku H. | 4. 巻<br>132(11)         |
| 2. 論文標題<br>Antitumor activity of CAR-T cells targeting the intracellular oncoprotein WT1 can be enhanced by vaccination.   | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Blood  | 6. 最初と最後の頁<br>1134-1145 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1182/blood-2017-08-802926.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                         |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名<br>Casey N, Fujiwara H, Azuma T, Murakami Y, Yoshimitsu M, Masamoto I, Nawa Y, Yamanouchi J, Narumi H, Yakushijin Y, Hato T, Yasukawa M. | 4. 巻<br>59(11)          |
| 2. 論文標題<br>CD4 and CD8 dual-positive, CD25 negative, tumor cell phenotype in a patient with adult T-cell leukemia/lymphoma.                     | 5. 発行年<br>2018年         |
| 3. 雑誌名<br>Leukemia & Lymphoma   | 6. 最初と最後の頁<br>2740-2742 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1080/10428194.2018.1439168.  | 査読の有無<br>有              |
| オープンアクセス<br>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<br>-               |

|   |                       |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名<br>7)Ishida T, Jo T, Takemoto S, Suzushima H, Suehiro Y, Choi I, Yoshimitsu M, Saburi Y, Nosaka K, Utsunomiya A, Kobayashi Y, Yamamoto K, Fujiwara H, Ishitsuka K, Yoshida S, Taira N, Imada K, Kato K, Moriuchi Y, Yoshimura K, Takahashi T, Tobinai K, Ueda R. | 4. 巻<br>184(3)        |
| 2. 論文標題<br>Follow-up of a randomised phase II study of chemotherapy alone or in combination with mogamulizumab in newly diagnosed aggressive adult T-cell leukaemia-lymphoma: impact on allogeneic haematopoietic stem cell transplantation.                            | 5. 発行年<br>2019年       |
| 3. 雑誌名<br>British Journal of Haematology  | 6. 最初と最後の頁<br>479-483 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>10.1111/bjh.15123.  | 査読の有無<br>有            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |



|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                            | 4. 巻<br>268(1)      |
| 2. 論文標題<br>急性リンパ性白血病に対するCAR-T細胞療法-その現状と展望 | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>医学のあゆみ                          | 6. 最初と最後の頁<br>54-60 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし            | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|   |                     |
|---|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                                  | 4. 巻<br>78(1)       |
| 2. 論文標題<br>再発・難治性多発性骨髄腫に対するCAR-T細胞療法の開発状況と今後の展開 | 5. 発行年<br>2019年     |
| 3. 雑誌名<br>血液内科                                  | 6. 最初と最後の頁<br>50-55 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                  | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                         | 4. 巻<br>59(10)      |
| 2. 論文標題<br>がん微小環境と腫瘍免疫の最前線             | 5. 発行年<br>2018年     |
| 3. 雑誌名<br>臨床血液                         | 6. 最初と最後の頁<br>35-44 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                           | 4. 巻<br>36(11)      |
| 2. 論文標題<br>遺伝子改変技術・ゲノム編集技術のCAR-T細胞療法への応用 | 5. 発行年<br>2018年     |
| 3. 雑誌名<br>Pharma Medica                  | 6. 最初と最後の頁<br>45-50 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし           | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘   | 4. 巻<br>77(4)         |
| 2. 論文標題<br>びまん性大細胞型B細胞リンパ腫に対するCD19を標的とするCAR-T細胞療法の開発現状と今後の展開 | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>血液内科   | 6. 最初と最後の頁<br>481-487 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし                               | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

|  |                     |
|--|---------------------|
| 1. 著者名<br>藤原 弘                         | 4. 巻<br>35(7)       |
| 2. 論文標題<br>次世代型CAR-T細胞療法の展望            | 5. 発行年<br>2018年     |
| 3. 雑誌名<br>Bio INDUSTRY                 | 6. 最初と最後の頁<br>47-56 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無          |
| オープンアクセス<br>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<br>-           |

|  |                       |
|--|-----------------------|
| 1. 著者名<br>丸田雅樹、谷本一史、藤原 弘               | 4. 巻<br>76(2)         |
| 2. 論文標題<br>AMLに対する免疫療法の可能性             | 5. 発行年<br>2018年       |
| 3. 雑誌名<br>血液内科                         | 6. 最初と最後の頁<br>216-221 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子)<br>なし         | 査読の有無<br>無            |
| オープンアクセス<br>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<br>-             |

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 9件 / うち国際学会 4件)

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Hiroshi Fujiwara.  |
| 2. 発表標題<br>CAR-T bioengineering for solid cancers; choice of therapeutic targets and immune cells engineered. |
| 3. 学会等名<br>第79回日本癌学会学術集会 (招待講演)   |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>藤原 弘                                       |
| 2. 発表標題<br>CTL誘導とGVHD/GVL -TCR-T/CAR-T療法時代の同種造血幹細胞移植- |
| 3. 学会等名<br>第56回日本移植学会総会（招待講演）                         |
| 4. 発表年<br>2020年                                       |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>藤原 弘                                      |
| 2. 発表標題<br>TCR遺伝子導入T細胞療法-エピトープ・HLA複合体特異的免疫細胞療法の視点から- |
| 3. 学会等名<br>第58回日本癌治療学会学術集会（招待講演）                     |
| 4. 発表年<br>2020年                                      |

|                                   |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名<br>藤原 弘                   |
| 2. 発表標題<br>CAR-T療法に関する最新の世界情勢     |
| 3. 学会等名<br>第43回日本造血細胞移植学会総会（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2021年                   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>藤原弘、赤堀泰、三輪啓志、王立楠、日向千咲、大海雄介、宮原慶裕、田中義正、古川圭子、古川鋼一、珠玖洋 |
| 2. 発表標題<br>新規GD2特異的CAR遺伝子導入アロ / -T細胞の開発                       |
| 3. 学会等名<br>第24回日本がん免疫学会総会                                     |
| 4. 発表年<br>2020年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>藤原弘、赤堀泰、三輪啓志、王立楠、日向千咲、瀬尾尚宏、宮原慶裕、田中義正、大海雄介、古川圭子、古川鋼一、森実飛鳥、高橋淳、池田裕明、珠玖洋 |
| 2. 発表標題<br>固形がんに対する新規GD2特異的CAR遺伝子導入アロ / -T細胞療法の開発                                |
| 3. 学会等名<br>第82回日本日本血液学会学術集会  |
| 4. 発表年<br>2020年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Fujiwara H., Okumura S., Fujii K., Miyahara Y, Tawara I., Jo T., Tanaka Y., Tanaka Y., Ikeda H., Shiku H  |
| 2. 発表標題<br>Novel treatment strategy using HTLV-1 p40Tax-specific TCR gene-modified allogeneic gamma/delta-T cells for the treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma. |
| 3. 学会等名<br>The 10th JSH International Symposium 2019 in Ise-Shima, (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Fujiwara H., Okumura H., Miwa H., Akahori Y., Miyahara Y., Linan W., Tawara I., Jo T., Tanaka Y., Tanaka Y., Ikeda H., Shiku H. |
| 2. 発表標題<br>TCR/CAR gene-modified allogeneic gamma/delta-T cells for the treatment of hematological cancers.                                |
| 3. 学会等名<br>2nd International Conference of Lymphocyte Engineering. (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>Akahori Y., Kato Y., Miyahara Y., Amaike C., Wang L., Takuma K., Fujiwara H., Miwa H., Ikeda H., Shiku H. |
| 2. 発表標題<br>Development of TCR-like scFv zG CAR that specifically recognizes MAGE-4230-239/HLA-A*02:01 complex.       |
| 3. 学会等名<br>2nd International Conference of Lymphocyte Engineering. (国際学会)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>Fujiwara H., Okumura S., Fujii K., Miyahara Y., Linan W., Tawara I., Jo T., Tanaka Y., Tanaka Y., Ikeda H., M.D., Shiku H.   |
| 2. 発表標題<br>Novel cellular immunotherapy using allogeneic Vgamma9/delta2-T cells gene-modified to express HTLV-1 P40Tax-specific TCR for the treatment of adult T cell leukemia. |
| 3. 学会等名<br>The 61st American Society of Hematology Annual Meeting and Exposition (国際学会)   |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>藤原弘  |
| 2. 発表標題<br>Adoptive immunotherapy using gene-modified T cells to express myeloma-associated Ag-reactive receptors against r/r MM. |
| 3. 学会等名<br>第44回日本骨髄腫学会シンポジウム3-2 (招待講演)  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>藤原弘   |
| 2. 発表標題<br>Genetically re-directed -T cells towards cancer antigens: another promising player of anticancer immunotherapy? |
| 3. 学会等名<br>第23回日本がん免疫学会総会 シンポジウム4 がん免疫細胞療法 (招待講演)  |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>藤原弘  |
| 2. 発表標題<br>Combined immunotherapy using CAR-T cells and immune checkpoint inhibitors. |
| 3. 学会等名<br>第11回日本血液疾患免疫療法学会学術集会 (招待講演)  |
| 4. 発表年<br>2019年   |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>藤原弘   |
| 2. 発表標題<br>CAR-T therapy against B-cell malignancy; Up-dated |
| 3. 学会等名<br>第6回 免疫細胞療法研究会（招待講演）                               |
| 4. 発表年<br>2019年  |

|   |
|---|
| 1. 発表者名<br>藤原 弘                             |
| 2. 発表標題<br>がん微小環境と腫瘍免疫の最前線                  |
| 3. 学会等名<br>第80回日本血液学会学術集会 教育講演EL-2-4A（招待講演） |
| 4. 発表年<br>2018年                             |

|  |
|--|
| 1. 発表者名<br>丸田 雅樹, 越智 俊元, 谷本 一史, 東 太地, 斉藤 卓, 藤原 弘, 今村 健志, 安川 正貴 |
| 2. 発表標題<br>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<br>第80回 日本血液学会学術集会                                     |
| 4. 発表年<br>2018年  |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

|                                 |                             |               |
|---------------------------------|-----------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称<br>抗原受容体               | 発明者<br>珠玖洋、三輪啓志、<br>赤堀泰、藤原弘 | 権利者<br>同左     |
| 産業財産権の種類、番号<br>特許、特願2019-142357 | 出願年<br>2019年                | 国内・外国の別<br>国内 |

|                                 |  |               |
|---------------------------------|--|---------------|
| 産業財産権の名称<br>GD2結合性分子            | 発明者<br>珠玖洋、三輪啓志、<br>赤堀泰、藤原弘、古<br>川鋼一、古川圭子、 | 権利者<br>同左     |
| 産業財産権の種類、番号<br>特許、特願2019-142358 | 出願年<br>2019年                               | 国内・外国の別<br>国内 |

〔取得〕 計0件

〔その他〕

三重大学大学院医学系研究科 個別化がん免疫治療学  
<http://www.shikuken.jp/>  
愛媛大学大学院医学系研究科 血液・免疫・感染症内科学  
<https://www.m.ehime-u.ac.jp/school/int.med1/>

6. 研究組織

|  | 氏名<br>(ローマ字氏名)<br>(研究者番号) | 所属研究機関・部局・職<br>(機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|

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 |
|---------|---------|
|---------|---------|