

令和 5 年 6 月 8 日現在

機関番号：32511

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16420

研究課題名（和文）大多数の日本人をカバーできるがん治療ワクチンの開発

研究課題名（英文）Development of cancer treatment vaccine that can cover the majority of Japanese

研究代表者

建部 卓也（Tatebe, Takuya）

帝京平成大学・薬学部・助教

研究者番号：40806048

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞特異的なキラーT細胞の誘導を介して免疫チェックポイント阻害剤の治療効果を上げることが可能か検証した。キラーT細胞を誘導する抗原とIL-2をがん細胞に導入しマウスに移植したところ、完全にがん細胞が消失した。その後抗原付加なしのがん細胞を移植したところ、成長は認められなかった。これらの結果は導入抗原が引き金となりキラーT細胞の誘導を介してがん細胞が攻撃され、次のがん細胞の抗原が暴露されキラーT細胞の誘導を誘発したと示唆される。以上よりキラーT細胞誘導を利用したがん治療戦略を解明でき、免疫チェックポイント阻害剤の効果も増強すると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん治療領域において免疫チェックポイント阻害剤の与える影響は非常に大きい。我々は体内でがん細胞特異的なキラーT細胞を増やし、既存の薬の効果を増強させることを考えた。本研究成果は、がん細胞に対して直接攻撃するものではなく、がん細胞に新たな抗原を発現させることで抗原に対するキラーT細胞の誘導を介して攻撃し、次のがん細胞のネオ抗原に対するキラーT細胞の誘導も引き起こしがん治療および再発するがんに対するワクチン効果を獲得したことを示した点で意義がある。また本システムは特定のがん種だけでなく、多くのがんに対して適応できることが期待される。

研究成果の概要（英文）：We investigated whether it is possible to increase the therapeutic efficacy of immune checkpoint inhibitors via induction of cancer cell-specific killer T cells. When the antigen that induces killer T cells and IL-2 were introduced into cancer cells and transplanted into mice, the cancer cells disappeared completely. These results suggest that the transduced antigen triggered the attack on cancer cells via induction of killer T cells, which in turn exposed the antigen of cancer cells and triggered induction of killer T cells. We found cancer treatment strategies utilizing killer T-cell induction can be elucidated and may enhance the efficacy of immune checkpoint inhibitors.

研究分野：医療薬学

キーワード：キラーT細胞 モデル動物 がんワクチン HLA BCG抗原

1. 研究開始当初の背景

がん治療において手術療法が中心であったが、近年は化学療法や放射線療法が進歩し、組み合わせることでより大きな治療効果を得ることが可能になっている。これらの3つ治療法に加えて免疫チェックポイント阻害剤やウイルスを用いた治療法が本格的に動き出した。免疫チェックポイントを阻害する抗 PD-1 抗体や抗 CTLA-4 抗体が開発され、20 種類以上のがんでその効果が期待されている。しかし、効果のある患者は 5~30%に限られることから、現在、効果のある患者を増やそうと併用療法の治験など精力的に進められている。事実、進行非小細胞肺癌では、キートルーダの併用療法により 35%の患者さんで 3 割以上のがん縮小が見られている。ウイルスによる治療法は岡山大学で開発された抗がんウイルス製剤のテロメライシンと東京大学で開発された G47 が世界をリードしている。テロメライシンはがん細胞を破壊できるように遺伝子改変された 5 型のアデノウイルスであり、テロメラーゼ活性の高いがん細胞で特異的に増殖し、腫瘍を溶解する特徴を持つ。G47 は単純ヘルペスウイルスの 1 型の 3 つの遺伝子を改変して作製され、がん細胞でのみウイルスの増殖が起こり、次々にがん細胞を破壊するシステムであり、ヒトの脳腫瘍への適応が期待されている。

2. 研究の目的

本研究は、我が国のほとんどの国民が接種している BCG ワクチンによって感作されたキラー T 細胞を利用して、「ユニバーサルがん治療ワクチン」の開発を行うことを目的としている。事実、BCG ワクチンを受けた日本人に BCG 抗原ペプチド (Ag85, MPB51 など) 反応性の Th1 細胞、キラー T 細胞が存在することが報告されている。そこで本研究では大きく 3 つの目標を設定した。(1) がん細胞へ特異的に BCG 抗原を発現させ、体内に存在する BCG 抗原反応性キラー T 細胞によってがん細胞を攻撃させる方法の確立、(2) 抗原発現がん細胞を用いたワクチン効果の解析、(3) HLA 発現トランスジェニックマウスと HLA 発現がん細胞を組み合わせた評価系の構築。

3. 研究の方法

本研究では、上記の(1)と(2)のテーマについては哺乳類細胞に対して作製した BCG 抗原発現プラスミドを導入し、マウスに移植することで発現させた抗原によるキラー T 細胞誘導を確認する。キラー T 細胞の誘導を介して移植したがん細胞が消失した場合、外来抗原なしがん細胞を移植しネオ抗原に対するキラー T 細胞の誘導を抗腫瘍効果の獲得の有無により確認する。また BCG 抗原を発現させるアデノウイルスを作製する。(3)のテーマは、HLA 発現トランスジェニックマウスと HLA 発現がん細胞を作製する。

4. 研究成果

(1)がん細胞へ特異的に BCG 抗原を発現させ、体内に存在する BCG 抗原反応性キラー T 細胞によってがん細胞を攻撃させる方法の確立

(2)抗原発現がん細胞を用いたワクチン効果の解析

BCG 抗原発現がん細胞を用いたキラー T 細胞誘導の解析

キラー T 細胞を誘導させる BCG 抗原としてこれまでに報告がある Ag85A を選択した。Genegun システムを用いて CB6F1 マウスに Ag85A 遺伝子導入を行い、予め抗原に対する免疫を行った。その結果、抗体産生および抗原に対するキラー T 細胞が誘導されていることを確認した。その後、Ag85A とキラー T 細胞活性を増強するために IL-2 をマウス大腸がん Colon26-Luc 細胞に導入したターゲット細胞を樹立し、免疫を獲得したマウスに移植した。その結果、遺伝子免疫無し群で 100%がん細胞が消失した一方で Ag85A に対して免疫を獲得した群では 40%しか消失しなかった。本結果は対象となる遺伝子を導入することにより強い免疫誘導を起こした場合、攻撃因子の増強は引き起こされるが、抑制する機構の誘導も起こってしまう可能性を示唆した。これは予想していなかった結果ではあったが、抗原付加によりがん細胞が消失したことは間違えないため、次のがん細胞が消失したマウスが抗原発現がん細胞移植により Colon26-Luc 細胞のネオアンチゲンに対してキラー T 細胞が誘導されているか解析した。その結果すべてのマウスで改めて移植した Colon26-Luc 細胞の完全な消失が認められた。以上の結果より今後の解析では免疫誘導を行わず、がん細胞に対してキラー T 細胞誘導可能な抗原の導入を行い、そのがん細胞をがん治療およびがんワクチンとして発展させていくこととした。

BCG 抗原を発現させるアデノウイルスの作製

がん治療についてはがん細胞に対して直接抗原を発現させることも想定している。そこでテロメライシンのシステムを利用した。テロメラーゼプロモーターによって Ag85A-IRES-IL2 が転写され、リボソームで Ag85A と IL-2 が別々に翻訳されてタンパク質が合成されるアデノウイルスの作製を行った。その結果、Colon26-Luc 細胞に対して作製したウイルスを投与したところ IL-2 の分泌を確認した。このことからアデノウイルスを用いた *in vitro* 及び *in vivo* の実験系を確立することが出来た。このアデノウイルスを用いて担癌モデルマウスへの投与やがん細胞に

一過性に抗原を発現させマウスに移植を行いワクチン効果が得られるか解析を行う。本技術の発展はがん領域に新たな方法を提供する可能性がある。

(3)HLA 発現トランスジェニックマウスと HLA 発現がん細胞を組み合わせた評価系の構築

これまで HLA 発現トランスジェニックマウスの作製はいくつか報告があり、*in vitro* アッセイ系を用いて様々なペプチドの反応性が評価されてきた。しかし実際に *in vivo* での評価は不可能であった。そこで個体へ生着可能ながん細胞を作出し、抗原の影響をダイレクトに評価する系を構築し、(1)および(2)で効果が認められた抗原を HLA の系で評価しヒトへの応用を目指し、その作製に取り組んだ。

HLA 発現トランスジェニックマウスの作製と HLA 発現がん細胞の作製に成功した。

今後作製したマウスと細胞を組み合わせ、抗原を発現させキラーT細胞の誘導を介して抗腫瘍効果およびがんワクチン効果が得られるか評価する。本技術はこれまで評価出来なかった細胞性免疫のターゲットとなる抗原についてマウスを用いてヒトの反応性を評価するといったことが可能となる画期的なシステムである。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Kikuchi K, Tatebe T, Sudo Y, Yokoyama M, Kidana K, Chiu YW, Takatori S, Arita M, Hori Y, Tomita T	4. 巻 40
2. 論文標題 GPR120 signaling controls amyloid- degrading activity of matrix metalloproteinases.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Neuroscience	6. 最初と最後の頁 6173-6185
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1523/JNEUROSCI.2595-20.2021	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 該当する

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 建部卓也、石田功
2. 発表標題 BCG抗原発現がん細胞による抗腫瘍免疫誘導
3. 学会等名 第64回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 建部卓也、石田功
2. 発表標題 BCG抗原とIL-2共発現がん細胞による抗腫瘍免疫の誘導
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

帝京平成大学 薬学部特設サイト 研究 ユニット紹介 抗体・DDS研究ユニット
<https://pharm.thu.ac.jp/research/unit/dds.html>
帝京平成大学 薬学部 研究活動 私立大学戦略的研究基盤形成支援事業
<https://pharm.thu.ac.jp/research/grant.html>

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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------