

令和元年5月15日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05451

研究課題名(和文) ヒト肉腫幹細胞制御と新規免疫記憶T幹細胞応答の解明

研究課題名(英文) Analysis of human sarcoma stem cells and memory T stem cells

研究代表者

塚原 智英 (TSUKAHARA, Tomohide)

札幌医科大学・医学部・准教授

研究者番号：20404634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,500,000円

研究成果の概要(和文)：高い造腫瘍能と抗がん剤耐性を示す骨肉腫幹細胞に高発現する肉腫幹細胞抗原LIN28Bを同定した。LIN28Bは造腫瘍能を促進し、その機序はミトコンドリア機能を抑制してエネルギー代謝を解糖系に依存させることによる。解糖系阻害薬により骨肉腫幹細胞の造腫瘍能は抑制され化学療法剤への感受性が増加した。

また、新しいヒト免疫記憶T幹細胞として、“Young memory T細胞”を同定した。Young memory T細胞は抗がん剤に対する耐性を示し、T細胞受容体刺激に対して高い増殖能を示した。そしてYoung memory T細胞から、ウイルスおよび癌抗原特異的T細胞が化学療法後の肉腫患者から誘導された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

骨肉腫をはじめとする高い悪性形質を示す肉腫は時に若年者に発症し、化学療法不応例症例の予後は不良である。本研究結果により、解糖系阻害によって腫瘍増殖能が抑制される可能性、抗がん剤の効果が増強される可能性が示唆された。

また免疫記憶幹細胞を制御できれば、がんワクチンやT細胞移入療法による免疫治療の効果をより高められる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We identified sarcoma stem cell antigen LIN28B which conferred higher tumor-initiating ability and chemo-resistance to osteosarcoma stem cells. LIN28B suppressed OXPHOS and increased glycolysis dependency in osteosarcoma stem cells. Glycolysis inhibitors could suppress in vitro tumorigenesis of osteosarcoma stem cells.

We also identified a novel human memory T stem cells, “Young Memory T cells”. Young memory T cells showed the chemo-resistance, differentiation capacity and superior growth ability upon T cell receptor stimulation. T cells recognizing anti-viral antigen and anti-tumor-associated antigen could be induced from young memory T cells derived from sarcoma patients who received high-dose chemotherapy.

研究分野：がん免疫，骨軟部腫瘍

キーワード：肉腫幹細胞 免疫記憶幹細胞 代謝 癌抗原

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

#### 1. 研究開始当初の背景

骨肉腫に代表される骨軟部悪性腫瘍は若年者に好発し、また予後不良であるため、常に新しい治療法が求められている。申請者は自家細胞傷害性 T リンパ球(CTL)クローンに認識される骨肉腫抗原 PBF を同定し、PBF を標的としたペプチドワクチン療法の第 1 相臨床試験を行ってきた。2009 年より骨肉腫に対して PBF A24.2 ペプチドまたは PBF A2.2 ペプチドを用いた第 1 相臨床試験を実施した。のべ 10 例の末期骨肉腫患者に接種して、3 例で SD、9 例でテトラマー陽性細胞増加または ELISPOT 陽性スポット増加が観察された。そして術前術後化学療法を施行できなかった高齢症例で PBF A2.2 ペプチド接種患者で長期生存(31 か月)が得られた。また、2013 年より後腹膜原発の粘液性線維肉腫術後症例に対して予備研究として PBF A24.2 ペプチド 10mg と他のがん抗原特異的ペプチドワクチン(サバイピン 2B ペプチド)1mg を用いたカクテルワクチン療法を IFA と IFN を併用して行った。驚くべきことにわずか 1 回のワクチンで PBF A24.2 ペプチド特異的テトラマー陽性細胞が大きく増加した。そしてサバイピン 2B 特異的テトラマー陽性細胞の増加を伴いながら、2 か月に渡って維持された。そして初回ワクチンの後、切除断端に再発病変が観察されたが腫瘍径は不変のまま維持された。再発腫瘍を切除検索した結果、多数の CD8 陽性 T 細胞浸潤と腫瘍のおよそ半分の領域に壊死を認めた。ペプチドワクチン特異的 CTL が臨床効果に深く関わっている可能性がある。

しかし肉腫に対する免疫療法のさらなる実効化のためには、(1)新しい標的として肉腫幹細胞とその特異抗原の探索、(2)肉腫に対する免疫記憶の誘導と長期維持が重要と考えている。

肉腫幹細胞(Sarcoma Stem-like Cell; SSC)は自己複製能、分化能、造腫瘍能を持つ細胞である。SSC は化学療法および放射線療法に耐性であり、また再発・転移を引き起こすと考えられ、肉腫幹細胞を標的とした治療戦略は大変重要である。我々は骨悪性線維性組織球腫細胞株(MFH2003)を用いて、肉腫細胞に薬剤耐性形質を示す side population (SP)細胞が含まれることを世界で初めて明らかにした。そして SP 細胞は in vitro および in vivo での造腫瘍能が高く、肉腫幹細胞の性質をもつことを示した。また我々が樹立した類上皮肉腫細胞株(ESX)はアルデヒド代謝酵素 ALDH 活性の高い ALDH<sup>high</sup>細胞が肉腫幹細胞の性質もち、また類上皮肉腫幹細胞抗原として CD109 を高発現していることを示した。しかし、未だに肉腫幹細胞抗原に関する報告は少ない。

一方で、骨軟部肉腫患者に対する大量化学療法は腫瘍細胞を殺傷すると同時に、免疫担当細胞も破壊しうる。しかし化学療法後に重篤な骨髄抑制状態(ナディア)に陥る患者でも、回復後は感染免疫記憶を保持されている。これは抗がん剤に暴露されても生存可能な免疫記憶幹細胞の存在を示唆している。我々は免疫記憶幹細胞の同定が肉腫の免疫制御に大変重要と考えた。

#### 2. 研究の目的

(1) 骨肉腫における新規肉腫幹細胞抗原を検索して、新しい免疫療法の臨床開発につなげる。  
(2) 薬剤耐性能、増殖能と長期生存能、エフェクターへ向けた分化能を持つ新しいヒト CD8 陽性免疫記憶 T 細胞(免疫記憶 T 幹細胞)を同定・解析して、免疫記憶 T 幹細胞の増殖と維持の制御を試み、免疫療法の効果予測サロゲージマーカーとしての可能性を評価する。

そして肉腫幹細胞抗原に特異的な免疫記憶 T 幹細胞を効果的に増幅・維持できる免疫療法への応用を目指す。

#### 3. 研究の方法

(1) 新規骨肉腫幹細胞抗原の同定と治療人工抗体の開発: 新規骨肉腫細胞株 OS13 を用いて肉腫幹細胞を分離して、遺伝子プロファイリングにより肉腫幹細胞特異抗原を同定する  
(2) 免疫記憶 T 幹細胞の同定と制御: 健常者および肉腫患者の T 細胞より、薬剤耐性、高い増殖能、分化能を持つ細胞を分離する。そしてウイルスと肉腫抗原に対する免疫記憶を解析して、新しいヒト免疫記憶 T 幹細胞を同定する。

#### 4. 研究成果

(1) 骨肉腫幹細胞抗原 LIN28B の同定と解糖系阻害による骨肉腫造腫瘍能の制御  
骨肉腫生検組織より樹立した極めて高い造腫瘍能を持つ骨肉腫細胞株 OS13 を用いて、高い造腫瘍能と抗がん剤耐性を示す骨肉腫幹細胞に高発現する肉腫幹細胞抗原候補として LIN28B を同定した(図 1)。LIN28B は造腫瘍能を促進し、その機序は LIN28B がピルビン酸からアセチル CoA への代謝を間接的に抑制することで、ミトコンドリア機能を抑制し、エネルギー代謝を解糖系に依存させることによる。LIN28B は mRNA および蛋白レベルで骨肉腫をはじめ肉腫において広く発現がみられ、正常組織での発現は精巣と胎盤に局限する癌精巣抗原に類似の発現パターンを示した。解糖系阻害薬 2-deoxyglucose により骨肉腫幹細胞の造腫瘍能は抑制され、化学療法剤アドリアマイシンへの感受性が増加した。骨肉腫に代表される大量化学療法は抗がん免疫を破壊する。解糖系阻害薬併用より、免疫を破壊しない低用量化学療法が可能になるかもしれない。

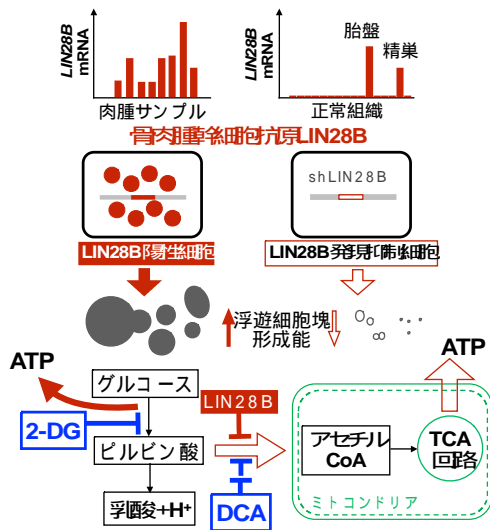


図1 骨肉腫幹細胞に対する解糖系阻害療法の開発。LIN28B 陽性骨肉腫幹細胞の造腫瘍能と代謝は解糖系に依存する。解糖系阻害薬により骨肉腫幹細胞の造腫瘍能抑制効果が得られた。2-DG, 2-deoxyglucose (グルコースからグルコース6リン酸への代謝を阻害); DCA, dichloroacetate (ピルビン酸からアセチル CoA への代謝を間接的に促進)。

(2) 新規ヒト免疫記憶幹細胞 (Young memory T細胞) の同定

新しい免疫記憶 T 幹細胞を同定するために、始めに健康者末梢血より T 細胞を分離して、T 細胞の薬剤耐性を司るアルデヒド脱水素酵素 (ALDH) 活性を測定した。すると ALDH 活性の高い T 細胞球集団 (ALDH<sup>high</sup>) が存在し、この集団は抗がん剤アドリアマイシンに対する耐性および CD3/CD28 マイクロビーズによる T 細胞受容体刺激に対して高い増殖能をもつことがわかった。そしてその多くはこれまで免疫記憶を担当していないとされる CD45RA+CD62L+ のナイーブ分画に多く存在していた。ALDH<sup>high</sup> 細胞と ALDH 活性の低い T 細胞 (ALDH<sup>low</sup>) の間で遺伝子発現プロファイリングを比較し、この ALDH<sup>high</sup> 細胞は CD73 および CXCR3 を細胞表面マーカーとして発現することがわかった。そして、CD45RA+CD62L+CD73+CXCR3+ T 細胞は、臍帯血に由来する純粋なナイーブ細胞と区別することが可能であった。そこで我々はこの T 細胞分画を新しい免疫記憶幹細胞と考え、"Young memory T 細胞" と名付けた。Young memory T 細胞は他の T 細胞分画 (セントラルメモリー細胞; T<sub>CM</sub>, エフェクターメモリー細胞; T<sub>EM</sub>, エフェクター細胞; T<sub>EFF</sub>) と比較して、抗がん剤アドリアマイシンに対する耐性を示した。また CD3/CD28 マイクロビーズによる T 細胞受容体刺激に対して高い増殖能を示した。そして Young memory T 細胞は免疫記憶 T 細胞の恒常性サイトカイン (IL-7 と IL-15) 存在下で T<sub>CM</sub>, T<sub>EM</sub>, T<sub>EFF</sub> へ分化可能であった。そして Young memory T 細胞から EB ウイルス抗原特異的 T 細胞、および癌抗原 PBF とサバイピン特異的 T 細胞が癌患者から誘導された。米国 NCI からは CD95 陽性免疫記憶 T 幹細胞 (T<sub>SCM</sub>) の報告があり、T<sub>SCM</sub> はナイーブ T 細胞に近い形質を持つ。Young memory T 細胞は CD95 陰性であり、T<sub>SCM</sub> よりもさらにナイーブ細胞に近い形質を持つ免疫記憶 T 幹細胞と考えられる。

骨肉腫に対する大量化学療法は骨肉腫細胞を殺傷すると同時に骨肉腫抗原に対する免疫記憶を破壊する。しかし我々が同定した新しい抗がん剤耐性免疫記憶幹細胞である Young memory T 細胞を制御できれば、化学療法を必要とする肉腫患者においても効果的な免疫応答と臨床効果の誘導が可能と考える。実際に化学療法を受けた肉腫患者においても、Young memory T 細胞からウイルスおよび癌抗原特異的 T 細胞が誘導される。

免疫記憶細胞の分化と Young memory T 細胞

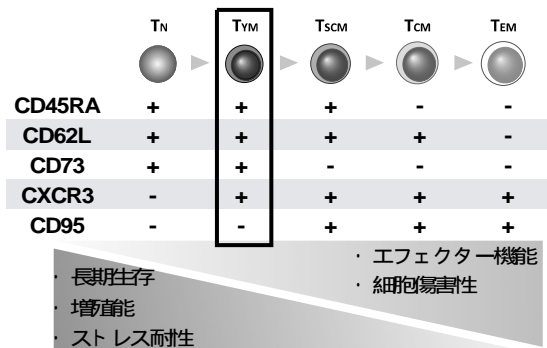


図2 CD8+T 細胞分画の階層モデル。(村田ら。日本臨床免疫学会誌。2016より改変。)

T<sub>N</sub>: ナイーブ, T<sub>YM</sub>: Young memory, T<sub>SCM</sub>: stem cell memory, T<sub>CM</sub>: セントラルメモリー, T<sub>EM</sub>: エフェクターメモリー

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 35 件)

【原著】

- Li D, Toji S, Watanabe K, Torigoe T, **Tsukahara T (corresponding author)**. Identification of novel human leukocyte antigen-A\*11:01-restricted cytotoxic T-lymphocyte epitopes derived from osteosarcoma antigen papillomavirus binding factor. Cancer Sci, 2019; 110: 1156-1168. doi:

- 10.1111/cas.13973
2. Watanabe K, **Tsukahara T (corresponding author)**, Toji S, Saitoh S, Hirohashi Y, Nakatsugawa M, Kubo T, Kanaseki T, Kameshima H, Terui T, Sato N, Torigoe T. Development of a TCR multimer with high avidity for detecting a naturally presented tumor-associated antigen on osteosarcoma cells. *Cancer Sci*, 2019; 110: 40-51. doi: 10.1111/cas.13854.
  3. Kubo T, Tsujiwaki M, Hirohashi Y, **Tsukahara T**, Kanaseki T, Nakatsugawa M, Hasegawa T, Torigoe T. Differential bronchial epithelial response regulated by  $\Delta$ Np63: a functional understanding of the epithelial shedding found in asthma. *Lab Invest*. 2019; 99: 158-168. doi: 10.1038/s41374-018-0132-6.
  4. Tabuchi Y, Hirohashi Y, Hashimoto S, Mariya T, Asano T, Ikeo K, Kuroda T, Mizuuchi M, Murai A, Uno S, Kawai N, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Saito T, Torigoe T. Clonal analysis revealed functional heterogeneity in cancer stem-like cell phenotypes in uterine endometrioid adenocarcinoma. *Exp Mol Pathol*, 2018; 106:78-88. doi: 10.1016/j.yexmp.2018.11.013.
  5. Shima H, Kutomi G, Satomi F, Imamura M, Kimura Y, Mizuguchi T, Watanabe K, Takahashi A, Murai A, **Tsukahara T**, Kanaseki T, Hirohashi Y, Iwayama Y, Tsuruma T, Kameshima H, Sato N, Torigoe T, Takemasa I. Case report: Long-term survival of a pancreatic cancer patient immunized with an SVN-2B peptide vaccine. *Cancer Immunol Immunother*. 2018; 67:1603-1609. doi: 10.1007/s00262-018-2217-x.
  6. Miyamoto S, Kochin V, Kanaseki T, Hongo A, Tokita S, Kikuchi Y, Takaya A, Hirohashi Y, **Tsukahara T**, Terui T, Ishitani K, Hata F, Takemasa I, Miyazaki A, Hiratsuka H, Sato N, Torigoe T. The antigen ASB4 on cancer stem cells serves as a target for CTL immunotherapy of colorectal cancer. *Cancer Immunol Res*. 2018; 358-369. doi: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0518.
  7. Kusumoto H, Hirohashi Y, Nishizawa S, Yamashita M, Yasuda K, Murai A, Takaya A, Mori T, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Kondo T, Sato N, Hara I, Torigoe T. Cellular stress induces cancer stem-like cells through expression of DNAJB8 by activation of HSF1. *Cancer Sci*. 2018;109:741-750. doi: 10.1111/cas.13501.
  8. Ogawa T, Hirohashi Y, Murai A, Nishidate T, Okita K, Wang L, Ikehara Y, Satoyoshi T, Usui A, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Kutomi G, Furuhashi T, Hirata K, Sato N, Mizuguchi T, Takemasa I, Torigoe T. ST6GALNAC1 plays important roles in enhancing cancer stem phenotypes of colorectal cancer via the Akt pathway. *Oncotarget*. 2017;8:112550-112564. doi: 10.18632/oncotarget.22545. eCollection 2017 Dec 22.
  9. Shibayama Y, **Tsukahara T (corresponding author)**, Emori M, Murata K, Mizushima E, Hirohashi Y, Kanaseki T, Nakatsugawa M, Kubo T, Yamashita T, Sato N, Torigoe T. Implication of chemo-resistant memory T cells for immune surveillance in patients with sarcoma receiving chemotherapy. *Cancer Sci*. 2017;108:1739-1745. doi: 10.1111/cas.13319.
  10. Kochin V, Kanaseki T, Tokita S, Miyamoto S, Shionoya Y, Kikuchi Y, Morooka D, Hirohashi Y, **Tsukahara T**, Watanabe K, Toji S, Kokai Y, Sato N, Torigoe T. HLA-A24 ligandome analysis of colon and lung cancer cells identifies a novel cancer-testis antigen and a neoantigen that elicits specific and strong CTL responses. *Oncoimmunology*.2017;16:e1293214.
  11. Inoue R, Hirohashi Y, Kitamura H, Nishida S, Murai A, Takaya A, Yamamoto E, Matsuki M, Tanaka T, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Sato N, Masumori N, Torigoe T. GRIK2 has a role in the maintenance of urothelial carcinoma stem-like cells, and its expression is associated with poorer prognosis. *Oncotarget*. 2017;8:28826-28839.
  12. Yasuda K, Hirohashi Y, Mariya T, Murai A, Tabuchi Y, Kuroda T, Kusumoto H, Takaya A, Yamamoto E, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Tamura Y, Hirano H, Hasegawa T, Saito T, Sato N, Torigoe T. Phosphorylation of HSF1 at serine 326 residue is related to the maintenance of gynecologic cancer stem cells through expression of HSP27. *Oncotarget*. 2017;8:31540-31553. doi: 10.18632/oncotarget.16361.
  13. Kubo T, Hirohashi Y, Matsuo K, Sonoda T, Sakamoto H, Furumura K, **Tsukahara T**, Kanaseki T, Nakatsugawa M, Hirano H, Furuhashi T, Takemasa I, Hasegawa T, Torigoe T. Mismatch Repair Protein Deficiency Is a Risk Factor for Aberrant Expression of HLA Class I Molecules: A Putative "Adaptive Immune Escape" Phenomenon. *Anticancer Res*. 2017; 37:1289-1295.
  14. Horibe R, Hirohashi Y, Asano T, Mariya T, Suzuki T, Takaya A, Saijo H, Shionoya Y, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Watanabe K, Atsuyama E, Toji S, Hirano H, Hasegawa T, Takahashi H, Sato N, Torigoe T. Brother of the regulator of the imprinted site (BORIS) variant subfamily 6 is a novel target of lung cancer stem-like cell immunotherapy. *PLoS One*. 2017; 12: e0171460. doi: 10.1371/journal.pone.0171460.
  15. Wang L, Hirohashi Y, Ogawa T, Shen M, Takeda R, Murai A, Yamamoto E, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Nishidate T, Okita K, Kutomi G, Sato N, Takemasa I, Torigoe T. LY6/PLAUR domain containing 3 has a role in the maintenance of colorectal cancer stem-like cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017;486:232-238.
  16. Takeda R, Hirohashi Y, Shen M, Wang L, Ogawa T, Murai A, Yamamoto E, Kubo T, Nakatsugawa

- M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Nishidate T, Okita K, Kutomi G, Sato N, Takemasa I, Torigoe T. Identification and functional analysis of variants of a cancer/testis antigen LEMD1 in colorectal cancer stem-like cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2017;485:651-657.
17. Shionoya Y, Kanaseki T, Miyamoto S, Tokita S, Hongo A, Kikuchi Y, Kochin V, Watanabe K, Horibe R, Saijo H, **Tsukahara T**, Hirohashi Y, Takahashi H, Sato N, Torigoe T. Loss of tapasin in human lung and colon cancer cells and escape from tumor-associated antigen-specific CTL recognition. *Oncoimmunology* 2017; 6: e1274476. DOI: 10.1080/2162402X.2016.1274476
18. Tanaka T, Kutomi G, Kajiwara T, Kukita K, Kochin V, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Hirohashi Y, Torigoe T, Okamoto Y, Hirata K, Sato N, Tamura Y. Cancer-associated oxidoreductase ERO1- $\alpha$  promotes immune escape through up-regulation of PD-L1 in human breast cancer. *Oncotarget.* 2017; 8:24706-247018. doi: 10.18632/oncotarget.14960.
19. Kajiwara T, Tanaka T, Kukita K, Kutomi G, Saito K, Okuya K, Takaya A, Kochin V, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Hirohashi Y, Torigoe T, Hirata K, Sato N, Tamura Y. Hypoxia augments MHC class I antigen presentation via facilitation of ERO1- $\alpha$ -mediated oxidative folding in murine tumor cells. *Eur J Immunol.* 2016; 46: 2842-2851.
20. Saijo H, Hirohashi Y, Torigoe T, Horibe R, Takaya A, Murai A, Kubo T, Kajiwara T, Tanaka T, Shionoya Y, Yamamoto E, Maruyama R, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Tamura Y, Sasaki Y, Tokino T, Suzuki H, Kondo T, Takahashi H, Sato N. Plasticity of lung cancer stem-like cells is regulated by the transcription factor HOXA5 that is induced by oxidative stress. *Oncotarget.* 2016;7:50043-50056. doi: 10.18632/oncotarget.10571.
21. Takaya A, Hirohashi Y, Murai A, Morita R, Saijo H, Yamamoto E, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Tamura Y, Takemasa I, Kondo T, Sato N, Torigoe T. Establishment and Analysis of Cancer Stem-Like and Non-Cancer Stem-Like Clone Cells from the Human Colon Cancer Cell Line SW480. *PLoS One.* 2016;14:e0158903.
22. Tanaka T, Kutomi G, Kajiwara T, Kukita K, Kochin V, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Hirohashi Y, Torigoe T, Okamoto Y, Hirata K, Sato N, Tamura Y. Cancer-associated oxidoreductase ERO1- $\alpha$  drives the production of VEGF via oxidative protein folding and regulating the mRNA level. *Br J Cancer.* 2016; 114: 1227-1234.
23. Ito N, Kamiguchi K, Nakanishi K, Sokolovskya A, Hirohashi Y, Tamura Y, Murai A, Yamamoto E, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Kochin V, Chiba S, Shimohama S, Sato N, Torigoe T. A novel nuclear DnaJ protein, DNAJC8, can suppress the formation of spinocerebellar ataxia 3 polyglutamine aggregation in a J-domain independent manner. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016; 474: 626-33. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.03.152.
24. Murata K, **Tsukahara T (corresponding author)**, Emori M, Shibayama Y, Mizushima E, Matsumiya H, Yamashita K, Kaya M, Hirohashi Y, Kanaseki T, Kubo T, Himi T, Ichimiya S, Yamashita T, Sato N, Torigoe T. Identification of a novel human memory T cell population with the characteristics of stem-like chemo-resistance. *OncoImmunology.* 2016; 5:e1165376.
25. Yasuda K, Yoshihiko H, Kuroda T, Takaya A, Kubo T, Kanaseki T, **Tsukahara T**, Hasegawa T, Saito T, Sato N, Torigoe T. MAPK13 is preferentially expressed in gynecological cancer stem cells and has a role in the tumor-initiation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2016; 472: 643-647.
- 【総説】
26. 村田憲治, **塚原智英**, 江森誠人, 芝山雄二, 水島衣美, 加谷光規, 山下敏彦, 鳥越俊彦. 抗がん剤耐性性能を持つ新しいヒト免疫記憶T幹細胞集団の同定. *北海道整災* 2018,60: 1-5.
27. 江森誠人, **塚原智英**, 杉田真太郎, 園田智子, 村橋靖崇, 清水淳也, 水島衣美, 相馬有, 佐々木幹人, 加谷光規, 名越智, 長谷川匡, 和田卓郎, 山下敏彦. CD109 は粘液線維肉腫の予後予測因子である. *北海道整災外* 2017, 59: 6-10.
28. **塚原智英**, 廣橋良彦, 鳥越俊彦. 次世代がんペプチドワクチン療法の開発. *日本臨牀* 2017; 75: 275-279.
29. 宮本昇, 金関貴幸, 廣橋良彦, **塚原智英**, 菊池泰弘, 佐藤昇志, 鳥越俊彦. がん幹細胞の単離と免疫治療に向けた標的抗原の同定. *日本臨床免疫学会雑誌*, 2017; 40: 40-47.
30. Hirohashi Y, Torigoe T, **Tsukahara T**, Kanaseki T, Kochin V, Sato N. Immune responses to human cancer stem-like cells/cancer-initiating cells. *Cancer Sci.* 2016; 107: 12-17. doi: 10.1111/cas.12830.
31. 村田憲治, **塚原智英**, 鳥越俊彦. がん免疫療法と免疫記憶. *日本臨床免疫学会会誌*, 2016; 39:18-22.
32. 芝山雄二, **塚原智英**, 鳥越俊彦. がん幹細胞を標的としたペプチドワクチン療法の開発. *日本医歯薬ジャーナル*, 2016; 52: 1073-1076.
33. **Tsukahara T (corresponding author)**, Emori M, Murata K, Mizushima E, Shibayama Y, Kubo T, Kanaseki T, Hirohashi Y, Yamashita T, Sato N, Torigoe T. The future of immunotherapy for sarcoma. *Expert Opin Biol Ther.* 2016; 16: 1049-1057.
34. **Tsukahara T (corresponding author)**, Hirohashi Y, Kanaseki T, Nakatsugawa M, Kubo T, Sato N, Torigoe T. Peptide vaccination therapy: Towards the next generation. *Pathol Int.* 2016; 66: 547-553.

35. 江森誠人, 塚原智英, 村橋靖崇, 清水淳也, 水島衣美, 山下敏彦. 札幌医科大学での骨軟部腫瘍: 現状と課題. 北海道整災外 2016, 58: 179-183.

[学会発表](計 13 件)

1. 塚原智英. 免疫チェックポイント阻害剤のエビデンスレビュー. 日本臨床免疫学会総会アニュアルエビデンスレビュー大阪大会 2019. 2019年3月3日: 大阪
2. 塚原智英. 肉腫のイムのバイオロジー. (特別企画3. サルコーマバイオロジー) 第2回日本サルコーマ治療研究会学術集会. 2019年2月22-23日: 一ツ橋
3. 塚原智英. 免疫チェックポイント阻害剤のエビデンスレビュー. アニュアルエビデンスレビュー2. 第46回日本臨床免疫学会総会. 2018年11月8-10日: 軽井沢
4. 塚原智英, 水島衣美, 江森誠人, 只野裕己, 鳥越俊彦, 山下敏彦. 骨軟部肉腫に対する癌幹細胞抗原 DNAJB8 を標的とした HLA/ペプチド複合体特異的人工抗体の開発. 骨軟部腫瘍の基礎を語る会 2018. 2018年10月11日: 奈良
5. 塚原智英, 水島衣美, 江森誠人, 只野裕己, 鳥越俊彦, 山下敏彦. 骨軟部肉腫に対する癌幹細胞抗原 DNAJB8 を標的とした HLA/ペプチド複合体特異的人工抗体の開発. 第33回日本整形外科学会基礎学術集会. 2018年10月11-12日: 奈良
6. 塚原智英. 肉腫に対する免疫療法の基礎と臨床. (ワークショップ10. 病理学的解析が拓くがん免疫研究の進展と未来) 第107回日本病理学会総会. 2018年6月21日-23日: 札幌
7. 塚原智英. これでわかる! がん免疫. 教育研修講演 35. 第91回日本整形外科学会学術総会. 2018年5月24日-27日: 神戸
8. 塚原智英. がん抗原を標的とした免疫療法 (チュータートーク) 第12回日本臨床免疫学会 Midwinter Seminar: 2018年2月21日-24日: 沖縄.
9. **Tsukahara T**, Kameshima H, Terui T, Watanabe K, Torigoe T. Peptide vaccination could elicit strong immune responses and be re-boosted by anti-PD1 therapy in a patient with myxofibrosarcoma. 第21回日本がん免疫学会: 2017年6月28-30日: 幕張
10. **Tsukahara T**. A novel population of stem-like memory T-cells. In: 36<sup>th</sup> Sapporo International Cancer Symposium: 2017 June 22-24, Sapporo, Japan.
11. 塚原智英, 村田憲治, 水島衣美, 芝山雄二, 只野裕己, 江森誠人, 鳥越俊彦. 新しい抗がん剤耐性免疫記憶 T 幹細胞の同定. 第106回日本病理学会総会: 2017年4月27-29日: 新宿
12. 塚原智英. がん抗原を標的とした免疫療法 (チュータートーク) 第11回日本臨床免疫学会 Midwinter Seminar: 2017年2月22日-25日: 沖縄.
13. **Tsukahara T**, Emori M, Shibayama Y, Mizushima E, Torigoe T. Identification of a novel human memory T cell population with the characteristics of stem-like chemo-resistance. 第20回日本がん免疫学会: 2016年7月27-29日: 大阪.

[図書](計 3 件)

1. 塚原智英, 江森誠人, 水島衣美, 山下敏彦, 鳥越俊彦. 第11章第5節 骨軟部肉腫に対するがんペプチドワクチンの開発. ペプチド医薬品のスクリーニング・安定化・製剤化技術. 東京: 技術情報公開; 2017. pp458-464.
2. 塚原智英, 鳥越俊彦. 第2章第1節 次世代がんワクチン療法の開発. 次世代がん治療. 発症・転移メカニズムからがん免疫療法・ウイルス療法, 診断法まで. 東京: エヌ・ティエー・エス; 2017. pp83-86.
3. **Tsukahara T**, Wada T. Immunotherapy for osteosarcoma. In: Ueda T, Kawai A, editors. Osteosarcoma - A Multidisciplinary Approach to Treatment. Tokyo: Springer Japan KK; 2016. pp31-41.

[産業財産権]

○出願状況(計 2 件)

名称: がん幹細胞特異的抗体.

発明者: 塚原智英, 鳥越俊彦.

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2018-189834

取得年: 出願中

国内外の別: 国内

名称: T 細胞レセプターとその利用.

発明者: 鳥越俊彦, 塚原智英, 田路真悟, 中野一絵, 齋藤尚吾.

権利者: 同上

種類: 特許

番号: 特願 2017-53317

出願年: 2017 年

国内外の別: 国内

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。