

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 17 日現在

機関番号：32202

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24390247

研究課題名(和文)キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いた難治性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療法開発

研究課題名(英文)Development of gene therapy for refractory non-Hodgkin lymphoma using T-cells expressing a chimeric antigen receptor

研究代表者

小澤 敬也(Ozawa, keiya)

自治医科大学・医学部・客員教授

研究者番号：30137707

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：難治性B細胞性悪性リンパ腫に対するキメラ抗原受容体(CAR)発現Tリンパ球を用いた遺伝子治療法の開発を以下のように行った。(1)CAR発現Tリンパ球の抗腫瘍効果増強のため、CD19-CARの他にIL-21を共発現させた。担癌マウスでの遺伝子治療実験では、IL-21共発現による治療効果増強はなかった。(2)安全対策として分子スイッチを作製し、CARシグナル特異的な遺伝子発現制御が可能であることを試験管内及び担癌マウスで示した。(3)患者由来末梢血からCAR発現Tリンパ球を調整し、Bリンパ腫細胞を殺傷することを確認した。(4)臨床研究実施計画書がIRB及び厚労省で承認され、患者登録を開始した。

研究成果の概要(英文)：Gene therapy for refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma using T-cells expressing a chimeric antigen receptor (CAR) was studied as follows: (1) To improve the anti-tumor activity, T-cells were transduced with CD19-targeted CAR and IL-21 genes. However, the therapeutic effect was not enhanced by IL-21 in tumor-bearing mice. (2) For the safety, we developed a switch promoter, which stimulates transgene expression in CAR T-cells upon interaction with target cells. We demonstrated that this system works through CAR-dependent signaling in CAR T-cells in vitro and in tumor-bearing mice. (3) We manufactured CD19-CAR T-cells from patient-derived PBMCs by a closed cell-processing system, and confirmed that these T-cells can kill B lymphoma cells in vitro. (4) A clinical protocol (CD19-CAR T-cell therapy for B-cell lymphoma) was approved by IRB and the Ministry of Health, Labour and Welfare. Enrollment started in December 2014.

研究分野：遺伝子治療学、細胞治療学、血液内科学

キーワード：遺伝子治療 免疫療法 細胞療法 キメラ抗原受容体 Tリンパ球 造血器腫瘍

## 1. 研究開始当初の背景

キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor; CAR) 発現 T 細胞を用いる養子免疫遺伝子療法は、化学療法抵抗性の腫瘍に対しても有効な治療法として注目されている。そこで、難治性悪性 B 細胞性非ホジキンリンパ腫を対象に、CD19 抗原を標的とした当該遺伝子治療法の開発を計画した。

### (1) CAR 発現 T 細胞の抗腫瘍効果増強：

CAR 発現 T 細胞の抗腫瘍効果の増強のため、サイトカインの併用が考えられる。IL-21 は T 細胞増殖因子であり、抗原特異的な T 細胞の細胞傷害活性を増強することから、CAR の他に IL-21 を共発現する T 細胞を樹立し、その機能評価を試験管内およびマウスモデルで行うこととした。

(2) T 細胞とサイトカイン併用療法の有効性・安全性を高める分子スイッチの開発：CAR 発現 T 細胞の治療効果を高める方法として、T 細胞活性化や抗腫瘍性サイトカインの併用が考えられる。サイトカインの投与方法として、組換え製剤を全身投与するストラテジーは、副作用の出現頻度が高くなるため、ベネフィットが上回るとは言い難い。さらに、血中半減期が短いために頻回投与を必要とするといった問題もある。頻回投与を避けるには、遺伝子の形で投与し、ある程度の期間は体内での持続的な発現が期待できることが望ましい。そこで、サイトカイン併用療法の有効性を高め、全身性の副作用を回避するストラテジーの探索として、腫瘍局所での遺伝子発現調節が可能な分子スイッチシステムの開発を試みた。

(3) 細胞プロセッシング室での CAR 発現 T 細胞の調整：臨床研究と同様の方法で CAR 発現 T 細胞を細胞プロセッシング室で調整し、その機能評価を行うことにした。

(4) 難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する当該遺伝子治療の臨床開発：CD19 特異的 CAR 発現 T 細胞を用いる難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究の実施に向けて、臨床研究実施計画書を作成し、施設内および国 (厚生労働省) の審査を受けることとした。

## 2. 研究の目的

### (1) CAR 発現 T 細胞の抗腫瘍効果増強：

CAR の他に IL-21 を搭載したレトロウイルスベクターを用いてヒト末梢血単核球 (PBMC) への遺伝子導入を行い、IL-21 共発現型 T 細胞を樹立する。

(2) T 細胞とサイトカイン併用療法の有効性・安全性を高める分子スイッチの開発：CAR 発現 T 細胞が標的抗原と結合することで遺伝子発現が誘導される分子スイッチ機能を有するプロモーターを作製する。本システムを

用いて腫瘍局所で抗腫瘍性サイトカインなどを発現させることで CAR 発現 T 細胞の抗腫瘍効果の増強を図り、その有効性と安全性を向上させることを目的とした。

(3) 細胞プロセッシング室での CAR 発現 T 細胞の調整：細胞プロセッシング室で、健康人および患者由来 PBMC にレトロウイルスベクターを用いて CAR 遺伝子の導入、さらに、体外増幅を行う。

(4) 難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する当該遺伝子治療の臨床開発：臨床研究実施計画書を作成し、施設内および国 (厚生労働省) の審査で承認を受け、臨床研究を実施する。

## 3. 研究の方法

### (1) CAR 発現 T 細胞の抗腫瘍効果増強：

CAR および IL-21 共発現レトロウイルスベクターの作製：CD19 特異的 CAR (CD28 と CD3z シグナルドメインを有する) とヒト IL-21 を 2A ペプチドで連結した共発現カセットをレトロウイルスベクターに組み込んだ。

IL-21 共発現型 T 細胞の作製：レトロウイルスベクターで健康人由来 PBMC に CD19-CAR および IL-21 遺伝子を導入し、CD19-CAR 単独および IL-21 共発現型 T 細胞を樹立した。

細胞傷害活性 (*in vitro*)：蛍光色素カルセイン遊離法を用いて、CAR 発現 T 細胞のヒト CD19 陽性 B リンパ腫細胞株 (Raji) に対する殺細胞効果を検討した。

抗腫瘍活性 (*in vivo*)：ルシフェラーゼ標識 Raji リンパ腫細胞を生着させた免疫不全マウスに CAR 発現 T 細胞を投与し、その抗腫瘍効果を生体イメージングにより検討した。

(2) T 細胞とサイトカイン併用療法の有効性・安全性を高める分子スイッチの開発：

分子スイッチプロモーターの作製：ヒト IL-2 プロモーターの最小プロモーターの上流に NFAT (nuclear factor of activated T-cells) 結合領域を 4 個または 6 個タンデムに連結し、これらを分子スイッチの候補とした。さらに、改変型 SV40 early polyA と BGH polyA を挿入した。レポーター遺伝子として ZsGreen1 または ELuc を使用した。

分子スイッチ搭載型レトロウイルスベクターの作製：分子スイッチカセットを自己不活性化レトロウイルスベクターに、レトロウイルスベクターゲノムの転写方向とは逆向きにサブクローニングした。このプラスミドを Gag-pol 発現プラスミドおよび VSV-G 発現プラスミドと共にリン酸カルシウム法で 293T 細胞に遺伝子導入し、一過性のレトロウイルスベクター上清を回収した。上清中のベクター力価を定量的 PCR 法で測定し、レトロネクチン法で目的とする細胞 (Jurkat、健康人

由来 PBMC) に遺伝子導入した。

分子スイッチの機能比較 (*in vitro*) : 抗原となる CD19 と CAR が結合して細胞が活性化することにより、分子スイッチが意図した通りに作動することを *in vitro* で検証した。分子スイッチ搭載型 CAR 発現細胞を CD19 発現細胞 (Raji) と共培養し、一定時間経過後にルシフェラーゼアッセイを行って発光量を測定した。ネガティブコントロールには CD19 非発現細胞 (K562) との共培養群を使用し、ポジティブコントロールには TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) および Ionomycin で活性化した細胞を用いた。

分子スイッチの機能比較 (*in vivo*) : 免疫不全マウスの左側腹部に K562 細胞を、右側腹部に K562-CD19 細胞を皮下接種した、担がんモデルマウスを作製した。このマウスに分子スイッチ (ルシフェラーゼ遺伝子) 搭載型 CAR 発現 PBMC を全身性に投与して、生体イメージング装置を用いてルシフェラーゼの発現誘導を経時的に観察した。

(3) 細胞プロセッシング室での CAR 発現 T 細胞の調整 : 同意を得た健常人および患者由来 PBMC へのレトロウイルスベクターによる CAR 遺伝子の導入および体外増幅を閉鎖系バック培養法で行った。一連の作業は、施設内細胞プロセッシング室で行った。

(4) 難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する当該遺伝子治療の臨床開発 : 臨床研究実施計画書を作成し、施設内および国 (厚生労働省) の審査を受けた。

#### 4. 研究成果

(1) CAR 発現 T 細胞の抗腫瘍効果増強 :

CAR 単独と比較して、IL-21 共発現型 T 細胞では、有意な IL-21 の産生と下流シグナルである STAT3 のリン酸化の亢進を認めた。

抗原特異的な IFN- $\gamma$  産生やヒト B リンパ腫細胞株に対する殺細胞効果は、IL-21 共発現による増強効果を認めなかった。

担癌免疫不全マウスへの遺伝子改変 T 細胞の投与と実験では、腫瘍増殖抑制効果が認められたが、CAR 単独と IL-21 共発現型 T 細胞の治療効果に有意な差を認めなかった。

(2) T 細胞とサイトカイン併用療法の有効性・安全性を高める分子スイッチの開発 :

分子スイッチプロモーター作製 : NFAT 結合領域を 6 個連結したものでは、CAR からの活性化シグナルによって誘導された遺伝子の発現強度は高かったが、無刺激下 (バックグラウンドレベル) での発現も高く、発現 ON/OFF は十分ではなかった。一方、4 個連結したものでは、駆動した際の発現強度は 6 個連結した場合と比較して低かったものの、バックグラウンドレベルの発現も低い為、良好な ON/OFF 比を得ることができた。さらに、

この NFAT 配列の上流に、バックグラウンド低減シグナルを挿入したところ、レポーター遺伝子のバックグラウンドレベルでの発現をさらに抑制することができた。最終的に、改変型 SV40 early polyA を 2 つ、ヒト IL-2 プロモーター領域に存在する転写因子 NFAT 結合領域を 4 個、IL-2 の最小プロモーター、レポーター遺伝子 (ZsGreen1 または ELuc) BGH (bovine growth hormone) polyA を順に連結することで、ON/OFF 比に優れたスイッチプロモーターを作製することができた。

分子スイッチ搭載型レトロウイルスベクターの作製 : スイッチ発現カセットを自己不活性化レトロウイルスベクターにサブクローニングした。この際に、レトロウイルスベクターゲノムの転写方向と正方向に挿入すると、レポーター遺伝子のバックグラウンドレベルでの強い発現が観察された。しかし、レトロウイルスベクターゲノムの転写方向と逆方向に挿入することで、この問題は解消された。レトロウイルスベクターを作製し、Jurkat および PBMC へ遺伝子導入を行った。本研究においては CD19 特異的 CAR 発現ベクターとスイッチ発現カセットを共に遺伝子導入する必要がある。最終的に、CAR 発現ベクターは GaLV エンベロープ、スイッチ発現カセットを VSV-G でシュードタイプ化し、各ベクターを 1 : 1 (体積比) で混合したベクター溶液を用いてレトロネクチン法で単回遺伝子導入することによって、CAR およびスイッチカセットの良好な遺伝子導入効率を得ることができた。

分子スイッチの機能比較 (*in vitro*) : スイッチ発現カセットと CD19 特異的 CAR 発現ベクターを共に、Jurkat またはヒト健常者由来の PBMC に遺伝子導入した。この細胞を CD19 陽性の標的細胞 (Raji, K562/CD19) と共培養すると、時間経過と共に ZsGreen1 や ELuc の発現が誘導された。一方、CD19 陰性細胞 (K562) との共培養では、レポーター遺伝子の発現は誘導されなかった。Jurkat と PBMC 共に、effector/target 比が 1 前後の時に優れたスイッチカセットの発現誘導が認められ、共培養開始数時間後には観察可能なレベルの ELuc または ZsGreen1 の遺伝子発現が誘導された。このスイッチからの遺伝子発現は、CD19 陽性の細胞との共培養だけでなく、CD3/CD28 での刺激によっても誘導されたが、キメラ抗原受容体からの活性化シグナルがそもそも CD3/CD28 からの活性化シグナルと同様の経路を辿るため、不可避な応答であった。しかし、様々なサイトカインを培養系に添加してスイッチの発現を観察したが、有意な誘導は観察されず、このスイッチカセットはキメラ抗原受容体からの活性化シグナルに特異性をもったものであると結論づけた。

分子スイッチの機能比較 (*in vivo*) : 担がんマウスにルシフェラーゼ発現 PBMC を投与すると、左右両方の腫瘍部位での発光が観察され、腫瘍特異的な集積は確認できなかった。しかし、分子スイッチ (ルシフェラーゼ遺伝子) 搭載型 CAR 発現 PBMC を投与したマウスでは、ルシフェラーゼ遺伝子の発現誘導が CD19 陽性の K562-CD19 細胞を接種した部位においてのみ観察された。また、このマウスでは K562-CD19 を接種した皮下腫瘍が縮小した。したがって、我々が開発したスイッチプロモーターは *in vitro* だけでなく *in vivo* においても CAR からの活性化シグナル特異的な発現誘導が起こり、またスイッチ-プロモーターを遺伝子導入しても抗腫瘍活性等の CAR 本来の機能は阻害されないことを明らかにした。

(3) 細胞プロセッシング室での CAR 発現 T 細胞の調整 : 患者および健康人由来 PBMC への CAR 遺伝子導入および体外増幅により投与可能なレベルの細胞数を調整することが可能であり、それらは悪性 B リンパ腫細胞株に対する細胞傷害活性を有していることが試験管内で明らかになった。

(4) 難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する当該遺伝子治療の臨床開発 : 臨床研究実施計画書「CD19 抗原特異的キメラ抗原受容体発現 T リンパ球を用いた難治性 B 細胞性悪性リンパ腫に対する遺伝子治療臨床研究」が施設内および厚生労働省で承認された。臨床研究を開始し、患者登録を行っている。

## 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 22 件)

Suzuki T, Oh I, Ohmine K, Meguro A, Mori M, Fujiwara S, Yamamoto C, Nagai T, Ozawa K: Distribution of serum erythropoietin levels in Japanese patients with myelodysplastic syndromes. *Int J Hematol*. 査読有, 101巻, 2015, 32-6, DOI: 10.1007/s12185-014-1699-3.

Tsukahara T, Iwase N, Kawakami K, Iwasaki M, Yamamoto C, Ohmine K, Uchibori R, Teruya T, Ido H, Urabe M, Mizukami H, Kume A, Nakamura M, Brentjens R, and Ozawa K.: The *To12* transposon system mediates the genetic engineering of T-cells with CD19-specific chimeric antigen receptors for B-cell malignancies. *Gene Ther*, 査読有, 22巻, 2015, 209-15, DOI: 10.1038/gt.2014.104.

Ayuso E, Blouin V, Lock M, McGorray S, Leon X, Alvira M.R, Auricchio A, Bucher S, Chtarto A, Clark K.R, Darmon C, Doria M, Fountain W, Gao G, Gao K, Giacca M,

Kleinschmidt J, Leuchs B, Melas C, Mizukami H, Muller M, Noordman Y, Bockstael O, Ozawa K, Pythoud C, Sumaroka M, Surosky R, Tenenbaum L, Van der Linden I, Weins B, Wright J.F, Zhang X, Zentilin L, Bosch F, Snyder R.O, and Moullier P.: Manufacturing and characterization of a recombinant adeno-associated virus type 8 reference standard material. *Hum. Gene Ther*. 査読有, 25巻, 2014, 977-987, DOI: 10.1089/hum.2014.057.

Okabe H, Suzuki T, Uehara E, Ueda M, Nagai T, and Ozawa K.: The bone marrow hematopoietic microenvironment is impaired in iron-overloaded mice. *Eur. J. Haematol*. 査読有, 93巻, 2014, 118-128, DOI: 10.1111/ejh.12309.

Kashiwakura Y, Ohmori T, Mimuro J, Madoiwa S, Inoue M, Hasegawa M, Ozawa K and Sakata Y.: Production of functional coagulation factor VIII from iPSCs using a lentiviral vector. *Haemophilia* 査読有, 20巻, 2014, e40-44, DOI: 10.1111/hae.12311.

Uehara T, Kanazawa T, Mizukami H, Uchibori R, Tsukahara T, Urabe M, Kume A, Misawa K, Carey T. E, Suzuki M, Ichimura K, and Ozawa K.: Novel anti-tumor mechanism of galanin receptor type 2 in head and neck squamous cell carcinoma cells. *Cancer Sci* 査読有, 105巻, 2014, 72-80, DOI: 10.1111/cas.12315.

Mimuro J, Mizukami H, Shima M, Matsushita T, Taki M, Muto S, Higasa S, Sakai M, Ohmori T, Madoiwa S, Ozawa K, and Sakata Y.: The prevalence of neutralizing antibodies against adeno-associated virus capsids is reduced in young Japanese individuals. *J. Med. Virol*. 査読有, 86巻, 2014, 1990-1997, DOI: 10.1002/jmv.23818.

Sripayap P, Nagai T, Uesawa M, Kobayashi H, Tsukahara T, Ohmine K, Muroi K, Ozawa K.: Mechanisms of resistance to azacitidine in human leukemia cell lines. *Exp Hematol*. 査読有, 42巻, 2014, 294-306.e2. DOI: 10.1016/j.exphem.2013.12.004.

Uchibori R, Tsukahara T, Ohmine K, Ozawa K.: Cancer gene therapy using mesenchymal stem cells. *Int J Hematol*. 査読有, 99巻, 2014, 377-82, DOI: 10.1007/s12185-014-1537-7.

Ishihara A, Ohmine K, Weisbrode SE, Bertone AL.: Effect of Intra-Medullar and Intra-Venous Infusions of Mesenchymal Stem Cells on Cell Engraftment by *In-Vivo* Cell Tracking and Osteoinductivity in Rabbit Long Bones: A Pilot Study., *Orthop Muscular Syst*, 査読有, 3巻, 2014, 1-3, DOI: 10.4172/2161-0533.1000172

Yamamoto C, Tsukahara T, Omine K, Teruya T, Ido H, Uchibori R, Urabe M, Mizukami H, Kume A, Nakamura M, Ozawa K.: IL-21 is not necessary for anti-lymphoma effects of T cells expressing second-generation CD19-specific chimeric antigen receptors in a xenograft mouse model. Jichi Medical University Journal, 査読有, 36巻, 2014, 23-31

Takahashi K, Mizukami H, Saga Y, Takei Y, Urabe M, Kume A, Machida S, Fujiwara H, Suzuki M, and Ozawa K.: Suppression of lymph node and lung metastases of endometrial cancer by muscle-mediated expression of soluble vascular endothelial growth factor receptor-3. Cancer Sci. 査読有, 104巻, 2013, 1107-1111, DOI: 10.1111/cas.12184.

Tsukahara T, Ohmine K, Yamamoto C, Uchibori R, Ido H, Teruya T, Urabe M, Mizukami H, Kume A, Nakamura M, Mineno J, Takesako K, Riviere I, Sadelain M, Brentjens R, and Ozawa K.: CD19 target-engineered T-cells accumulate at tumor lesions in human B-cell lymphoma xenograft mouse models. Biochem. Biophys. Res. Commun. 査読有, 438巻, 2013, 84-89, DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.07.030.

Muroi K, Miyamura K, Ohashi K, Murata M, Eto T, Kobayashi N, Taniguchi S, Imamura M, Ando K, Kato S, Mori T, Teshima T, Mori M, and Ozawa K.: Unrelated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal stem cells for steroid-refractory acute graft-versus-host disease: a phase I/II study. Int. J. Hematol. 査読有, 98巻, 2013, 206-213, DOI: 10.1007/s12185-013-1399-4.

Yasumoto A, Madoiwa S, Kashiwakura Y, Ishiwata A, Ohmori T, Mizukami H, Ozawa K, Sakata Y, and Mimuro J.: Overexpression of factor VII ameliorates bleeding diathesis of factor VIII-deficient mice with inhibitors. Thromb. Res. 査読有, 131巻, 2013, 444-449, DOI: 10.1016/j.thromres.2013.03.007.

Mimuro J, Mizukami H, Hishikawa S, Ikemoto T, Ishiwata A, Sakata A, Ohmori T, Madoiwa S, Ono F, Ozawa K, and Sakata Y.: Minimizing the inhibitory effect of neutralizing antibody for efficient gene expression in the liver with adeno-associated virus 8 vectors. Mol. Ther. 査読有, 21巻, 2013, 318-323, DOI: 10.1038/mt.2012.258.

Uchibori R, Tsukahara T, Mizuguchi H, Saga Y, Urabe M, Mizukami H, Kume A, and Ozawa K.: NF- $\kappa$ B activity regulates mesenchymal stem cell accumulation at

tumor sites. Cancer Res. 査読有, 73巻, 2013, 364-372, DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-0088.

Sato N, Saga Y, Mizukami H, Wang D, Takahashi S, Nonaka H, Fujiwara H, Takei Y, Machida S, Takikawa O, Ozawa K, Suzuki M.: Downregulation of indoleamine-2,3-dioxygenase in cervical cancer cells suppresses tumor growth by promoting natural killer cell accumulation. Oncol Rep. 査読有, 28巻, 2012, 1574-1578, DOI: 10.3892/or.2012.1984.

Kashiwakura Y, Ohmori T, Mimuro J, Yasumoto A, Ishiwata A, Sakata A, Madoiwa S, Inoue M, Hasegawa M, Ozawa K, Sakata Y.: Intra-articular injection of mesenchymal stem cells expressing coagulation factor ameliorates hemophilic arthropathy in factor VIII-deficient mice. J. Thromb. Haemost. 査読有, 10巻, 2012, 1802-1813, DOI: 10.1111/j.1538-7836.2012.04851.x.

Sato N, Saga Y, Mizukami H, Wang D, Fujiwara H, Takei Y, Machida S, Ozawa K, and Suzuki M.: Cetuximab inhibits the growth of mucinous ovarian carcinoma tumor cells lacking KRAS gene mutations. Oncol Rep. 査読有, 27巻, 2012, 1336-1340, DOI: 10.3892/or.2012.1626.

② Ogura M, Urabe M, Akimoto T, Onishi A, Ito C, Ito T, Tsukahara T, Mizukami H, Kume A, Muto S, Kusano E, and Ozawa K.: Interleukin-10 expression induced by adeno-associated virus vector suppresses proteinuria in Zucker obese rats. Gene Ther. 査読有, 19巻, 2012, 476-482, DOI: 10.1038/gt.2011.183.

② Yagi H, Sanechika S, Ichinose H, Sumi-Ichinose C, Mizukami H, Urabe M, Ozawa K, and Kume A.: Recovery of neurogenic amines in phenylketonuria mice after liver-targeted gene therapy. Neuroreport, 査読有, 23巻, 2012, 30-34, DOI: 10.1097/WNR.0b013e32834e3a87.

〔学会発表〕(計16件)

大嶺 謙, 細胞療法の現状と将来 キメラ抗原受容体発現Tリンパ球を用いたB細胞性腫瘍に対する遺伝子治療, 第62回日本輸血・細胞治療学会総会, 2014年5月17日, 奈良県文化会館(奈良)

Uchibori R, Development of switch promoters that is activated to induce exogenous gene expression upon the recognition of CD19 by chimeric antigen receptors. 17th Annual Meeting of the American Society of Gene & Cell Therapy. 2014年5月22日, Washington, D.C. (USA)

Uchibori R, The NFAT response elements in the IL-2 gene promoter permit visualization and quantification of

activation status in CAR-expressing PBMCs, 第20回日本遺伝子治療学会, 2014年8月8日, 東京慈恵会医科大学(東京)

Tsukahara T, Generation of T-cells expressing a CD19-specific CAR by the Tol2 transposon system, 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月25日, パシフィコ横浜(横浜)

Uchibori R, Activation signals from chimeric antigen receptors permit NFAT-controlled inducible expression of transgene in PBMCs, 第73回日本癌学会学術総会, 2014年9月26日, パシフィコ横浜(横浜)

Tsukahara T, Tol2 transposon-based gene transfer of CD19-specific chimeric antigen receptors into human T-cells, 第76回日本血液学会学術集会, 2014年11月2日, 大阪国際会議場(大阪)

Uchibori R, Activation signals from CAR permit NFAT-controlled inducible expression of transgenes in PBMCs, 第76回日本血液学会学術集会, 2014年11月2日, 大阪国際会議場(大阪)

Uchibori R, Analysis of function and response specificity of a switch promoter driven by activation signals from a CD19-targeted chimeric antigen receptor, The 5th Meeting of Asian Cellular Therapy Organization, 2014年11月11日, Hyatt Regency Osaka(大阪)

Tsukahara T, Tumor targeting and anti-tumor activity mediated by T-lymphocytes with an anti-CD19 CAR in human B-cell lymphoma models. 第19回日本遺伝子治療学会, 2013年7月5日, 岡山コンベンションセンター(岡山)

Uchibori R, Development of sin retroviral vectors equipped with switch promoters driven by activation signals from the chimeric antigen receptors. 第19回日本遺伝子治療学会, 2013年7月6日, 岡山コンベンションセンター(岡山)

Tsukahara T, Anti-tumor activity of CD19-specific chimeric antigen receptor-modified T-cells for B cell lymphoma. 第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月4日, パシフィコ横浜(横浜)

Uchibori R, Development of switch promoters that would respond to activation signals from the chimeric antigen receptors. 第72回日本癌学会学術総会, 2013年10月5日, パシフィコ横浜(横浜)

Tsukahara T, Tumor targeting using T-lymphocytes with an anti-CD19 chimeric antigen receptor for B cell lymphoma. 第75回日本血液学会学術集会, 2013年10月11日, ロイトン札幌(札幌)

Uchibori R, Development of switch promoters driven by activation signals

from the chimeric antigen receptors. 第75回日本血液学会学術集会, 2013年10月12日, ロイトン札幌(札幌)

Tsukahara T, Evaluation of anti-tumor effects mediated by engineered T lymphocytes expressing a CD19 specific CAR for B cell lymphoma, The 15th Annual Meeting of The American Society of Gene and Cell Therapy, 2012年5月19日, Philadelphia (USA)

Tsukahara T, Validation of anti-tumor activity mediated by T-lymphocytes with chimeric antigen receptor targeting CD19 for B cell lymphoma, 第74回日本血液学会学術集会, 2012年10月20日, 国立京都国際会館(京都)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

小澤 敬也(OZAWA, Keiya)

自治医科大学・医学部・客員教授

研究者番号: 30137707

### (2) 研究分担者

塚原 智典(TSUKAHARA, Tomonori)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 10362120

内堀 亮介(UCHIBORI, Ryouyusuke)

自治医科大学・医学部・助教

研究者番号: 20458285

大嶺 謙(OHMINE, Ken)

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号: 90316521