

平成 27 年 6 月 1 日現在

機関番号：20101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24659165

研究課題名(和文)HSP90の慢性炎症誘発・維持機構

研究課題名(英文)Extracellular Hsp90 plays a pivotal role in innate immunity and adaptive immunity

研究代表者

佐藤 昇志(SATO, Noriyuki)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：50158937

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：無菌性炎症の惹起に関わる内因性リガンドとして、組織壊死・細胞死により遊離・放出される細胞外の熱ショック蛋白質HSPが樹状細胞を介して自然免疫を活性化し、無菌性炎症を惹起することが知られている。我々は樹状細胞表面上に発現していると予想されるHSP受容体の同定を行い、樹状細胞表面上のHsp90会合分子としてER01-⁻を同定した。ER01-⁻は元来小胞体に存在する酸化酵素であるが、樹状細胞の小胞体および細胞表面において低酸素環境や炎症に伴う細胞周囲環境ストレスによりその発現が増加することを明らかにした。さらにこの細胞表面のER01-⁻は細胞外のHsp90と会合することを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Extracellular heat shock proteins (HSPs) have been shown to initiate an aseptic inflammation via an activation of antigen presenting cells including dendritic cells. Moreover, we have shown that extracellular Hsp90-antigen complex is efficiently cross-presented by dendritic cells and stimulates antigen-specific T cells. Thus, extracellular Hsp90 plays a crucial role in the activation of innate immunity and adaptive immunity. In this study, we have identified ER-resident oxidase ER01-⁻ as a candidate of Hsp90 receptor. The cell surface expression as well as ER expression of ER01-⁻ was augmented when dendritic cells were exposed to hypoxia and oxidative stress caused by H2O2 treatment. Extracellular Hsp90 bound to ER01-⁻ expressed on the cell surface of dendritic cells. We are currently investigating whether ER01-⁻-bound Hsp90 is endocytosed and activates dendritic cells. These results will explain how endogenous extracellular HSPs impact on the inflammation and immunity.

研究分野：病理学

キーワード：熱ショック蛋白質 無菌性炎症 自然免疫 獲得免疫 樹状細胞 クロスプレゼンテーション 酸化酵素

1. 研究開始当初の背景

感染症における LPS など外因性リガンドによるマクロファージや樹状細胞など自然免疫活性化機構は大部分明らかにされた。しかし内因性リガンドによる炎症惹起や自然免疫活性化機構はまだ大部分が不明のままである。我々は、このような無菌性炎症の惹起に関わる内因性リガンドとして、組織壊死や細胞死により遊離・放出される細胞外の熱ショック蛋白質 HSP (extracellularHSP) は、自然免疫を活性化し、無菌性炎症を惹起することが知られている。この際、マクロファージや樹状細胞を含む抗原提示細胞が細胞外の HSP を結合・取り込むことにより、これらの抗原提示細胞の活性化や様々なサイトカイン産生が誘導される。特に細胞外に投与された Hsp90 (exHsp90) は、樹状細胞への結合・取り込み効率が高く、さらに抗原提示を促進して獲得免疫の活性化を増強することや無菌性炎症の惹起に関わることを我々は報告してきた。しかし、Hsp90 の特異的レセプターは未だ同定されていない。本研究では、無菌性炎症に関わるヒト樹状細胞上の Hsp90 レセプターを同定することで、自然免疫活性・無菌性炎症惹起の分子メカニズムを解明することである。

2. 研究の目的

ヒト樹状細胞上の Hsp90 レセプター遺伝子を同定することで、自然免疫活性化・無菌性炎症惹起の分子メカニズムを解明することで、自然免疫から獲得免疫活性化へのあらたな分子免疫学的機構を解明するものである。

3. 研究の方法

(1) 細胞外 Hsp90 レセプターのクローニング

ビオチン化ヒト Hsp90 の作製と樹状細胞上に発現する細胞外 Hsp90 レセプターの cDNA クローニングを行う。

(2) Hsp90 レセプターに対する単クローン抗体の作製

(3) エンドサイトーシス後の細胞外 Hsp90-Hsp90 レセプターの運命を共焦点レーザーを用いて検討する。

4. 研究成果

(1) 平成 24 年度

細胞外 Hsp90 (exHsp90) レセプターのクローニング

HeLa 細胞から精製したヒト Hsp90 を常法に従い、ビオチン化した。GM-CSF を用いてヒト末梢血単球から誘導した樹状細胞から oligo dT を用いて poly A (+) RNA を精製したのち、Superscript II を用いて RT-PCR を行った。cDNA 合成キットを用いて cDNA を精製後、ZAPII ベクターにライゲーションした。これを XL-1 Blue に transformation し、plating した。200 万 pfu の cDNA ライブラリーを作成した。この cDNA ライブラリーを cos7 細胞に一過性発現させ、ビオチン化 Hsp90 との結合性をフローサイトメーターにてスクリーニングした。cDNA を 50 万クローンスクリーニングしたところ、以下の候補遺伝子を同定した。すなわち、VDAC2, Timp3 (matrix metalloproteinase inhibitor 3), β -tubulin, lamin B, Chcitase 3 であった。しかし、細胞表面分子は含まれておらず、レセプターの可能性は低いと考えられた。

そのため、平成 25 年度においては、もう 1 つのストラテジーである、レトロウイルスライブラリーとパニング法を用いて、Hsp90 レセプター発現クローニングを行う方針とした。

レセプター媒介性エンドサイトーシスの共焦点顕微鏡による観察

Alexa 488 で標識したヒト Hsp90 を用いて、ヒトの樹状細胞によるエンドサイトーシスと細胞内局在を観察した。取り込まれた exHsp90 は初期エンドソームに特異的にかつ長時間貯留 (~3 時間) を示した。

(2) 平成 25 年度

細胞外 Hsp90 (exHsp90) レセプターのクローニング

平成 25 年度は、マウス未熟樹状細胞から cDNA ライブラリーを調整し、レトロウイルスベクター pLIB にクローニングした。約 10 万クローンのライブラリーを PLATE 細胞に導入し、その 48 時間後の培養上清を回収し、マウス形質細胞腫である P3U1 に感染させた。これを Hsp90 をコーティングしたプレートに添加し、パニング法を用いて、付着細胞由来のコロニーを 10 個以上得た。この細胞から、cDNA ライブラリー由来の遺伝子を PCR を用いて増幅し、シーケンスを行った。その結果、ERO1- を同定した。この ERO1- は小胞体局在蛋白質であることが知られているが、小胞体局在シグナルを持たない分子であり、細胞膜あるいは分泌される可能性が考えられた。そこで、受容体としての機能するか、まず細胞表面上の発現の有無を確認した。ERO1- の組換え蛋白質を作製し、マウスに免疫し、単クローン抗体を作製した。この抗体を用いて、樹状細胞表面での発現を検討すると、確かに細胞表面での発現を認めた。ERO1- は、マウスとヒトのアミノ酸レベルで、79.8 % の高い相同性を持つため、本抗体を用いて、ヒト樹状細胞においても受容体として機能しているか、検討する予定である。

exHsp90 のレセプター媒介性エンドサイトーシス

Alexa488 で、蛍光色素標識した Hsp90 をマウス樹状細胞に添加して、その細胞内局在を時空間的に解析した。その結果、exHsp90 は、初期エンドソームに貯留後、時間経過とともにエンドソームを脱出し、プロテアソームと共局在することが示された。抗 Hsp90 抗体を用いた結果から、exHsp90 のエンドソーム脱出には、内在性の Hsp90 が重要な役割を果たしていることが示された。

(3) 平成 26 年度

前年度までの研究により、樹状細胞表面上の Hsp90 受容体候補分子として ERO1- を同定した。ERO1- は元来小胞体中存在する酸化酵素であるが、樹状細胞の小胞体および細胞表面において炎症に伴ってしばしば認められる組織の低酸素環境ストレスによりその発現が増加することを明らかにした。さらに興味深いことに ERO1- はその発現増加に伴い、細胞外へ分泌された。共焦点顕微鏡を用いた ERO1- の局在は、steady state の樹状細胞では大部分は小胞体中存在するが、低酸素培養下では、ゴルジ体への移行が多く認められ一部は細胞表面上に発現した。すなわち低酸素刺激のような発現増強した場合、ERO1- は分泌経路に入っているものと考えられた。これは、ERO1- の小胞体局在は ERp44 との結合によるが、ERp44 は低酸素誘導性を示さないため ERO1- の発現増加に伴い free の ERO1- が増加するためであ

ることを明らかにした。そして質量分析により細胞外に分泌された ERO1- には Hsp90 が結合していることが示された。ERO1- は細胞内に存在する酸化酵素のなかでも最も酸化能が高いことが知られている。また ERO1- が基質蛋白質を酸化する際には、多量の活性酸素種 (ROS) が産生されることが知られている。そこで、293T 細胞に ERO1- を過剰発現させた細胞株を樹立し、培養上清から ERO1- -Hsp90 複合体を精製し、樹状細胞に添加したところ、ERO1- -Hsp90 複合体は樹状細胞にエンドサイトーシスにより取り込まれた。この際、抗 ERO1- 抗体処理での樹状細胞への取り込みは抑制されなかった。現在、ERO1- -Hsp90 複合体による樹状細胞活性化と MHC class I の発現増加をみており、その分子メカニズムを解析中である。

(4) 結論

本萌芽研究により、樹状細胞表面上の Hsp90 受容体候補分子として ERO1- を同定した。ERO1- は元来小胞体に存在する酸化酵素であるが、樹状細胞の小胞体および細胞表面において低酸素環境や炎症に伴う細胞周囲環境ストレスによりその発現が増加することを明らかにした。さらに興味深いことにこの ERO1- は発現増加に伴い、細胞外へ分泌された。これは、ERO1- の小胞体局在は ERp44 との結合によるが、ERp44 はストレス応答を示さないため ERO1- の発現増加に伴い free の ERO1- が増加するためであることを明らかにした。

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 53 件) 全て査読有り

- Iwayama Y, Tsuruma T, Mizuguchi T, Furuhashi T, Toyota N, Matsumura M, Torigoe T, Sato N, Hirata K. Prognostic value of HLA class I expression in patients with colorectal cancer. *World J Surg Oncol* 13: 36, 2015. doi: 10.1186/s12957-015-0456-2.
- Kasamatsu J, Takahashi S, Azuma M, Matsumoto M, Morii-Sakai A, Imamura M, Teshima T, Takahashi A, Hirohashi Y, Torigoe T, Sato N, Seya T. PolyI:C and mouse survivin artificially embedding human 2B peptide induce a CD4+ T cell response to autologous survivin in HLA-A*2402 transgenic mice. *Immunobiology* 220: 74-82, 2015. doi: 10.1016/j.imbio.2014.08.017.
- Kukita K, Tamura Y, Tanaka T, Kajiwara T, Kutomi G, Saito K, Okuya K, Takaya A, Kanaseki T, Tsukahara T, Hirohashi Y, Torigoe T, Furuhashi T, Hirata K, Sato N. Cancer-Associated Oxidase ERO1-alpha Regulates the Expression of MHC Class I Molecule via Oxidative Folding. *J Immunol*, 2015. In press. doi: 10.4049/jimmunol.1303228.
- Mizuguchi T, Torigoe T, Satomi F, Shima H, Kutomi G, Ota S, Ishii M, Hayashi H, Asakura S, Hirohashi Y, Meguro M, Kimura Y, Nishidate T, Okita K, Ishino M, Miyamoto A, Hatakenaka M, Sato N, Hirata K. Trials of vaccines for pancreatic ductal adenocarcinoma: Is there any hope of an improved prognosis? *Surg Today*, Feb5, Epub ahead of Print, 2015.
- Nishida S, Hirohashi Y, Torigoe T, Nojima M, Inoue R, Kitamura H, Tanaka T, Asanuma H, Sato N, Masumori N. Expression of hepatocyte growth factor in prostate cancer may indicate a biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Anticancer Res* 35: 413-418, 2015.
- Satomi F, Shima H, Mizuguchi T, Torigoe T, Kutomi G, Kimura Y, Hirohashi Y, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Takahashi A, Asanuma H, Ito YM, Hayashi H, Sugita O, Sato N, Hirata K. Phase I Clinical Study of Survivin-Derived Peptide Vaccine for Patients with Advanced Gastrointestinal Cancers. *Int J Cancer Clin Res* 2: 1-6, 2015.
- Tanaka T, Kajiwara T, Torigoe T, Okamoto Y, Sato N, Tamura Y. Cancer-associated oxidoreductase ERO1-alpha drives the production of tumor-promoting myeloid-derived suppressor cells via oxidative protein folding. *J Immunol* 194: 2004-2010, 2015. doi: 10.4049/jimmunol.1402538.
- Tanaka T, Okuya K, Kutomi G, Takaya A, Kajiwara T, Kanaseki T, Tsukahara T, Hirohashi Y, Torigoe T, Hirata K, Okamoto Y, Sato N, Tamura Y. Heat shock protein 90 targets a chaperoned peptide to the static early endosome for efficient cross-presentation by human dendritic cells. *Cancer Sci* 106: 18-24, 2015. doi: 10.1111/cas.12570.
- 廣橋良彦、鳥越俊彦、佐藤昇志：免疫療法の標的としてのがん細胞亜集団、*実験医学* 31 : 1904-1907, 2013.
- 佐藤昇志：癌免疫—癌医療での現在と、そして将来的考察—、第45回日本小児感染症学会特別講演、小児感染症免疫、26:263-266, 2014.
- 鳥越俊彦、廣橋良彦、塚原智英、金関貴幸、Kochin Vitaly、佐藤昇志：がんワクチン創薬への道程—がん抗原の同定から臨床試験まで—、*日本臨床免疫学会誌* 37:90-95, 2014.
- Kochin V, Kanaseki T, Morooka D, Takaya A, Hirohashi Y, Kokai Y, Torigoe T, Sato N. Natural peptidome presented by HLA-A24 of cancer and cancer stem cells. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 37: 348b, 2014.
- Mariya T, Hirohashi Y, Torigoe T, Asano T, Kuroda T, Yasuda K, Mizuuchi M, Sonoda T, Saito T, Sato N. Prognostic impact of human leukocyte antigen class I expression and association of platinum resistance with immunologic profiles in epithelial ovarian cancer. *Cancer Immunol Res* 2: 1220-1229, 2014. doi: 10.1158/2326-6066.
- Morita R, Hirohashi Y, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Torigoe T, Sato N. Production of multiple CTL epitopes from multiple tumor-associated antigens. *Methods Mol Biol* 1139: 345-355, 2014. doi: 10.1007/978-1-4939-0345-0_28.
- Morita R, Nishizawa S, Torigoe T, Takahashi A, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Sokolovskaya A, Kochin V, Kondo T, Hashino S, Asaka M, Hara I, Hirohashi Y, Sato N. Heat shock protein DNAJB8 is a novel target for immunotherapy of colon cancer-initiating cells. *Cancer Sci* 105: 389-395, 2014. doi: 10.1111/cas.12362.
- Tanaka T, Torigoe T, Hirohashi Y, Sato E, Honma I, Kitamura H, Masumori N, Tsukamoto T, Sato N. Hypoxia-inducible factor (HIF)-independent expression mechanism and novel function of HIF prolyl hydroxylase-3 in renal cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 140: 503-513, 2014. doi: 10.1007/s00432-014-1593-7.

17. Tsukahara T, Emori M, Murata K, Hirano T, Muroi N, Kyono M, Toji S, Watanabe K, Torigoe T, Kochin V, Asanuma H, Matsumiya H, Yamashita K, Himi T, Ichimiya S, Wada T, Yamashita T, Hasegawa T, Sato N. Specific targeting of a naturally presented osteosarcoma antigen, papillomavirus binding factor peptide, using an artificial monoclonal antibody. *J Biol Chem* 289: 22035-22047, 2014. doi: 10.1074/jbc.M114.568725.
18. Yasuda K, Torigoe T, Mariya T, Asano T, Kuroda T, Matsuzaki J, Ikeda K, Yamauchi M, Emori M, Asanuma H, Hasegawa T, Saito T, Hirohashi Y, Sato N. Fibroblasts induce expression of FGF4 in ovarian cancer stem-like cells/cancer-initiating cells and upregulate their tumor initiation capacity. *Lab Invest* 94: 1355-1369, 2014. doi: 10.1038/labinvest.2014.122.
19. Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Asanuma H, Inoue R, Nishida S, Tanaka T, Masumori N, Sato N, Tsukamoto T. Nuclear, but not cytoplasmic, localization of survivin as a negative prognostic factor for survival in upper urinary tract urothelial carcinoma. *Virchows Archiv* 462: 101-107, 2013. doi: 10.1007/s00428-012-1343-7.
20. Morita R, Hirohashi Y, Suzuki H, Takahashi A, Tamura Y, Kanaseki T, Asanuma H, Inoda S, Kondo T, Hashino S, Hasegawa T, Tokino T, Toyota M, Asaka M, Torigoe T, Sato N. DNA methyltransferase 1 is essential for initiation of the colon cancers. *Exp Mol Pathol.* 94:322-329, 2013. doi: 10.1016/j.yexmp.2012.10.004.
21. Kiriya K, Hirohashi Y, Torigoe T, Kubo T, Tamura Y, Kanaseki T, Takahashi A, Nakazawa E, Saka E, Ragnarsson C, Nakatsugawa M, Inoda S, Asanuma H, Takasu H, Hasegawa T, Yasoshima T, Hirata K, Sato N. Expression and function of FERMT genes in colon carcinoma cells. *Anticancer Res.* 33:167-173, 2013.
22. Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Asanuma H, Inoue R, Nishida S, Tanaka T, Fukuta F, Masumori N, Sato N, Tsukamoto T. Prognostic impact of the expression of ALDH1 and SOX2 in urothelial cancer of the upper urinary tract. *Mod Pathol.* 26:117-124, 2013. doi: 10.1038/modpathol.2012.139.
23. Kameshima H, Tsuruma T, Kutomi G, Shima H, Iwayama Y, Kimura Y, Imamura M, Torigoe T, Takahashi A, Hirohashi Y, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Sato N, Hirata K. Immunotherapeutic benefit of α -interferon (IFN α) in survivin2B-derived peptide vaccination for advanced pancreatic cancer patients. *Cancer Sci.* 104:124-129, 2013. doi: 10.1111/cas.12046.
24. Nishida S, Hirohashi Y, Torigoe T, Inoue R, Kitamura H, Tanaka T, Takahashi A, Asanuma H, Masumori N, Tsukamoto T, Sato N. Prostate cancer stem-like cells/cancer-initiating cells have an autocrine system of hepatocyte growth factor. *Cancer Sci.* 104:431-436. 2013. doi: 10.1111/cas.12104.
25. Yamada R, Takahashi A, Torigoe T, Morita R, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kubo T, Watarai K, Kondo T, Hirohashi Y, Sato N. Preferential expression of cancer/testis genes in cancer stem-like cells: proposal of a novel sub-category, cancer/testis/stem gene. *Tissue Antigens.* 81:428-434.2013. doi: 10.1111/tan.12113.
26. Torigoe T, Hirohashi Y, Yasuda K, Sato N. Constitutive expression and activation of stress response genes in cancer stem-like cells/tumour initiating cells: Potent targets for cancer stem cell therapy. *Int J Hyperthermia.* 29:436-441. 2013. doi: 10.3109/02656736.2013.814809.
27. Kutomi G, Tamura Y, Tanaka T, Kajiwarra T, Kukita K, Ohmura T, Shima H, Takamaru T, Satomi F, Suzuki Y, Torigoe T, Sato N, Hirata K. Human Endoplasmic Reticulum Oxidoreductin 1- α (hERO1- α) is a Novel Predictor for Poor Prognosis of Breast Cancer. *Cancer Sci.* 104:1091-1096. 2013. doi: 10.1111/cas.12177.
28. Kuroda T, Hirohashi Y, Torigoe T, Yasuda K, Takahashi A, Asanuma H, Morita R, Mariya T, Asano T, Mizuuchi M, Saito T, Sato N. ALDH1-High Ovarian Cancer Stem-Like Cells Can Be Isolated from Serous and Clear Cell Adenocarcinoma Cells, and ALDH1 High Expression Is Associated with Poor Prognosis. *PLoS One.* 8: 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0065158. Print 2013.
29. Yamamoto T, Tamura Y, Kobayashi JI, Kamiguchi K, Hirohashi Y, Miyazaki A, Torigoe T, Asanuma H, Hiratsuka H, Sato N. Six-transmembrane epithelial antigen of the prostate-1 plays a role for in vivo tumor growth via intercellular communication. *Exp Cell Res.* 319:2617-2626, 2013.
30. Michifuri Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Miyazaki A, Fujino J, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kobayashi J, Sasaki T, Takahashi A, Nakamori K, Yamaguchi A, Hiratsuka H, Sato N. Small proline-rich protein-1B is overexpressed in human oral squamous cell cancer stem-like cells and is related to their growth through activation of MAP kinase signal. *Biochem Biophys Res Commun.* 439:96-102. 2013. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.08.021.
31. Matsuzaki J, Torigoe T, Hirohashi Y, Tamura Y, Asanuma H, Nakazawa E, Saka E, Yasuda K, Takahashi S, Sato N. Expression of ECRG4 is associated with lower proliferative potential of esophageal cancer cells. *Pathol Int.* 63:391-397. 2013. doi: 10.1111/pin.12079.
32. Yasuda K, Torigoe T, Morita R, Kuroda T, Takahashi A, Matsuzaki J, Kochin V, Asanuma H, Hasegawa T, Saito T, Hirohashi Y, Sato N. Ovarian cancer stem cells are enriched in side population and aldehyde dehydrogenase bright overlapping population. *PLoS One.* 8:2013. doi: 10.1371/journal.pone.0068187.
33. Kanaseki T, Lind KC, Escobar H, Nagarajan N, Reyes-Vargas E, Rudd B, Rockwood AL, Van Kaer L, Sato N, Delgado JC, Shastri N. ERAAP and tapasin independently edit the amino and carboxyl termini of MHC class I peptides. *J Immunol.* 191:1547-1555. 2013. doi: 10.4049/jimmunol.1301043.
34. Takahashi A, Hirohashi Y, Torigoe T, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kochin V, Saijo H, Kubo T, Nakatsugawa M, Asanuma H, Hasegawa T, Kondo T, Sato N. Ectopically expressed variant form of sperm mitochondria-associated cysteine-rich protein augments tumorigenicity of the stem cell population

- of lung adenocarcinoma cells. *PLoS One*. 8: 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0069095.
35. Tanaka T, Kitamura H, Inoue R, Nishida S, Takahashi-Takaya A, Kawami S, Torigoe T, Hirohashi Y, Tsukamoto T, Sato N, Masumori N. Potential survival benefit of anti-apoptosis protein: survivin-derived peptide vaccine with and without interferon alpha therapy for patients with advanced or recurrent urothelial cancer--results from phase I clinical trials. *Clin Dev Immunol* 2013: 262967, 2013. doi: 10.1155/2013/262967.
 36. Emori M, Tsukahara T, Murase M, Kano M, Murata K, Takahashi A, Kubo T, Asanuma H, Yasuda K, Kochin V, Kaya M, Nagoya S, Nishio J, Iwasaki H, Sonoda T, Hasegawa T, Torigoe T, Wada T, Yamashita T, Sato N. High Expression of CD109 Antigen Regulates the Phenotype of Cancer Stem-Like Cells/Cancer-Initiating Cells in the Novel Epithelioid Sarcoma Cell Line ESX and Is Related to Poor Prognosis of Soft Tissue Sarcoma. *PLoS One*. 8(12): 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0084187.
 37. Saijo H, Hirohashi Y, Torigoe T, Kochin V, Takahashi H, Sato N. Cytotoxic T lymphocytes: the future of cancer stem cell eradication? *Immunotherapy*. 5: 549-51, 2013. doi: 10.2217/imt.13.44.
 38. Hirohashi Y, Torigoe T, Inoda S, Morita R, Kochin V, Sato N. Cytotoxic T lymphocytes: Sniping cancer stem cells. *Oncoimmunology* 1: 123-125, 2012.
 39. Kawaguchi S, Tsukahara T, Ida K, Kimura S, Murase M, Kano M, Emori M, Nagoya S, Kaya M, Torigoe T, Ueda E, Takahashi A, Ishii T, Tatezaki S, Toguchida J, Tsuchiya H, Osanai T, Sugita T, Sugiura H, Ieguchi M, Ihara K, Hamada K, Kakizaki H, Morii T, Yasuda T, Tanizawa T, Ogose A, Yabe H, Yamashita T, Sato N, Wada T. SYT-SSX breakpoint peptide vaccines in patients with synovial sarcoma: a study from the Japanese Musculoskeletal Oncology Group. *Cancer science* 103: 1625-1630, 2012. doi: 10.1111/j.1349-7006.2012.02370.x.
 40. Kukita K, Tamura Y, Oku-ya K, Saito K, Kutomi G, Sato N, Hirata K. Human endoplasmic reticulum oxidoreductin 1-like alpha regulates immune response of cancer cells via modulation of major histocompatibility complex class I expression and oxidation. *Gan to kagaku ryoho Cancer & chemotherapy* 39: 1800-1802, 2012.
 41. Matsuzaki J, Torigoe T, Hirohashi Y, Kamiguchi K, Tamura Y, Tsukahara T, Kubo T, Takahashi A, Nakazawa E, Saka E, Yasuda K, Takahashi S, Sato N. ECRG4 is a negative regulator of caspase-8-mediated apoptosis in human T-leukemia cells. *Carcinogenesis* 33: 996-1003, 2012. doi: 10.1093/carcin/bgs11
 42. Michifuri Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Miyazaki A, Kobayashi J, Sasaki T, Fujino J, Asanuma H, Tamura Y, Nakamori K, Hasegawa T, Hiratsuka H, Sato N. High expression of ALDH1 and SOX2 diffuse staining pattern of oral squamous cell carcinomas correlates to lymph node metastasis. *Pathology international* 62: 684-689, 2012. doi: 10.1111/j.1440-1827.2012.02851.x.
 43. Mizuuchi M, Hirohashi Y, Torigoe T, Kuroda T, Yasuda K, Shimizu Y, Saito T, Sato N. Novel oligomannose liposome-DNA complex DNA vaccination efficiently evokes anti-HPV E6 and E7 CTL responses. *Experimental and molecular pathology* 92: 185-190, 2012. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.10.002.
 44. Mori T, Nishizawa S, Hirohashi Y, Torigoe T, Tamura Y, Takahashi A, Kochin V, Fujii R, Kondo T, Greene MI, Hara I, Sato N. Efficiency of G2/M-related tumor-associated antigen-targeting cancer immunotherapy depends on antigen expression in the cancer stem-like population. *Experimental and molecular pathology* 92: 27-32, 2012. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.09.016.
 45. Morita R, Hirohashi Y, Sato N. Depletion of Tregs in vivo: a promising approach to enhance antitumor immunity without autoimmunity. *Immunotherapy* 4: 1103-1105, 2012. doi: 10.2217/imt.12.116.
 46. Nishida S, Hirohashi Y, Torigoe T, Kitamura H, Takahashi A, Masumori N, Tsukamoto T, Sato N. Gene expression profiles of prostate cancer stem cells isolated by aldehyde dehydrogenase activity assay. *The Journal of urology* 188: 294-299, 2012. doi: 10.1016/j.juro.2012.02.2555.
 47. Nishizawa S, Hirohashi Y, Torigoe T, Takahashi A, Tamura Y, Mori T, Kanaseki T, Kamiguchi K, Asanuma H, Morita R, Sokolovskaya A, Matsuzaki J, Yamada R, Fujii R, Kampinga HH, Kondo T, Hasegawa T, Hara I, Sato N. HSP DNAJB8 controls tumor-initiating ability in renal cancer stem-like cells. *Cancer Research* 72: 2844-2854, 2012. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3062.
 48. Takahashi A, Torigoe T, Tamura Y, Kanaseki T, Tsukahara T, Sasaki Y, Kameshima H, Tsuruma T, Hirata K, Tokino T, Hirohashi Y, Sato N. Heat shock enhances the expression of cytotoxic granule proteins and augments the activities of tumor-associated antigen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Cell stress & chaperones* 17: 757-763, 2012. doi: 10.1007/s12192-012-0348-0.
 49. Tamura Y, Saito K, Sato N. [Heat shock protein inhibitor for molecular targeting therapy]. *Nihon rinsho Japanese journal of clinical medicine* 70 Suppl 8: 135-139, 2012.
 50. Tamura Y, Torigoe T, Kukita K, Saito K, Okuya K, Kutomi G, Hirata K, Sato N. Heat-shock proteins as endogenous ligands building a bridge between innate and adaptive immunity. *Immunotherapy* 4: 841-852, 2012. doi: 10.2217/imt.12.75.
 51. Tamura Y, Torigoe T, Kutomi G, Hirata K, Sato N. New paradigm for intrinsic function of heat shock proteins as endogenous ligands in inflammation and innate immunity. *Current molecular medicine* 12: 1198-1206, 2012.
 52. Torigoe T, Asanuma H, Nakazawa E, Tamura Y, Hirohashi Y, Yamamoto E, Kanaseki T, Hasegawa T, Sato N. Establishment of a monoclonal anti-pan HLA class I antibody suitable for immunostaining of formalin-fixed tissue: unusually high frequency of down-regulation in breast cancer tissues.

- Pathology International 62: 303-308, 2012.
doi: 10.1111/j.1440-1827.2012.02789.x.
53. Tsukahara T, Takasawa A, Murata M, Okumura K, Nakayama M, Sato N, Hasegawa T. NK/T-cell lymphoma of bilateral adrenal glands in a patient with pyothorax. Diagnostic pathology 7: 114, 2012. doi: 10.1186/1746-1596-7-114.

〔学会発表〕(計 14 件)

1. 佐藤昇志：がんの免疫治療・予防 ～がん幹細胞の免疫制御を介して～、第 27 回日本口腔・咽頭科学会総会学術講演会特別講演、ホテルライフオーツ札幌、札幌、9 月 11 日、2014 年。
2. Noriyuki Sato: Immunological Modulation of Human Cancer Stem Cell, Cancer Meeting in Tokushima 2014 International Symposium, ホテルクレメント徳島、Tokushima, Aug 16, 2014.
3. 佐藤昇志：がん特異的ワクチンの具現化とサイトカイン、第 79 回インターフェロン・サイトカイン学会教育講演、北海道大学、札幌、6 月 19 日、2014 年。
4. 佐藤昇志：ヒトがんの免疫による治療・予防の現状と将来、第 18 回国際個別化医療学会学術集会特別講演、札幌コンベンションセンター、札幌、6 月 14 日、2014 年。
5. 佐藤昇志：肝・胆・膵悪性腫瘍の新規治療法の開発 Innovative treatment for hepato-biliary pancreatic cancer、第 26 回日本肝胆膵外科学会学術集会教育セミナー、和歌山県民文化会館、和歌山、6 月 12 日、2014 年。
6. 佐藤昇志：北海道におけるトランスレーショナルリサーチ、第 51 回日本臨床分子医学会学術集会スポンサーシンポジウム、東京国際フォーラム、東京、4 月 11 日、2014 年。
7. Noriyuki Sato: Immunological regulation of human cancer stem cell /cancer-initiating calls(CSC/CIC)、The 4th International Symposium on Carcinogenic Spiral Infection, Immunity, and Cancer. 京王プラザホテル札幌、Sapporo. February 10, 2014.
8. 佐藤昇志：がん免疫治療・予防 ―がん幹細胞の免疫制御を介して―、第 45 回和歌山県医師会医学会総会特別講演、ホテルアパローム紀の国、和歌山、12 月 1 日、2013 年。
9. 佐藤昇志：癌免疫、第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会特別講演、札幌コンベンションセンター、札幌、10 月 27 日、2013 年。
10. 佐藤昇志：Human cancer stem cells and natural antigenic peptides、第 72 回日本癌学会学術総会シンポジウム、パシフィコ横浜、横浜、10 月 5 日、2013 年。
11. 佐藤昇志：Immunobiological linkage of human cancer stem cell/cancer-initiating cell with cellular stress response、第 86 回日本生化学会大会シンポジウム、パシフィコ横浜、横浜、9 月 13 日、2013 年。
12. 佐藤昇志：期待されるがん免疫治療の現在と未来、第 20 回日本癌学会市民公開講座、札幌市民ホール、札幌、9 月 22 日、2012 年。
13. 佐藤昇志：がん免疫系のパラダイムシフトと口腔外科臨床、第 50 回 NPO 法人日本口腔科学会、第 38 回(社)日本口腔外科学会北日本地方会特別講演、札幌医科大学講堂、札幌、6 月 23 日、2012 年。
14. 佐藤昇志：『期待される「免疫によるがん治療」の現状と展望』、日本医師会生涯教

育講座、函館消化器病懇談会特別講演、函館ロイヤルホテル、函館、5 月 18 日、2012 年。

〔図書〕(計 1 件)

1. 佐藤昇志、笠原正典編著 腫瘍 器官病理学、南山堂、1018 ページ、2013

〔産業財産権〕

出願状況(計 4 件)

1. 名称：腫瘍抗原ペプチド
発明者：宮本昇、金関貴幸、Kochin Vitaly、鳥越俊彦、廣橋良彦、佐藤昇志
権利者：同上
種類：特許
番号：2014-249169
出願年月日：2014 年 12 月 9 日
国内外の別：国内
2. 名称：腫瘍抗原ペプチド
発明者：高谷あかり、金関貴幸、Kochin Vitaly、鳥越俊彦、廣橋良彦、佐藤昇志
権利者：同上
種類：特許
番号：PCT/JP2014-76625
出願年月日：2014 年 10 月 3 日
国内外の別：国外
3. 名称：腫瘍抗原ペプチド
発明者：浅野拓也、鳥越俊彦、廣橋良彦、佐藤昇志、渡邊一絵、厚山恵里、田路真悟
権利者：同上
種類：特許
番号：2014-194391
出願年月日：2014 年 9 月 24 日
国内外の別：国内
4. 名称：腫瘍抗原ペプチド
発明者：増田圭基、井口晴久、後藤正志、鳥越俊彦、廣橋良彦、守田玲菜、佐藤昇志
権利者：同上
種類：特許
番号：PCT/JP2014-68595
出願年月日：2014 年 7 月 11 日
国内外の別：国外

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 昇志 (SATO, Noriyuki)
札幌医科大学・医学部・教授
研究者番号：50158937