

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04974

研究課題名(和文) 前立腺癌抗原提示能を確立させる樹状細胞内分子機構の解明と創薬への展開

研究課題名(英文) Elucidation of the establishment of prostatic antigen presenting ability in dendritic cells, and development of novel medicines

研究代表者

那須 保友 (Nasu, Yasutomo)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：20237572

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,400,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺癌抗原-サイトカイン融合タンパク質を担癌マウスモデルに投与することによる抗腫作用に、液性免疫が関与している可能性が示唆された。抗腫サイトカイン様機能を持つREICタンパク質についても、各種の動物実験系を用いて、またアデノウイルスベクター等による強制発現系を用いた研究を展開し成果を得た。従来、抗腫免疫の確立には、生体内における各種細胞でのMHCクラス1およびクラス2タンパク質の発現と細胞内動態が重要であるとされる。本研究の実施により、これらのMHC分子のエンドサイトーシスと細胞内動態を癌抗原クロスプレゼンテーション機構の構築と一体化して解析する研究系が確立されつつある。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to elucidate the establishment of prostatic antigen presenting ability in dendritic cells. Using our original fusion proteins consisted of prostatic antigens (PAP, PSA, Prostate specific membrane antigen, Melanoma associated antigen-A4, Extracellular matrix metalloproteinase inducer) and cytokines, and cancer-bearing mouse models, we disclosed that the induced antigen-specific antibody may be involved in the cancer suppressive effects. We are now establishing the in vitro and in vivo research systems focusing the endocytosis and intracellular localization of MHC class 1 and class 2, and cancer-antigen crosspresentation. We further continue this research to develop novel medicines for prostate cancer in terms of the anti-cancer immunity.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 癌抗原 免疫原性

1. 研究開始当初の背景

癌標的医療の近年の研究開発においては、新たな分子標的薬の探索とともに癌ワクチンの創製、特に、その効果メカニズムの解明と効果増強法の解明が中心課題となっている。抗癌免疫療法の開発における近年の注目すべき成果として、前立腺癌に対する癌抗原 PAP タンパク質とサイトカイン GM-CSF の融合タンパク質を用いた樹状細胞ワクチン療法: Provenge® (2010年4月、米国 FDA により認可) 確立が挙げられる。また、癌ワクチン効果を期待した様々な癌治療薬の開発が進められ、そこでは強い癌抗原提示能を有する樹状細胞をいかに誘導するかということが最も大きな課題となっている。そして、癌抗原提示能の本態である癌抗原クロスプレゼンテーション機構そのものについての基礎的研究が世界的に進められている。こうした背景のもと、本研究を実施した。

2. 研究の目的

本研究では、樹状細胞分化の際のどのような細胞内シグナルが癌抗原クロスプレゼンテーション機構の構築に関与するかを明らかにし、樹状細胞の癌抗原提示能を確立させる分子基盤を解明することを目的とした。さらに、樹状細胞分化・癌抗原提示能獲得の最適化の観点から、難治性前立腺癌に対する新規の癌ワクチン創薬につなげることを目的とした。

3. 研究の方法

各種前立腺癌抗原-融合タンパク質群および担癌マウスモデルを用いて、*in vivo* 研究および *in vitro* 研究を実施した。また、従来研究をしてきた REIC (reduced expression in immortalized cell) タンパク質のサイトカイン様機能についても、各種の動物実験系を用いて、また各種のアデノウイルスベクター等による強制発現系を用いた研究を実施した。特に、各種癌抗原-融合タンパク質群について、樹状細胞が持つ癌抗原クロスプレゼンテーション機構がどのように構築されるのかを解明する為の基盤となる癌抗原の同定、また担癌マウスモデル実験系の抽出を行った。

4. 研究成果

今回、独自に開発した融合タンパク質群および担癌マウスモデルを用いて、樹状細胞分化の際のどのような細胞内シグナルが癌抗原クロスプレゼンテーション機構の構築に関与するかを明らかにし、樹状細胞の癌抗原提示能を確立させる分子基盤を解明する為の基盤研究を実施した。癌抗原としては前立腺酸性ホスファターゼ (PAP)、前立腺特異抗原 (PSA)、Prostate specific membrane antigen (PSMA)、Melanoma associated antigen-A4 (MAGEA4)、Extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) 等のタンパク質に焦点を当てて、これらの前立腺癌抗原を含む融合タンパク質を用いて研究を進めてきた。今回の研究により、サイトカイン (GM-CSF や IL-4 等) をそれぞれ融合させた癌抗原-cytokine 融合タンパク質を担癌マウスモデルに投与することにより、当該前立腺癌抗原に対する特異抗体の産生量に大きな違いがあることが明らかとなった。現在、担癌マウスモデルにおける抗癌作用が液性免疫主体なのか、細胞性免疫主体なのかを明らかにする為の研究も実施している。抗癌サイトカイン様機能を持つ REIC タンパク質についても、各種の動物実験系を用いて、またアデノウイルスベクター等による強制発現系を用いた研究を展開し成果を得た。抗癌免疫の確立には、生体内における各種細胞での MHC クラス 1 およびクラス 2 タンパク質の発現と細胞内動態が極めて重要である。本研究の実施により、これらの MHC 分子のエンドサイトーシスと細胞内動態を癌抗原クロスプレゼンテーション機構の構築と一体化して解析する研究系が確立されつつある。今回の研究により、癌抗原の免疫原性の成立が、癌細胞内での抗原タンパク質消化・ペプチド化プロセスと密接に関わっている可能性が改めて示唆された。引き続き研究を継続し、樹状細胞分化・癌抗原提示能獲得の最適化の観点から、難治性前立腺癌に対する新規の癌ワクチン創薬につなげていく予定である。

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 10件)

Putranto EW, Kinoshita R, Watanabe M, Sadahira T, Murata H, Yamamoto KI, Futami J, Kataoka K, Inoue Y, Winarsa Ruma IM, Sumardika IW, Youyi C, Kubo M, Sakaguchi Y, Saito K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH, Sakaguchi M. Expression of tumor suppressor REIC/Dkk-3 by a newly improved adenovirus vector with insertion of a hTERT promoter at the 3'-side of the transgene. *Oncol Lett.* 査読有. 2017 Jul;14(1): 1041-1048. doi: 10.3892/ol.2017.6201.

Sawahara H, Shiraha H, Uchida D, Kato H, Kato R, Oyama A, Nagahara T, Iwamuro M, Horiguchi S, Tsutsumi K, Mandai M, Mimura T, Wada N, Takeuchi Y, Kuwaki K, Onishi H, Nakamura S, Watanabe M, Sakaguchi M, Takaki A, Nouse K, Yagi T, Nasu Y, Kumon H, Okada H. Promising therapeutic efficacy of a novel reduced expression in immortalized cells/dickkopf-3 expressing adenoviral vector for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol.* 査読有. 2017 Oct;32(10): 1769-1777. doi:10.1111/jgh.13757.

Suzawa K, Shien K, Peng H, Sakaguchi M, Watanabe M, Hashida S, Maki Y, Yamamoto H, Tomida S, Soh J, Asano H, Tsukuda K, Nasu Y, Kumon H, Miyoshi S, Toyooka S. Distant Bystander Effect of REIC/DKK3 Gene Therapy Through Immune System Stimulation in Thoracic Malignancies. *Anticancer Res.* 査読有. 2017 Jan;37(1):301-307. PubMed PMID: 28011506.

Oka T, Kurozumi K, Shimazu Y, Ichikawa T, Ishida J, Otani Y, Shimizu T, Tomita Y, Sakaguchi M, Watanabe M, Nasu Y, Kumon H, Date I. A super gene expression system enhances the anti-glioma effects of adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene therapy. *Sci Rep.* 査読有. 2016 Sep 14;6:33319. doi: 10.1038/srep33319.

Sawahara H, Shiraha H, Uchida D, Kato H, Nagahara T, Iwamuro M, Kataoka J, Horiguchi S, Watanabe M, Sakaguchi M, Takaki A, Nouse K, Nasu Y, Kumon H, Okada

H. Novel REIC/Dkk-3-encoding adenoviral vector as a promising therapeutic agent for pancreatic cancer. *Cancer Gene Ther.* 査読有. 2016 Aug;23(8):278-83. doi:10.1038/cgt.2016.31.

Ariyoshi Y, Watanabe M, Eikawa S, Yamazaki C, Sadahira T, Hirata T, Araki M, Ebara S, Nasu Y, Usono H, Kumon H. The induction of antigen-specific CTL by in situ Ad-REIC gene therapy. *Gene Ther.* 査読有. 2016 May;23(5):408-14. doi:10.1038/gt.2016.7.

Ochiai K, Morimatsu M, Kato Y, Ishiguro-Oonuma T, Udagawa C, Rungsuriyawiboon O, Azakami D, Michishita M, Ariyoshi Y, Ueki H, Nasu Y, Kumon H, Watanabe M, Omi T. Tumor suppressor REIC/DKK-3 and co-chaperone SGTA: Their interaction and roles in the androgen sensitivity. *Oncotarget.* 査読有. 2016 Jan 19;7(3):3283-96. doi:10.18632/oncotarget.6488.

Uchida D, Shiraha H, Kato H, Sawahara H, Nagahara T, Iwamuro M, Kataoka J, Horiguchi S, Watanabe M, Takaki A, Nouse K, Nasu Y, Kumon H, Yamamoto K. Synergistic anti-pancreatic cancer immunological effects by treatment with reduced expression in immortalized cells/dickkopf-3 protein and peripheral blood mononuclear cells. *J Gastroenterol Hepatol.* 査読有. 2016 Jun;31(6):1154-9. doi: 10.1111/jgh.13259.

Kumon H, Sasaki K, Ariyoshi Y, Sadahira T, Araki M, Ebara S, Yanai H, Watanabe M, Nasu Y. Feasibility of Neoadjuvant Ad-REIC Gene Therapy in Patients with High-Risk Localized Prostate Cancer Undergoing Radical Prostatectomy. *Clin Transl Sci.* 査読有. 2015 Dec;8(6):837-40. doi: 10.1111/cts.12362.

Fujio K, Watanabe M, Ueki H, Li SA, Kinoshita R, Ochiai K, Futami J, Watanabe T, Nasu Y, Kumon H. A vaccine strategy with multiple prostatic acid phosphatase-fused

cytokines for prostate cancer treatment.
Oncol Rep. 査読有.2015 Apr;33(4):1585-92.
doi: 10.3892/or.2015.3770.

〔学会発表〕(計 0件)

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0件)

取得状況(計 0件)

〔その他〕

特になし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

那須 保友 (NASU, YASUTOMO)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授
研究者番号: 20237572

(2) 研究分担者

渡辺 豊彦 (WATANABE, TOYOHIKO)
岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授
研究者番号: 30432644

(3) 研究分担者

植木 英雄 (UEKI, HIDEO)
岡山大学・医学部・技術専門職員
研究者番号: 90537218