

令和 4 年 10 月 25 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05044

研究課題名（和文）がん免疫治療の飛躍的向上をもたらすがん特異的免疫増強剤と抑制分子標的阻害剤の開発

研究課題名（英文）Development of the augmenting agent of cancer-specific immune responses and the inhibitor against the immune suppressive molecule for promoting cancer immunotherapy

研究代表者

杉浦 喜久弥（Sugiura, Kikuya）

大阪府立大学・生命環境科学研究科・教授

研究者番号：30171143

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,100,000円

研究成果の概要（和文）：樹状細胞（DC）を標的とするトル様レセプターリガンドとDCの抗原提示能を増強するpH感受性ポリマーを接合したリポソームは、がん抗原に特異的な細胞傷害反応を非常に強く誘導し、担がんマウスモデルにおける腫瘍の成長を非常に有意に抑制した。よって、本リポソームは、がん抗原に対する免疫反応を強力に惹起・賦活することが判明した。また、免疫抑制分子であるCTLA-4を阻害するために、ライブラリーから選択分離したヒトCTLA-4標的ペプチドは、イヌDCにも特異的に結合し、T細胞の抗原特異的反応を有意に増強した。よって、本ペプチドは、CTLA-4とB7の結合を効果的に阻害し、免疫反応を増強できることが判明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん免疫治療は、患者の免疫機構を利用してがんを治療する方法で、副作用がほとんどなく安全である反面、治療効果が低いため、治癒を目的として単独で用いられることは非常に少ない。しかし、がんが死因の多くを占め、さらに増加を示す今日では、患者の身体的負担を極力軽減し、且つ効果的ながん治療法を開発することが必要であり、そのためには、がん免疫治療の効果向上が最も重要な課題である。本研究において開発したがん特異的免疫増強剤と抑制分子標的阻害剤は、非常に高い治療効果を示した。これらを臨床応用することができれば、人と動物のがん治療に大きな進展をもたらすと考える。

研究成果の概要（英文）：The agent for augmenting cancer-specific immune responses was developed with the liposome conjugated with a ligand of dendritic cell (DC)-targeting toll-like receptor and a pH-sensitive polymer that enhances antigen-presentation by DC. The agent significantly enhanced cancer antigen-specific cytotoxic T cell activity, and significantly suppressed growth of cancer cells in syngeneic mice. On the other hand, the peptide targeting an immune suppressive molecule, CTLA-4 was generated against recombinant human CTLA-4-Ig by east-display and error-prone PCR methods. The targeting-peptide showed potent binding activity to canine DCs, and significantly enhanced canine T cell responses against allogeneic DCs, suggesting that the targeting peptide effectively block the binding between CTLA-4 on T cells and B7 on DCs. These agents will be promising tool for promoting therapeutic effect of cancer immunotherapy in human and veterinary medicine.

研究分野：がん免疫治療

キーワード：がん免疫治療 抗原特異的免疫増強剤 免疫抑制分子阻害剤 トランスレーショナルリサーチ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

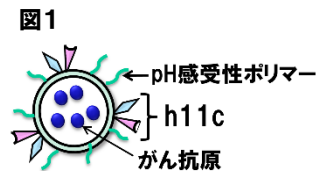
1. 研究開始当初の背景

がん免疫治療は、患者の免疫機構を利用してがんを治療する方法で、副作用がほとんどなく、安全である反面、治療効果が低いため、治癒を目的として単独で用いられることは非常に少ない。しかしながら、がんが死因の多くを占め、さらに増加を示す今日では、患者の身体的負担を極力軽減し、且つ効果的ながん治療法を開発することが必要であり、そのためには、がん免疫治療の効果向上が最も重要な課題であると考えられる。がん免疫治療の効果向上には、「i) がん抗原に対する免疫反応を強力に惹起・賦活すること」、「ii) がん免疫細胞の活性を増強する環境をがん組織内に創ること」、「iii) 賦活されたがん免疫反応を長期間維持すること」の達成が必要である。このうち、がん免疫細胞の活性を増強する環境については、先行する研究において、樹状細胞 (DC) を成熟活性化するサイトカインである CD40 リガンドと細胞障害性 T リンパ球 (CTL) を活性化するサイトカインであるインターフェロンガンマの遺伝子をがん細胞に導入することによってがん免疫を増強する環境を構築し、治療効果を著しく高めることに成功している。

2. 研究の目的

本研究では、がん抗原に対する免疫反応を強力に惹起・賦活し、賦活されたがん免疫反応を長期間維持するため、がん抗原特異的免疫増強剤および免疫抑制分子標的阻害剤の開発を試みた。

(1) がん抗原特異的免疫増強剤： DC は、抗原特異的免疫反応を惹起および強力に賦活する唯一の細胞である。したがって、がん抗原に対する特異的免疫反応を強化するには DC の抗原提示能および活性を高めることが最も効果的かつ効率的である。がん細胞を攻撃するエフェクターの主体である CD8+ CTL の活性惹起には、外来抗原を主要組織適合複合体 (MHC) Class II 分子ではなく、Class I 分子に提示すること (クロスプレゼンテーション) が必要である。大阪府立大学工学研究科生体高分子化学研究グループによって開発された **pH 感受性リポソーム** は、クロスプレゼンテーションの効率を著しく高めることができる (Yuba et al. Biomaterials 2008)。一方、赤澤らによって開発された新規免疫活性化物質である **h11c** は、トル様レセプター (TLR) 2 に対するリガンドと DC に強発現する CD11c に結合する分子で構成される。そのため、DC が提示した抗原に対する免疫反応のみを活性化できる (Int J Cancer 2014)。本研究では、がん抗原を内包した pH 感受性リポソームに h11c を組み込んだ「がん抗原特異的免疫増強剤」(図 1) を作製し、腫瘍増殖抑制効果を検討した。



(2) 免疫抑制分子標的阻害剤： CTLA-4 は、過剰な免疫反応による組織の損傷を回避するため、免疫チェックポイントと呼ばれており、CTL の活性化を担う CD28 から結合相手である DC 上の B7 を奪い取り、代わって結合することにより、抑制シグナルを発生して CTL の活性を低下させる。また、制御性 T リンパ球 (Treg) 上の CTLA-4 は、B7 との結合によって Treg を活性化し、免疫反応をさらに抑制する。よって、CTLA-4 と B7 間の結合を阻害すれば、一度惹起させたがん免疫反応を長期間維持させることが可能である。ヒトでは、CTLA-4 の機能を阻害するモノクローナル抗体が作製され、がん治療に用いられている。しかし、これらの治療抗体は、分子量が大きく、免疫原性を示すので、免疫グロブリンの分子骨格をマウスのものから治療対象動物のものへ置き換える必要があり、また、合成することが困難である。さらに、作製後に標的に対する親和性を向上させることができない。一方、分子標的ペプチドは、免疫原性を示さない合成可能な低分子で、標的に対する親和性を向上できる。そこで、本研究では、イヌのがん治療に向けた新規免疫チェックポイント阻害剤の開発を目的として、helix-loop-helix (HLH) 構造を持つペプチドライブラリーからヒト CTLA-4 を標的とするペプチドを選別し、標的分子に対する親和性を向上させ、最終的にイヌの T 細胞活性に対する効果を検討した。

3. 研究の方法

(1) がん抗原特異的免疫増強剤：

① 担がんマウスモデルの作製： C57BL/6 (B6) 由来マウスリンパ腫株である EL-4 に卵白アルブミン (OVA) 遺伝子を導入し、人工抗原として MHC Class I 分子上に発現させた E. G7-OVA (E. G7) を B6 マウスの背側皮下に接種して成長させ、担がんマウスを作製した。

② がん抗原特異的免疫増強剤の作製： pH 感受性ポリマーとして、2-carboxychohexane-1-carboxylated poly-glycidol (ChexPG) を用い、h11c とともに egg yolk phosphatidylcholine の薄層膜に接合させた。形成した薄層膜によって抗原である OVA を内包したリポソーム (**[h11c-Chex]**) を作製し、超遠心によって精製した。コントロールとして、ChexPG のみを接合させたリポソーム (**[Chex]**)、h11c のみを接合させたリポソーム (**[h11]**) および無接合のリポソーム (**[Un]**) を作製した。

③ 抗原特異的 CTL の誘導効果の検討： B6 マウスの footpad に上記の 4 種類のリポソームおよび free h11c と free OVA の混合物を 1 回の投与につき総 h11c 量 10 nmol、総 OVA 量 10 µg の条件で、7 日間隔で 2 回注射し、その 7 日後に膝窩リンパ節を採取した。採取したリンパ節細胞を ⁵¹Cr でラベルした E. G7-OVA または EL-4 に反応させ、それらに対する障害反応を腫瘍細胞から放出された ⁵¹Cr を測定して評価した。

④ がん成長抑制効果の検討： 担がんマウスモデルに、上記の 4 種類のリポソームおよび free h11c と free OVA の混合物を 1 回の投与につき総 h11c 量 10 nmol、総 OVA 量 15 µg の条件で、週に 3

回、2週間投与した。腫瘍成長抑制効果は、腫瘍の体積の経時的変化および投与開始後60日までの生存率によって評価した。

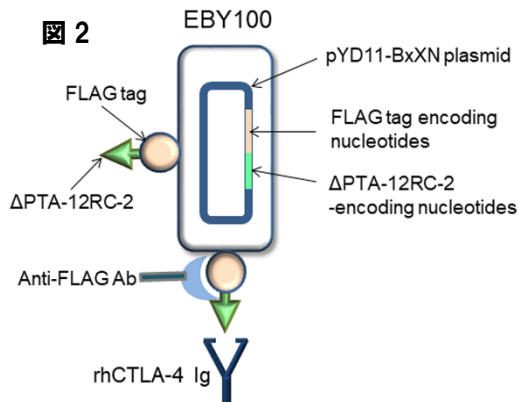
(2) 免疫抑制分子標的阻害剤：

①イヌ DC およびイヌ T 細胞の準備：抗ヒト CD14 抗体に鉄コロイドを結合させたマイクロビーズを用いた磁気細胞分離法により、ビーグル種犬の末梢血単核細胞から単球を分離し、それをイヌ顆粒球・マクローファージ・コロニー刺激因子およびイヌインターロイキン4 (IL-4) と7日間培養して DC へ分化させた。また、ナイロンウールカラムを用いてイヌの末梢血単核細胞から T 細胞を分離した。

②ヒト CTLA-4 のイヌ免疫細胞への (交差) 反応の検討：ヒト組み換え体 (rh) CTLA-4 とヒト Ig G のキメラタンパクである rhCTLA-4-Ig のイヌ CD への結合性をフローサイトメトリーによって評価した。また、異系 (allogeneic: アロ) のイヌ DC に対するイヌ T 細胞の反応 (混合リンパ球反応) に rhCTLA-4-Ig を添加し、反応に対する抑制効果を検討した。

③ヒト CTLA-4 標的ペプチドの選択分離：i) 酵母表面ディスプレイ法によるヒト CTLA-4 結合ペプチドの選択：図2に示すように、HLH ペプチドライブラリーの ΔPTA-12RC-2 の cDNA と FLAG tag の cDNA を pYD11-BxXN プラスミドに挿入して EBY100 酵母株に導入することにより、EBY100 の表面に FLAG tag に結合した ΔPTA-12RC-2 ライブラリーを提示させた。蛍光標識した rhCTLA-4-Ig と抗 FLAG tag 抗体を用いて、fluorescence activated cell sorting (FACS) 法により、ヒト CTLA-4 に結合ペプチドを発現する EBY100 のクローンを選択分離した。ii) error-prone PCR 法による CTLA-4 に対する親和性の増強：i) で得られたクローンの cDNA をテンプレートとして error-prone PCR を行い、ランダムに数塩基を変換した。変換した cDNA を pYD11-BxXN プラスミドに挿入して EBY100 酵母株に導入し、i) と同様にヒト CTLA-4 に結合ペプチドを発現する EBY100 のクローンを選択分離した。選択したペプチドのうち、CTLA-4 に対する親和性の最も高いものを cDNA の配列を基に合成した。

④ヒト CTLA-4 標的ペプチドのイヌ免疫細胞およびその反応に対する影響の検討：イヌの DC を一定濃度 (30 nM) の rhCTLA-4-Ig と反応させ、そこに様々な濃度のヒト CTLA-4 標的ペプチドを添加して、rhCTLA-4-Ig のイヌ DC への結合性をフローサイトメトリーで検討した。また、アロのイヌ DC に対するイヌ T 細胞の反応に様々な濃度のヒト CTLA-4 標的ペプチドを添加し、反応への影響を検討した。

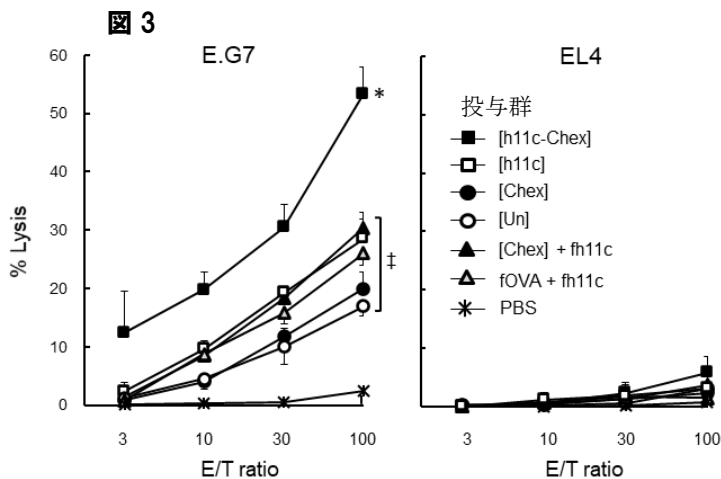


4. 研究成果

(1) がん抗原特異的免疫増強剤：

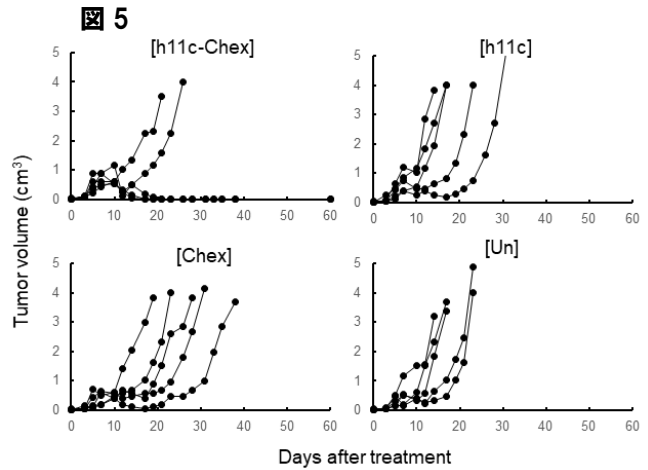
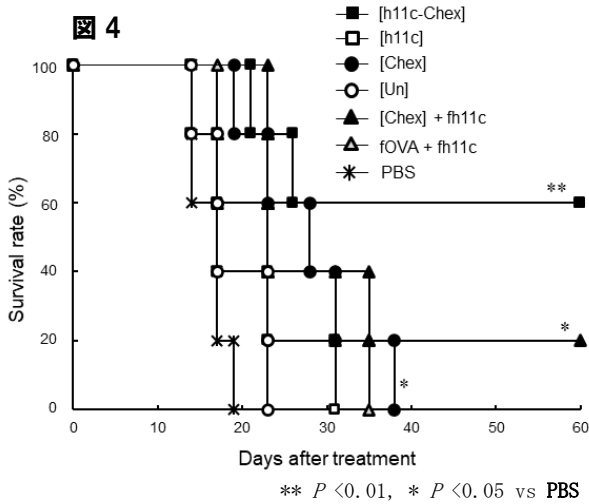
①抗原特異的免疫増強剤による DC の活性化および抗原提示能力の増強：OVA を内包した抗原特異的免疫増強剤 (h11c-pH 感受性リポソーム：[h11c-Chex]) およびコントロールリポソーム ([Chex]、[h11]、[Un]) を DC に作用させたところ、[h11c-Chex] は、コントロールリポソームに比べ、有意に多くの IL-12 の産生を誘導し、DC の活性を有意に高めることが判明した。また、DC の MHC Class I 分子上に提示される OVA エピトープの量も有意に多く、DC の抗原提示能を有意に高めることも明らかとなった。

②がん抗原特異的免疫増強剤による抗原特異的 CTL 誘導の亢進：図3に示すように、OVA を内包した h11c-pH 感受性リポソーム ([h11c-Chex]) を投与した B6 マウスの所属リンパ節から採取したリンパ球は、コントロールリポソーム ([Chex]、[h11]、[Un])、free h11c と free OVA の混合物 (fOVA + fh11c) およびリン酸緩衝食塩水 (PBS) を投与したマウスのリンパ節から採取したリンパ球と比較して、OVA を抗原として発現する E. G7-OVA (E. G7) に対して有意に高い細胞障害反応を示した。他方、E. G7 の親細胞株で OVA を発現していない EL4 に対しては、ほとんど細胞障害反応を示さなかった。これらの結果から、が



*他の投与群と比較して有意に高い (P < 0.01)
 ‡PBS 投与群と比較して有意に高い (P < 0.05)

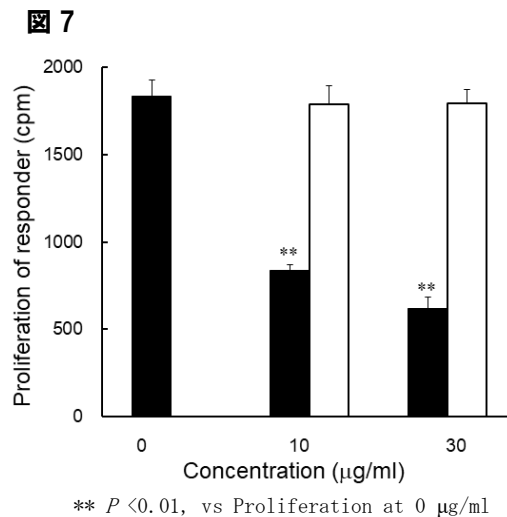
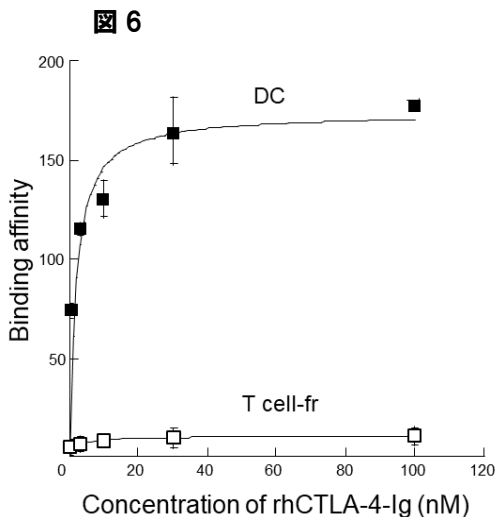
ん抗原特異的免疫増強剤は、がん抗原特異的 CTL の誘導を有意に亢進することが明らかとなった。



③がん抗原特異的免疫増強剤によるがん成長抑制効果の増強： E. G7 を背側皮下に移植した B6 マウスに対して、OVA を内包した h11c-pH 感受性リポソーム ([h11c-Chex]) およびコントロールリポソーム ([Chex]、[h11]、[Un]) を投与したところ、図 4 に示すように、[h11c-Chex] 投与群は、設定したエンドポイントの 60 日までに 60% (5 匹中 3 匹) が生存し、PBS 投与群と比較して有意に高い生存率を示した。さらに、図 5 に示すように、60 日までに生存した個体では、腫瘍の体積が処置開始後 10 日までは増加するが、その後減少し、60 日までに完全に消失した。また、pH 感受性リポソームと free h11c の混合物 ([Chex]+ fh11c) を投与した群でエンドポイントにおいて 20% (5 匹中 1 匹) 生存が認められ、生存した個体では腫瘍が消失していた。[Chex] 投与群の生存率は、PBS 投与群に比べて有意に高かったが、エンドポイントまで生存した個体はなかった。その他のコントロールリポソームの投与群でも、腫瘍が一旦減少した個体も見られたが、処置開始後 20 日~30 日で再び増加し、それ以降減少することはなかった (図 5)。

④結論：以上の結果から、抗原特異的免疫増強剤である h11c-pH 感受性リポソームは、DC の成熟・活性化および MHC Class I 分子上への抗原提示能を著しく亢進し、それによって抗原特異的細胞傷害反応を有意に増強させた。よって、同増強剤は、がん抗原に対する免疫反応を強力に惹起・賦活し、がんの成長を著しく抑制することができることが明らかとなった。

(2) 免疫抑制分子標的阻害剤：



①ヒト CTLA-4 のイヌ免疫細胞への交差反応性：図 6 に示すように、rhCTLA-4-Ig は、濃度依存的にイヌ DC への結合が高まった。それに対して、イヌ T 細胞 (T cell-fr) への結合は、濃度を増加させても低いままであった。また、図 7 に示すように、rhCTLA-4-Ig は、アロイヌ DC に対するイヌ T 細胞の反応を抑制し、その効果は濃度に相関した。これらの結果から、rhCTLA-4-Ig は、イヌ DC 上の B7 分子に結合し、同分子とイヌ T 細胞上の CD28 との結合を阻害することにより、イヌ T 細胞の活性化を阻害することが示され、ヒト CTLA-4 はイヌ免疫細胞に対して交差反応性を持つことが判明した。よって、ヒト CTLA-4 に対する標的ペプチドは、イヌ CTLA-4 にも結

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 16件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Wijesekera Daluthgamage Patsy Himali, Yuba Eiji, De Silva Nadeeka Harshini, Watanabe Shunichi, Tsukamoto Masaya, Ichida Chihiro, Izawa Takeshi, Itoh Kazuyuki, Kanegi Ryoji, Hatoya Shingo, Yamate Jyoji, Inaba Toshio, Sugiura Kikuya	4. 巻 2
2. 論文標題 Manipulation of the tumor microenvironment by cytokine gene transfection enhances dendritic cell based immunotherapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 FASEB BioAdvances	6. 最初と最後の頁 5~17
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1096/fba.2019-00052	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 Ramanayake Mudiyanseelage TMR, Michigami M, Ye Z, Uyeda A, Inoue N, Sugiura K, Fujii I, Fujiwara D	4. 巻 15
2. 論文標題 An immune-stimulatory helix-loop-helix peptide: selective inhibition of CTLA-4/B7 interaction.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 ACS Chem Biol	6. 最初と最後の頁 360-368
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscchembio.9b00743	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 Alam ME, Iwata J, Fujiki K, Tsujimoto Y, Kanegi R, Kawate N, Tamada H, Inaba T, Sugiura K, Hatoya S	4. 巻 81
2. 論文標題 eline embryo development in commercially available human media supplemented with fetal bovine serum	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 629-635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.18-0335	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 Tsujimoto Y, Fujiki K, Alam ME, Tsukamoto M, Azuma R, Kanegi R, Anzai M, Inaba T, Sugiura K, Hatoya S.	4. 巻 65
2. 論文標題 Development of feline embryos produced by Piezo-actuated intracytoplasmic sperm injection of elongated spermatids.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Reprod. Dev.	6. 最初と最後の頁 245-250
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1262/jrd.2018-119	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 Kanegi R, Yasugi M, Nabetani T, Tanaka T, Wada Y, Hirai K, Sugiura K, Hatoya S	4. 巻 81
2. 論文標題 Clinical findings and treatment of disseminated 'Mycobacterium avium subspecies hominissuis' infection in a domestic cat.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci.	6. 最初と最後の頁 1842-1849
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0492	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 Akazawa T, Ohashi T, Wijewardana V, Sugiura K, Inoue N	4. 巻 109
2. 論文標題 Development of a vaccine based on bacteria-mimicking tumor cells coated with novel engineered toll-like receptor 2 ligands.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Sci.	6. 最初と最後の頁 1319-1329
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13576	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 Tsukamoto M, Nishimura T, Yodoe K, Kanegi R, Tsujimoto Y, Alam ME, Kuramochi M, Kuwamura M, Ohtaka M, Nishimura K, Nakanishi M, Inaba T, Sugiura K, Hatoya S	4. 巻 22
2. 論文標題 Generation of Footprint-Free Canine Induced Pluripotent Stem Cells Using Auto-Erasable Sendai Virus Vector.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Stem Cells Dev.	6. 最初と最後の頁 1577-1586
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2018.0084	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 Nishimura T, Hatoya S, Kanegi R, Wijesekera DPH, Sanno K, Tanaka E, Sugiura K, Hiromitsu Tamada NK, Imai H, Inaba T	4. 巻 84
2. 論文標題 Feeder-independent canine induced pluripotent stem cells maintained under serum-free conditions.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Mol. Reprod. Dev	6. 最初と最後の頁 329-339
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/mrd.22789	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 Nishimura T, Unezaki N, Kanegi R, Wijesekera DPH, Hatoya S, Sugiura K, Kawate N, Tamada H, Imai H, Inaba T	4. 巻 26
2. 論文標題 Generation of canine-iInduced extraembryonic endoderm-like cell line That forms both extraembryonic and embryonic endoderm derivatives.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Stem Cells Dev.	6. 最初と最後の頁 1111-1120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/scd.2017.0026	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 De Silva NH, Akazawa T, Wijewardana V, Inoue N, Oyamada M, Ohta A, Tachibana Y, Wijesekera DPH, Kuwamura M, Nishizawa Y, Itoh K, Izawa T, Hatoya S, Hasegawa T, Yamate J, Inaba T, Sugiura K	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of effective tumor immunotherapy using a novel dendritic cell-targeting Toll-like receptor ligand.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 PLoS One	6. 最初と最後の頁 e0188738
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0188738	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 Masuda K, Tsutsuki H, Kasamatsu S, Ida T, Takata T, Sugiura K, Nishida M, Watanabe Y, Sawa T, Akaike T, Ihara H	4. 巻 495
2. 論文標題 Involvement of nitric oxide/reactive oxygen species signaling via 8-nitro-cGMP formation in 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced neurotoxicity in PC12 cells and rat cerebellar granule neurons.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun	6. 最初と最後の頁 2165-2170
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.12.088	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 Ushigusa T, Koyama Y, Ito T, Watanabe K, Chambers JK, Hasegawa A, Uchida K, Kanegi R Hatoya S, Inaba T, Sugiura K	4. 巻 80
2. 論文標題 Innate immunity mediated by dendritic cells/macrophages plays a central role in the early period in tumor treatment using gene of Mycobacterium tuberculosis antigen.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J. Vet. Med. Sci	6. 最初と最後の頁 190-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.17-0466	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 E. Yuba, S. Uesugi, M. Miyazaki, Y. Kado, A. Harada, K. Kono	4. 巻 7
2. 論文標題 Development of pH-sensitive dextran derivatives with strong adjuvant function and their application to antigen delivery	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Membranes	6. 最初と最後の頁 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/membranes7030041	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 E. Yuba, N. Sakaguchi, Y. Kanda, M. Miyazaki, K. Koiwai	4. 巻 5
2. 論文標題 pH-responsive micelle-based cytoplasmic delivery system for induction of cellular immunity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Vaccines	6. 最初と最後の頁 41
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/vaccines5040041	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 Kanegi R, Hatoya S, Tsujimoto Y, Takenaka S, Nishimura T, Wijewardana V, Sugiura K, Takahashi M, Kawate N, Tamada H, Inaba T	4. 巻 86
2. 論文標題 Production of feline leukemia inhibitory factor with biological activity in Escherichia coli.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Theriogenology	6. 最初と最後の頁 604-611
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.theriogenology.2016.02.013	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 Koyama Y, Ito T, Hasegawa A, Eriguchi M, Inaba T, Ushigusa T, Sugiura K.	4. 巻 38
2. 論文標題 Exosomes derived from tumor cells genetically modified to express Mycobacterium tuberculosis antigen: a novel vaccine for cancer therapy.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Biotechnol Lett	6. 最初と最後の頁 1857-1866
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10529-016-2185-1	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 RAMANAYAKE MUDIYANSELAGE Tharanga MR、FUJIWARA Daisuke、MICHIGAMI Masataka、WATANABE Shunichi、YE Zhengmao、UEDA Atsuko、KANEKI Ryoji、HATOYA Shingo、FUJII Ikuo、SUGIURA Kikuya	4. 巻 84
2. 論文標題 Generation of molecular-targeting helix-loop-helix peptides for inhibition of the interaction between cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 and B7 in the dog	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 1101 ~ 1107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.21-0318	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 -

〔学会発表〕 計19件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 上垣まい、渡邊駿一、弓場英司、鳩谷晋吾、杉浦喜久弥
2. 発表標題 腫瘍微小環境へのサイトカイン遺伝子の導入操作による樹状細胞療法の増強
3. 学会等名 日本獣医再生医療学会第
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 柿原優佳、弓場英司、Nadeeka De Silva H、赤澤隆、井上徳光、金城綾二、鳩谷晋吾、稲葉俊夫、杉浦喜久弥
2. 発表標題 高効率アジュバントを用いた腫瘍免疫治療の検討
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大内若菜、牛草貴博、小山義之、伊藤智子、渡辺謙一、CHAMBERS Jamew K、内田和幸、金城綾二、鳩谷晋吾、稲葉俊夫、杉浦喜久弥
2. 発表標題 ESAT-6 DNA導入による腫瘍治療効果の免疫組織化学的解析
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 MD EMTIAJ ALAM、花房佳祐、鳩谷晋吾、辻本恭典、稲葉俊夫、杉浦喜久弥
2. 発表標題 Development competence of domestic cat oocytes from ovaries stored at various durations at 4 C in different solution.
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塚本雅也、西村俊哉、金城稜二、倉持瑞樹、桑村充、大高真奈美、西村健、中西真人、稲葉俊夫、杉浦喜久弥、鳩谷晋吾
2. 発表標題 治療や病因解明への応用可能なiPS細胞の作製
3. 学会等名 第161回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kosuke Mitani, Yuki Ito, Yukio Takene, Eui Man Jeong, Heun-Soo Kang, In-Gyu Kim, Toshio Inaba, Shingo Hatoya, Kikuya Sugiura
2. 発表標題 Isolation and Qualification of Canine and Feline Mesenchymal Stem Cells by Monitoring of Glutathione Levels
3. 学会等名 第5回国際組織工学・再生医療学会（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 R.M.T.M. Ramanayake, D. Fujiwara, M. Michigam, K. Sugiura, I. Fujii
2. 発表標題 Generation of Helix-Loop-Helix peptide inhibitor of the interaction between human -CTLA-4 and B7
3. 学会等名 第10回国際ペプチドシンポジウム（国際学会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 杉浦喜久弥、小山義之、伊藤智子、長谷川綾、大内若菜、江里口正純、稲葉俊夫
2. 発表標題 結核菌抗原を「人工ネオアンティジェン」として提示したエクソソームによる腫瘍治療効果の検討
3. 学会等名 第14回獣医再生医療学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小山義之、伊藤智子、長谷川綾、大内若菜、稲葉俊夫、江里口正純、杉浦喜久弥
2. 発表標題 結核菌抗原を「人工ネオアンティジェン」として提示したエクソソームによる抗腫瘍免疫活性化のメカニズム
3. 学会等名 第16回日本免疫治療学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高木彩夏、Nadeeka De Silva、弓場英司、Wijesekera H Daluthgamage Patsy、鳩谷普吾、金城綾二、稲葉俊夫、杉浦喜久弥
2. 発表標題 サイトカイン遺伝子導入による内臓転移腫瘍に対する治療効果の検討
3. 学会等名 第160回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kikuya Sugiura, Daluthgamage Patsy Himali Wijesekera, Eiji Yuba, Nadeeka Harshini De Silva, Shingo Hatoya, Tosho Inaba
2. 発表標題 Manipulation of tumor microenvironment by cytokine gene transfection enhances dendritic cell-based immunotherapy
3. 学会等名 第46回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 E. Yuba, A. Yamaguchi, A. Harada, K. Kono
2. 発表標題 pH-sensitive polysaccharides-based immunity-inducing systems
3. 学会等名 第66回高分子学会年次大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 弓場英司, 能崎優太, 原田敦史, 宇高恵子, 西村泰治, 河野健司
2. 発表標題 pH応答性多糖修飾リボソームの抗原ペプチドデリバリーキャリアとしての機能
3. 学会等名 第33回日本DDS学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 杉浦喜久弥
2. 発表標題 抗腫瘍免疫反応を増強した樹状細胞療法の開発の試み
3. 学会等名 2016年日本獣医臨床病理学会 (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Sugiura K, Wijesekera DPH, Ichida C, Yuba E, Kono K, Yamate J, Kanegi R, Nishimura T, De Silva N, Hatoya Y, Inaba T
2. 発表標題 Manipulation of tumor microenvironment by cytokine gene transfection enhances dendritic cell-based immunotherapy
3. 学会等名 第17回国際免疫学会 (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 長谷川綾, 牛草貴博, 小山義之, 伊藤智子, 鳩谷晋吾, 杉浦喜久弥, 稲葉俊夫
2. 発表標題 結核菌抗原遺伝子を用いた腫瘍治療メカニズムも解明
3. 学会等名 第159回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 畦崎直哉, 西村俊哉, 金城綾二, Himali Wijesekera, 鳩谷晋吾, 杉浦喜久弥, 川手憲俊, 玉田尋通, 今井裕, 稲葉俊夫
2. 発表標題 iPS体細胞を用いた人口誘導胚体外内胚葉の作製と肝細胞への分化誘
3. 学会等名 第159回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 沖田良太, 鳩谷晋吾, 杉浦喜久弥, 大高真奈美, 西村建, 中西真人, 稲葉俊夫
2. 発表標題 ネコ」iPS細胞株のセンダイウイルスベクターを用いた作製
3. 学会等名 第159回日本獣医学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 杉浦喜久弥
2. 発表標題 がん免疫治療の強化を目的とした遺伝子治療
3. 学会等名 第12回日本獣医再生医療学会(招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	弓場 英司 (YUBA Eiji) (80582296)	大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授 (24403)	
研究分担者	藤原 大佑 (FUJIWARA Daisuke) (30611420)	大阪府立大学・理学(系)研究科(研究院)・助教 (24403)	
研究分担者	赤澤 隆 (AKAZAWA Takashi) (80359299)	地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪国際がんセンター (研究所)・その他部局等・主任研究員 (84409)	
研究分担者	鳩谷 晋吾 (HATOYA Shingo) (40453138)	大阪府立大学・生命環境科学研究科・准教授 (24403)	

	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
研究協力者	河野 健司 (KONO Kenji)		2016年4月～2017年4月
研究協力者	藤井 郁雄 (Fujii Ikuo)		

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	稲葉 俊夫 (INABA Toshio)		

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