

平成30年6月16日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10146

研究課題名(和文) 樹状細胞サブセットに着目した新規癌ワクチン療法の開発

研究課題名(英文) Development of new cancer immunotherapy focused on the subset of dendritic cell

研究代表者

松田 健司 (Matsuda, Kenji)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号：30398458

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：がん抗原を、細胞傷害性T細胞(CTL)を誘導する能力に優れているマウスのCD8⁺陽性樹状細胞に、この樹状細胞特異的に発現するケモカイン受容体XCR1とそのリガンドのXCL1システムを介して送達させることで強い免疫応答を惹起させ、抗腫瘍効果につながるかを検討した。XCL1とがん抗原を結合させたXCL1-抗原複合体を作成した。抗原にはOvalbumin(OVA)由来ペプチドやAH-1を用いた。XCL1-OVA抗原複合体をマウスに免疫すると、有意にCTLの誘導が増強した。複合体をあらかじめ免疫したマウスでは、OVA抗原を発現している腫瘍細胞を接種したところその増殖が有意に抑えられた。

研究成果の概要(英文)：CD8⁺ positive dendritic cells are superior in the ability to induce cytotoxic T cells (CTLs) in mice and specifically express chemokine receptor XCR1. We examined whether the cancer antigen could elicit a strong immune response and lead to an antitumor effect by delivering a cancer antigen to CD8⁺ dendritic cells via the chemokine receptor XCR1 and its ligand XCL1. XCL1-antigen complex in which XCL1 and cancer antigen were bound was prepared. Peptides derived from Ovalbumin (OVA) and AH-1 were used as antigens. Immunization of mice with XCL1-OVA antigen complex significantly enhanced CTL induction. After mice were immunized with the complex, mice were inoculated with tumor cells expressing the OVA antigen. Then the tumor proliferation was significantly suppressed in immunized mice.

研究分野：消化器外科

キーワード：樹状細胞 癌ワクチン

1. 研究開始当初の背景

抗癌剤や放射線治療の限界を腫瘍免疫学的側面より打破するために当科では、以前より癌免疫療法に着目し研究を重ねてきた。当教室では、樹状細胞を用いた以前より癌ワクチン療法を研究し報告してきた (Clin Cancer Res 2002, Cancer Immunology Immunotherapy 2004, Oncology2005)。

さらに近年は iPS 細胞から DC の誘導に成功し、新たな展開を行っている(Int J Cancer 2013)。

抗腫瘍免疫応答を増強するためには次の3つの方法が考えられる。1つ目として、より強い腫瘍抗原特異的な T 細胞を誘導すること。2つ目として、抗腫瘍免疫応答に対する免疫抑制分子シグナル(immune checkpoint)を阻害すること。3つ目として、免疫抑制細胞の不活化・除去すること、が挙げられる。

最近では、悪性黒色腫の臨床試験においては有望な結果が出つつあるが、大腸癌などの消化器癌においてはまだまだ厳しい現状である。最大の問題としては、消化器癌が一般的には低免疫原であることが挙げられる。すなわち抗原特異的免疫応答が免疫活性化相において十分惹起されにくいことである。低免疫原性腫瘍においては抗原提示細胞である DC において抗原特異的の反応が効率的に惹起できにくい状況にあることが想像される。本研究においては、より強い腫瘍特異的 T 細胞を誘導することを最大の目標とする。そのために、“真の DC”である CD8α 陽性 DC に着目した。

2. 研究の目的

DC のサブセット研究が進み、その特徴が明らかとなってきた。とりわけ、CD8α 陽性 DC が抗腫瘍・抗ウイルス免疫応答において重要な役割を果たしていることが明らかとなり、その CD8α 陽性 DC に発現する特異的なケモカイン受容体として XCR1 が見いだされ、そのリガンド分子である XCL1 も同定されている。本研究の目的は抗腫瘍免疫の活性化相で重要な働きを担う XCR1/XCL1 システムに着目し、抗腫瘍免疫応答を増強することを目的とする。

3. 研究の方法

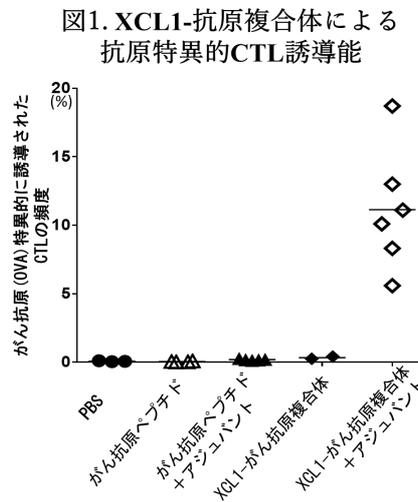
まず、様々な抗原ペプチドをマウス XCL1 に融合させた複合体の作成を試みた。XCL1 と AH-1 由来ペプチドとの複合体、またマウス実験で仮想抗原としてよく用いられるトリ Ovalbumin 由来ペプチドとの複合体の作成を行った。XCL1 と抗原 (AH-1 と OVA ペプチド) との複合体の作成・精製法を確立した。マウス XCL1 cDNA の下流に、抗原ペプチドをコードする配列を挿入し、さらに精製用の Tag を挿入した発現ベクターを作成した。これを培養細胞株に導入し、培養上清中に産生される複合体タンパク質の産生を、tag を介して精製した。発現は tag に対する western

blotting にて確認した。

XCR1+DC は樹状細胞の中では Toll Like Receptor3(TLR3)を特異的に発現していることから、アジュバントとして TLR3 の agonist である poly(I:C)を XCL1-抗原複合体と併用してマウスに免疫し、抗原特異的 CTL の誘導、及びマウス腫瘍細胞株接種による抗腫瘍効果を検討した。

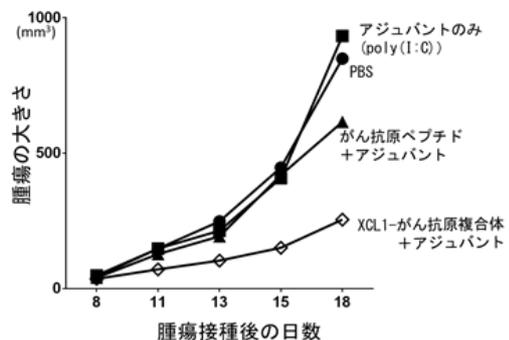
4. 研究成果

XCL1-抗原複合体、またはがん抗原ペプチドを poly(I:C)とともに C57BL/6 マウスに免疫し、7 日後の脾細胞を採取し抗原特異的細胞傷害性 T 細胞を検索した。特に、抗原特異的 IFN-γ 産生細胞の頻度を FACS で解析することで検索した。XCL1-抗原複合体とアジュバント併用群において、有意に抗原特異的 CTL の応答が増強した (図 1)



次に抗腫瘍効果を検討したところ、XCL1-抗原複合体とアジュバント併用群では、PBS やがん抗原ペプチドとアジュバント併用群と比較して有意に腫瘍の増殖が抑制された(図 2)。

図2. XCL1-抗原複合体による抗腫瘍効果



腫瘍抗原ペプチドを XCL1 と連結させることにより、XCR1 + DC へ抗原が選択的に送達され、生体内で効率的に抗原特異的 CTL が誘導されるとともに抗腫瘍効果が増強された。今後、CD8 陽性樹状細胞と XCL1-抗原複合体との相互作用についての検討は必要と考える。

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8件)

1. A phase I/IIb study of OTSGC-A24 combined peptide vaccine in advanced gastric cancer. Sundar R, Rha SY, Yamaue H, Katsuda M, Kono K, Kim HS, Kim C, Mimura K, Kua LF, Yong WP. BMC Cancer. 2018 Mar 27;18(1):332

2. Pelvic Drain After Laparoscopic Low Anterior Resection for Rectal Cancer in Patients With Diverting Stoma.

Matsuda K, Yokoyama S, Hotta T, Watanabe T, Tamura K, Iwamoto H, Mizumoto Y, Yamaue H. Surg Laparosc Endosc Percutan Tech. 2018 Apr;28(2):82-85

3. Using indocyanine green fluorescent imaging to successfully resect metachronous regional lymph node recurrence of rectosigmoid cancer.

Tamura K, Hotta T, Yokoyama S, Matsuda K, Iwamoto H, Yamaue H.

Asian J Endosc Surg. 2018 Feb;11(1):47-49

4. CEACAM1 is associated with recurrence after hepatectomy for colorectal liver metastasis.

Yamaguchi S, Yokoyama S, Ueno M, Hayami S, Mitani Y, Takeuchi A, Shively JE, Yamaue H. J Surg Res. 2017 Dec;220:353-362

5. Oncological Outcomes following Rectal Cancer Surgery with High or Low Ligation of the Inferior Mesenteric Artery.

Matsuda K, Yokoyama S, Hotta T, Takifuji K, Watanabe T, Tamura K, Mitani Y, Iwamoto H, Mizumoto Y, Yamaue H. Gastrointest Tumors. 2017 Sep;4(1-2):45-52

6. Clinical implications of carcinoembryonic antigen distribution in serum exosomal fraction-Measurement by ELISA.

Yokoyama S, Takeuchi A, Yamaguchi S, Mitani Y, Watanabe T, Matsuda K, Hotta T, Shively JE, Yamaue H.

PLoS One. 2017 Aug 17;12(8):e0183337

7. Horizontal rectal transection using an endolinear stapler for laparoscopic low anterior resection.

Hotta T, Takifuji K, Yokoyama S, Matsuda K, Ieda J, Watanabe T, Tamura K, Mitani Y, Iwamoto H, Takei Y, Mizumoto Y, Tsumura A, Deguchi M, Yamaue H.

Tech Coloproctol. 2017 Apr;21(4):311-313

8. Multicenter, randomized, open-label Phase II study comparing S-1 alternate-day oral therapy with the standard daily regimen as a first-line treatment in patients with unresectable advanced pancreatic cancer.

Yamaue H, Shimizu A, Hagiwara Y, Sho M, Yanagimoto H, Nakamori S, Ueno H, Ishii H, Kitano M, Sugimori K, Maguchi H, Ohkawa S, Imaoka H, Hashimoto D, Ueda K, Nebiki H, Nagakawa T, Isayama H, Yokota I, Ohashi Y, Shirasaka T.

Cancer Chemother Pharmacol. 2017 Apr;79(4):813-823

[学会発表](計2件)

1. 水本有紀、勝田将裕、山上裕機

Development of new cancer peptide vaccine therapy that targets XCR1+ dendritic cell
第75回日本癌学会

2016.10 横浜

2. 水本有紀、勝田将裕、山上裕機

XCR1+樹状細胞をターゲットとした新規がんペプチドワクチン療法の開発

第29回日本バイオセラピー学会

2016.12 久留米

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

松田健司 (Matsuda Kenji)

和歌山県立医科大学・医学部・講師

研究者番号: 30398485

(2)研究分担者

山上裕機 (Yamaue Hiroki)

和歌山県立医科大学・医学部・教授

研究者番号: 20191190

瀧藤克也 (Takifuji Katsunari)

和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員

研究者番号：00254540
堀田 司 (Hotta Tsukasa)
和歌山県立医科大学・医学部・博士研究員
研究者番号：50244744
横山省三 (Yokoyama Shozo)
和歌山県立医科大学・医学部・学内教授
研究者番号：90398462
勝田将裕 (Katsuda Masahiro)
和歌山県立医科大学・医学部・講師
研究者番号：50464673

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし