

令和 3 年 4 月 21 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K10109

研究課題名(和文)ピフィズス菌をプラットフォームとした経口がんワクチンの有効性の機序の解明

研究課題名(英文)Clarification of the mechanism of effectiveness of the oral cancer vaccine a platform expressing a cancer antigen

研究代表者

橋井 佳子 (Hashii, Yoshiko)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座准教授

研究者番号：60343258

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：我々はBifidobacterium longum をプラットフォームとしてWT1 蛋白を表層発現させた新規経口がんワクチン(BL420)を作製した。本ワクチンはBL420はパイエル板からCD103+樹状細胞に取り込まれ、活性化させる。この樹状細胞がCD8T細胞を活性化、WT1特異的キラーT細胞が産生され、抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。BL420は腸内細菌本来の自然免疫の活性化と発現しているWT1蛋白による獲得免疫の両方の活性化により抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

我々の作成したBL420は内服により抗腫瘍効果を発揮する新規癌ワクチンである。マウスモデルにおいてパイエル板に取り込まれて腸管内免疫担当細胞を活性化させ、末梢血でWT1特異的キラーT細胞を検出することができた。このことは本剤がマウスモデルにおいて腸管免疫を利用し抗腫瘍効果を発揮することを示している。本剤は内服であるため将来臨床応用された場合、患者にとって痛みがなく、通院の必要がない。さらにピフィズス菌はすでにプロバイオティクスとして食品で用いられており、安全性が高い。このことより患者の高いQOLを保つことができる。また製剤化においても菌の培養のみであるため容易、安価である。

研究成果の概要(英文)：We conducted a novel oral cancer vaccines (BL420) with the WT1 protein by the surface expressed Bifidobacterium longum as a platform. In this vaccine, BL420 is taken up by CD103 + dendritic cells of Peyer's patches. It was clarified that these dendritic cells activate CD8 T cells, produce WT1-specific killer T cells, and exert an antitumor effect. It was clarified that BL420 exerts an antitumor effect by activating both the innate immunity and the acquired immunity by the expressed WT1 protein.

研究分野：小児がん免疫

キーワード：腸内細菌 癌免疫 WT1 樹状細胞

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年腸内細菌には腸管免疫を介した全身への抗腫瘍効果があることが明らかにされた。

*Bifidobacterium longum* 自体に PD-L1 を阻害することにより抗腫瘍効果を促進する作用があることが報告されている (Science 2015)。

今回、我々は生体最大の免疫組織である腸管を利用した癌ワクチンの作成を試みた。すなわち *Bifidobacterium longum* をプラットフォームとして WT1 蛋白を表面発現させた新規経口がんワクチンである。一方、WT1 遺伝子が Zinc Finger 型転写因子であり白血病細胞や固形がんの悪性としての形質や機能の維持に関わる多くの遺伝子発現を制御しており、この結果 WT1 蛋白はがん免疫療法の標的抗原として適切であるとし、選択した。このビフィズス菌は経口によってマウス白血病株接種モデルマウスに対し腫瘍縮小効果をもち、末梢血中に WT1 特異的キラー T 細胞を誘導することが明らかにされた。このことは本経口癌ワクチンによる腸管粘膜免疫を応用した獲得免疫による全身性抗腫瘍免疫応答の誘導であり、世界に類をみない。本製剤は自然免疫と獲得免疫の両方を活性化させることによって抗腫瘍効果を発揮すると予想される。*Bifidobacterium longum* は腸管粘膜下組織に取り込まれ腸管免疫に関する研究はほとんどが自然免疫である。獲得免疫に関する研究はほとんどなされていない。

### 2. 研究の目的

*Bifidobacterium longum* をプラットフォームとして WT1 蛋白を表面発現させた新規経口がんワクチンを作製した。本ワクチンは腸内細菌本来の免疫すなわち、自然免疫の活性化と発現している WT1 蛋白による獲得免疫の両方の活性化により抗腫瘍効果を発揮すると考えられる。本研究は本ワクチンの抗腫瘍効果を発揮する機序を解明し、さらに強力な抗腫瘍効果を発揮する製剤の開発につなげる。

### 3. 研究の方法

- 1) *Bifidobacterium longum* をプラットフォームとして WT1 蛋白を表面発現させた経口がんワクチン (BF 420) の作成と *B longum*420 における WT1 蛋白の発現をウエスタンブロットで確認する。
- 2) 腸管粘膜 M 細胞への取り込まれたのち、パイエル板で *B longum*420 の振る舞いを明らかにする。  
*B longum* 420 を内服させたマウスの腸管を採取し、固定した後、*B longum* 特異的プローブを用いて FISH 法により *B longum* の局在を明らかにする。
- 3) 腸管粘膜層の樹状細胞を特定し、その性質を明らかにする。  
*B longum*420 内服マウスの腸管を採取し細胞を分離後樹状細胞のマーカーである CD11c<sup>+</sup> 細胞を染色し、その性質をフローサイトメトリー法にて明らかにした
- 4) 刺激されたリンパ球のフェノタイプ、サイトカイン産生状況を検討する。  
*B longum*420 内服マウスの腸管を採取しパイエル板、小腸粘膜、大腸におけるリンパ球の活性化状態を IFN- $\gamma$  産生能によって検討した。

### 4. 研究成果

- 1) *Bifidobacterium longum* をプラットフォームとして WT1 蛋白を表面発現させた経口がんワクチン (BF 420) の作成と *B longum*420 における WT1 蛋白の発現をウエスタンブロット

で確認した。これは培養を長期間おこなっても維持されていた。

- 2) マウス腸管を採取し B longum 特異的プローブを用いて FISH 法により B longum 局在性を検討したところ、小腸腸管管腔、小腸パイエル板に B longum を検出することができた。
- 3) BLongum420 特異的プローブを用いて FISH 法によりマウスパイエル板中の CD11 c + CD103 + 細胞に B Lonugm420 を検出した。非活性化 CD11 c + CD103 - 樹状細胞には検出しなかった。
- 4) B lonugm420 内服マウスの腸管を採取しパイエル板、小腸粘膜、大腸におけるリンパ球の活性化状態を IFN- 産生能を検討したところ、パイエル板、小腸粘膜にて B longum 内服マウスリンパ球中に IFN- 産生が見られた。一方、パイエル板のみに B lonugm 420 で IFN- 産生が認められた。

以上のことから B longum420 はパイエル板から CD11 c + CD103+樹状細胞に取り込まれ、活性化させる。この樹状細胞が CD8T 細胞を活性化、すなわち IFN- を産生し WT1 特異的キラーT細胞が産生され、抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 0件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 橋井佳子	4. 巻 35
2. 論文標題 小児がん治療の晩期合併症を回避するために 免疫療法の開発	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 145-150
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 -

1. 著者名 橋井佳子	4. 巻 34
2. 論文標題 小児がんに対するWT1蛋白を標的とした免疫療法の開発 ペプチドワクチンから経口がんワクチンへ	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 BIO Clinica	6. 最初と最後の頁 969-974
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Hikaru Minagawa, Yoshiko Hashii, Natsuki Nakagawa, Hiroko Nakajima, Yoshihiro Oka, Takane Katayama, Toshiro Shirakawa, Keiichi Ozono
2. 発表標題 The anti-tumor effect of oral cancer vaccine using Bifidobacterium as a platform for displaying Wilms' tumor 1 protein.
3. 学会等名 2019 ASCO-SITC Clinical Immuno-Oncology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hikaru Minagawa, Yoshiko Hashii, Natsuki Nakagawa, Hiroko Nakajima, Yoshihiro Oka, Takane Katayama, Toshiro Shirakawa, Keiichi Ozono
2. 発表標題 The anti-tumor effect of oral cancer vaccine using Bifidobacterium as a platform for displaying Wilms' tumor 1 protein.
3. 学会等名 2019 ASCO-SITC Clinical Immuno-Oncology Symposium (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 経口腫瘍ワクチン	発明者 橋井佳子、大園恵一、白川利朗、片山高嶺	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、15/737758	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

産業財産権の名称 経口腫瘍ワクチンと免疫抑制阻害剤との併用によるがん治療	発明者 橋井佳子、白川利朗、片山高嶺	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2018-558975	出願年 2018年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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	白川 利朗  (Shirakawa Toshirou)  (70335446)	神戸大学・科学技術イノベーション研究科・教授    (14501)	
研究分担者	片山 高嶺  (Katayama Takane)  (70346104)	京都大学・生命科学研究所・教授    (14301)	

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