

平成 22 年 5 月 19 日現在

研究種目：特定領域研究  
 研究期間：2005～2009  
 課題番号：17016053  
 研究課題名（和文）  
 新規遺伝子治療ベクターの開発と悪性腫瘍モデルコモンマーモセットを用いた前臨床研究  
 研究課題名（英文）  
 Development of new gene therapy vectors and the preclinical cancer animal model system using common marmoset  
 研究代表者 谷 憲三郎（TANI KENZABURO）  
 九州大学 生体防御医学研究所 教授  
 研究者番号：00183864

## 研究成果の概要（和文）：

新しい癌に対する遺伝子治療法開発を最終目的に新しい動物腫瘍モデル作出技術ならびに新規遺伝子治療法の開発を行った。その結果、特筆すべきものとして小型霊長類コモンマーモセットに HTLV(ヒト T リンパ好性ウイルス)・1 感染キャリアモデルを作出することができ、成人 T 細胞白血病の病態解明および治療法開発に有用であると考えられる。また新たな癌に対する遺伝子治療法として腫瘍溶解性麻疹ウイルス、腫瘍溶解性エンテロウイルス、さらには GM-CSF 遺伝子発現キャリア細胞を用いた新規免疫遺伝子治療法を開発することができ、臨床展開を図る段階に至ることができた。

## 研究成果の概要（英文）：

To develop new therapies for cancer, we have been involved in the development of new animal cancer models and new gene therapy methods. During the past 5 years, we could successfully develop human T-lymphotropic virus (HTLV)-1 carrier model in small monkey of common marmoset. This animal model will become very helpful to elucidate pathophysiology of human adult T-cell leukemia and to develop its new therapeutic modality. We also developed new oncolytic virus gene therapy methods using measles virus and enterovirus, and new immune gene therapy method using GM-CSF expressing carrier cells. We are now preparing the phase I clinical study using this new gene therapy method.

## 交付決定額

（金額単位：円）

|       | 直接経費       | 間接経費 | 合計         |
|-------|------------|------|------------|
| 17 年度 | 10,000,000 | 0    | 10,000,000 |
| 18 年度 | 10,000,000 | 0    | 10,000,000 |
| 19 年度 | 10,000,000 | 0    | 10,000,000 |
| 20 年度 | 10,000,000 | 0    | 10,000,000 |
| 21 年度 | 10,000,000 | 0    | 10,000,000 |
| 総計    | 50,000,000 | 0    | 50,000,000 |

## 研究分野：血液腫瘍学

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍免疫学

キーワード：コモンマーモセット,フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病,顆粒系マクロファージコロニー刺激因子,免疫遺伝子治療,ケモカイン,麻疹ウイルス,エンテロウイルス

## 1. 研究開始当初の背景

がんに対する遺伝子治療臨床研究が米国において初めて開始されてから既に 15 年になるうとしており、製造承認を得ている遺伝子

治療薬として中国において p53 アデノウイルスベクター製剤があるものの、まだ多くが製剤化されていない。その大きな理由として、(1)前臨床研究として用いられるマウス腫瘍

モデル系では種差のため有効性検討はある程度可能であっても安全性についての検討が不十分である可能性がある、(2)腫瘍細胞の標的化技術が不十分であり、長期的な *in vivo* での抗腫瘍効果が得られていない、(3)遺伝子治療の初期研究では1種類の遺伝子を用いることが求められてきたため、多因子疾患である癌への対応力としては不十分な可能性がある、といったことがあげられる。これらの問題点を解決し新規遺伝子治療法を開発することは今後の重要な課題であると考えられ本研究を計画した。

## 2. 研究の目的

本研究は以下の3点を明らかにすることを目的とする。すなわち、(1)小型霊長類コモンマーモセット(CM)血液悪性腫瘍モデルの作出：フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病(Ph+ALL)の原因遺伝子であるp190タイプbcr/ablなどの発がん関連融合遺伝子発現レンチウイルスベクター等を用いてCM白血病モデルを作出すると共にその有用性を検証する。(2)白血病細胞標的化法の開発：白血病細胞を表面抗原ならびに原因遺伝子転写産物レベルで標的化・攻撃できるヒト型単クローン抗体等を用いた白血病細胞標的化遺伝子治療製剤を作製し、その安全性、有効性をCMやマウス白血病モデルを用いて検討する。(3)新規GM-CSF(顆粒球マクロファージコロニー刺激因子)免疫遺伝子治療の臨床開発：GM-CSF遺伝子治療との併用効果が期待できるケモカイン遺伝子導入センダイウイルスベクターを用いた新規免疫遺伝子治療法開発研究を行う。

## 3. 研究の方法

### (1)小型霊長類コモンマーモセット(CM)血液悪性腫瘍モデルの作出

1) p190タイプbcr/abl遺伝子導入VSV-Gシールドタイプレンチウイルスベクター(PsLV)を*in vitro*でマーモセットの末梢血単核球細胞に導入後、(ブスルファン処置後)自家移植した。あるいは5-Fluorouracilを大腿静脈内に投与後、プレドニゾン投与による免疫抑制を行い、左右両膝関節の1cm直上から大腿骨髄内にPsLVを骨髄内に注入した。各個体においてp190bcr-abl mRNA / DNAをRT-PCR法 / PCR法を用いて検出した。2) ATL(成人T細胞性白血病)モデル：HTLV-1産生MT-2細胞株を経静脈あるいは経腹腔内に霊長類であるコモンマーモセットに投与し、経時的に採血を行い、HTLV-1抗体価、HTLV-1プロウイルス量、末梢血スメアを経時的に観察した。

## (2) 白血病細胞標的化法の開発

(i)CD19陽性細胞を標的とする新規ペクターの開発：予後不良の白血病である、フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病(Ph+ALL)に対する新規治療法としてPh+ALL細胞に普遍的に発現している表面抗原であるCD19を標的としたドラッグデリバリーシステムを我々はマウス抗体を用いて報告した(Harata M., et al., Blood, 2004)。この結果から、CD19-リボソームによるドラッグデリバリーシステムはPh+ALLに対する治療法として極めて安全かつ有効と考えられたが、CD19-リボソームを多用することで抗CD19抗体に対する抗体が患者体内で産生され、本剤が標的細胞(Ph+ALL細胞)に到達せず、有効な治療効果が得られない可能性がある。そこで我々は本剤の抗原性を低下させるため、抗CD19抗体の抗原結合部位(VH,VL)を3個のGSリンカーで繋いだanti-CD19単鎖FV(CD19-ScFV)を作製し、このCD19-ScFVとイマチニブ内包リボソームを結合したCD19-ScFV-リボソームによるPh+ALL標的化法の開発を試みている。なお、ScFVはVL,VHという抗原結合に必要な最小単位からなるため、完全長の免疫グロブリンと比較して抗原性が低く、また抗体サイズも小さいため組織浸透性が高くドラッグデリバリーにはきわめて有効な抗体と考えられる。CD19-ScFV-リボソーム剤を作製するためには高純度のCD19-ScFVが必要であるので、まず我々はCD19-ScFVの高効率発現系を確立するため、大腸菌を用いた蛋白質発現系を用いてCD19-ScFVの蛋白質発現の至適条件検討を試みた。

### (ii)野生型N,P,L遺伝子発現麻疹ウイルスエドモンストン株療法の開発：

ワクチン株であるEdmonston麻疹ウイルス(MV-Edm)はCD46を用いてヒト腫瘍細胞に選択的に感染し、腫瘍溶解性を示すことが明らかにされている。我々は、CD46をターゲットにした選択的腫瘍向性を持ち、安全で高い腫瘍内増殖能および腫瘍溶解特性を備えた麻疹ウイルス変異株の作成を試みた。麻疹ウイルスのN、P、L遺伝子はウイルス複製・増殖に関わるRibonucleoprotein(RNP)を形成し、野生株のP/V/Cタンパク質はIFN-の抗ウイルス効果を抑制することが報告されている。そこで野生株麻疹ウイルスのP遺伝子とN、P、L遺伝子をMV-Etag(MV-EdmからVタンパク質機能欠損した変異株)対応部位の遺伝子と置換することにより、新規麻疹ウイルス変異株を設計し(MV-P、MV-NPL)その抗腫瘍効果を*in vitro/in vivo*で検討した。

### (iii)エンテロウイルスを用いた悪性腫瘍に対する新規腫瘍溶解療法の開発：

38種類のエンテロウイルスを用いて様々な癌細胞に対してスクリーニングを行った。す

なわち各癌細胞株を 24 穴プレートに播種し、接着後に各ウイルスを MOI = 0.01~1 にて細胞に希釈添加後 37、5%CO<sub>2</sub> で一時間孵置し、3~5 日間培養観察した。さらに、肺癌細胞傷害性が顕著であった CVB(Coxsackievirus B)(2,3,4)を用いて、2 次スクリーニングを行った。数種類の肺正常細胞と肺癌細胞を 24 穴プレートに播種後、CVB を MOI = 0.1~1(肺正常細胞)或いは 0.001~0.1(肺癌細胞)で細胞に添加し、同条件下に 3 日間培養した。PBS 洗浄後、グルタルアルデヒド溶液で 15min 固定し、クリスタルバイオレット溶液で 10min 染色した。次に CVB3 受容体である CAR 及び DAF(CD55)発現を比較解析する目的で、上記細胞を 96 穴プレートに播種し anti-CAR と PE-anti-DAF 抗体反応後、flow cytometry 法を施行した。次に、Cell Titer 96 Aqueous NonRadioactive Cell Proliferation Assay により経時的に細胞傷害性を解析した。また、CVB3 を MOI = 1, 10(正常細胞)、0.001, 0.01(癌細胞)で 1 時間感染させ、MTS 試薬を用いて細胞生存率を比較解析した(in vitro)。アポトーシス検出解析として、A549 肺癌細胞を播種後、CVB3 を感染させ(MOI=1)、24 時間後に細胞回収、タンパク質を抽出し SDS-PAGE 後、抗 PARP 抗体を用いた Western Blotting 法により PARP フラグメントを比較定量した。

担癌マウスモデルにおける治療効果検討として、まず A549 細胞を  $3 \times 10^6$  個、BALB/c ノードマウス皮下に接種し、2 日後(腫瘍長径 3~4mm)に腫瘍内に対照群は OPTI-MEM、治療群は CVB3 を  $5 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub> で投与した(n=6)。これを一日おきに繰り返し、計 5 回接種した。次に、担癌転移マウスモデルとして A549 細胞を同マウスの両側腹部に皮下接種し、2 日後に右側腹部腫瘍内に上記治療方法と同様に計 5 回接種した(n=5)。同治療経過中安全性の検討目的で、A549 細胞を  $3 \times 10^6$  個 BALB/c ノードマウスの左右側腹部に皮下接種し、上記同様 CVB3 を右側腹部腫瘍内投与した(n=4)。腫瘍内投与 5 回後 2 日目に両群マウスを安楽死させ、各主要臓器の HE 染色及び血清生化学検査を行った。また、所属リンパ節と腫瘍組織を採取し、残存腫瘍組織はコラゲナーゼ処理を加え、腫瘍上清のクリスタルバイオレット染色による感染性ウイルスの評価、及びリンパ節と腫瘍内における各免疫細胞のフェノタイプ解析を施行した。

### (3)新規 GM-CSF 免疫遺伝子治療の臨床開発

GM-CSF 遺伝子導入腫瘍細胞が生体内で誘導する抗腫瘍免疫活性を増強させる目的で、これまで詳細が不明であった GM-CSF の抗腫瘍免疫誘導活性を、担癌マウスモデル系を用い

て多面的に諸解析を行った。すなわち GM-CSF 遺伝子導入腫瘍ワクチンを接種したマウス所属リンパ節における免疫担当細胞について、野生型マウス、ロイコトリエン B4 ノックアウトマウスについて検討すると共に、ケモカイン分子である TARC および RANTES 遺伝子搭載非伝播型センダイウイルスベクターとの併用効果誘導機序についても検討した。

さらに次世代 GM-CSF 免疫遺伝子治療法として、SCCA(squamous cell carcinoma antigen)プロモーター下に腫瘍溶解性アデノウイルスを発現させる ADE3-SCCA1 ならびに GM-CSF 発現アデノウイルスベクター AXCAmGM-CSF を同時感染させた A549 キャリア細胞の in vivo 抗腫瘍効果をヒト子宮頸部扁平上皮癌(H1-III 細胞)ならびにコントロール群としてヒト腺癌(H1299 細胞)接種ヌードマウス in vivo において比較検討した。

### 4. 研究成果

#### (1)小型霊長類コモンマーモセット(CM)血液悪性腫瘍モデルの作出

1) p190 遺伝子導入造血前駆細胞の自家移植後、2 個体の末梢血で 4 週目と 8 週目に、骨髄では 13 週目に p190 遺伝子の発現が確認されたが、以降は検出されなかった。大腿骨髄内に直接ウイルスベクターを注入する方法では、長期観察の結果、大腿骨髄内にウイルスベクターを接種してから 1 年 4 ヶ月以上経過した個体 I2129 と個体 I2223 のそれぞれの末梢血単核球と末梢血好中球から p190 遺伝子の発現が確認された。同時に血球ゲノム DNA にも p190 遺伝子の組込が検出された。さらに、p190 遺伝子に加え mll/enl 融合遺伝子を共感染させた個体も設定したが、いずれの個体においても現時点まで白血病発症は認められていない。2) 経静脈的投与個体では、HTLV-1 抗体価の上昇を認めなかった。対して、経腹腔内投与個体においては、投与後より現在まで 1 年以上、HTLV-1 抗体価の持続的な上昇を認めた。いずれの個体の血液細胞の DNA からも HTLV-1 プロウイルスが持続的に検出された。定量 PCR ではプロウイルス量は 1% 未満である。末梢血スミアでは、ATL に典型的な花弁用核を持つ細胞(flower cell)は、現在まで認められていないが、核に軽度の切れ込みをもった細胞が散見された。以上より、抗体価に違いがあるものの、これらマーモセット個体において、HTLV-1 キャリアの状態を作ることができた。

今後免疫抑制剤などを用いて ATL 発症の誘導を図る予定である。本モデルは ATL 発症抑制や治療法開発を目的とした薬剤開発に極めて有用であると考えられる。

#### (2) 白血病細胞標的化法の開発

(i) CD19 陽性細胞を標的とする新規ベクターの開発：

CD19-ScFV をコードする遺伝子を pET41b ベクター、pCold ベクター、pGEX-6p-1 ベクターとそれぞれライゲーションして作製した発現用プラスミドを大腸菌 BL21 株に遺伝子導入し、イソプロピル-β-チオガラクトピラノシド (IPTG) による蛋白質の発現誘導をかけた。各発現用ベクターには 6x ヒスチジンタグ (His-tag) もしくは GST-tag が付加されており、CD19-ScFV は His-tag もしくは GST-tag との融合蛋白質として発現する。CD19-ScFV と tag の融合蛋白質を、tag 特異的レジンで充填したカラムに通すことで、融合蛋白質を特異的に分離した。pGEX-6p-1 ベクターでは、蛋白質が高効率で発現したが、pET41b ベクター、pCold ベクターはいずれも蛋白質の発現効率が低かった。この結果から、pGEX-6p-1 で CD19-ScFV の発現を行うこととし、現在 IPTG の至適濃度を検討しているところである。

### (ii)野生型N,P,L遺伝子を発現麻疹ウイルスエドモントン株療法の開発:

各種変異麻疹ウイルス株を用いて、ヒト腎細胞癌株 (A-498, OS-RC-2) および腎癌患者由来初代腎癌細胞に対する細胞傷害効果を MTT assay により評価した際、MV-NPL は MV-Etag、MV-P に比較し有意に高い細胞変性効果 (cytopathic effect, CPE) を認め、ヒト正常線維芽細胞株 (BJ-1) に対しては共に CPE は認められなかった。A-498 細胞を用いた変異株感染後の細胞内および培養溶液中のウイルス力価を時系列にて測定した際、感染後 MV-NPL では 60 時間で細胞内ウイルス力価が最高値のに対し、MV-Etag および MV-P では 84 時間後にピークが見られた。また real-time PCR においても感染 12 時間後より MV-NPL では有意に高いウイルス増殖が確認された。これらより、MV-NPL は A-498 細胞中で最も速い増殖速度を示すことが明らかになった。さらに、sub-G1 および PARP fragment を用いたアポトーシス解析では、MV-Etag 及び MV-P と比較し MV-NPL ではより早期 (48 時間後) に A-498 細胞のアポトーシスを誘導した。IFN- $\gamma$  の抗ウイルス効果の検討では、IFN- $\gamma$  添加により MV-Etag および MV-P では Vero 細胞中で有意に増殖抑制効果を認め、MV-NPL では抑制効果が認めなかった。OS-RC-2 細胞を用いて感染させた際、MV-Etag および MV-P では IFN- $\gamma$  添加により CPE は抑制されたが、MV-NPL は IFN- $\gamma$  添加によっても強い細胞変性効果を引き起こした。ヌードマウス移植ヒト腎癌由来細胞担癌モデルを作成し、各麻疹ウイルス変異株の腫瘍内投与による抗腫瘍効果を比較した。腫瘍容積、生存率曲線及び腫瘍組織内でのウイルスの増殖において MV-Etag および MV-P 投与群

に比較し MV-NPL 投与群では有意な抗腫瘍効果を示した。

### (iii)エンテロウイルスを用いた悪性腫瘍に対する新規腫瘍溶解療法の開発:

38 種類のエンテロウイルスの中から CVA、CVB 及びポリオウイルスが多くの癌種を殺傷した。我々は肺癌細胞を特に顕著に殺傷した CVB に着目し、2 次スクリーニング後、各血清群の中で CVB3 (Nancy 株) が多くの肺癌細胞株を MOI = 0.001 という極めて低いウイルス力価で殺傷することを明らかにした (図 1)。一方、肺正常細胞が殺傷されなかった。CVB3 受容体 CAR の発現は、ほとんどの肺癌細胞で発現していたのに対し、肺正常細胞では全く認めなかった。一方、DAF は肺正常細胞は 90% 以上が発現し、肺癌細胞にも発現を認めた。殺傷の程度と CAR 及び DAF 発現相関比較解析の結果から CVB3 感染増殖には CAR の発現が特に重要であり、DAF は CAR 存在下でその細胞内増殖に補助的な役割を有している可能性が推察された。経時的細胞傷害性試験の結果、CVB3 は肺正常細胞を傷害せず、肺癌細胞に対してのみ殺細胞効果を呈した。また、WB 法により CVB3 は肺癌細胞に対しアポトーシスを誘導することを明らかにした。

A549 (ヒト肺癌) 担癌マウス治療効果の検討の結果、対照群と比較し CVB3 投与治療群では有意な腫瘍の退縮を認め (3 匹 (50%) で完全な腫瘍拒絶を認め) 生存率が有意に延長した ( $P = 0.0004$ )。また、CVB3 投与による体重減少や致死的な副作用は認めなかった。

さらに、転移治療モデルにおいてもウイルス接種側の原発腫瘍は、対照群と比較し有意に退縮し、驚くべきことに対側の皮下腫瘍も有意に退縮し、生存率も有意に延長した ( $P = 0.004$ ) (図 2)。転移巣腫瘍破碎上清が A549 細胞に対し殺細胞効果を呈したことから、原発巣に接種した CVB3 はそこで増殖後、血液或いはリンパ管を介して転移巣に遊走再増殖し殺細胞効果を呈したと推察された。

安全性評価目的の血清生化学検査により、治療群において AST, ALT, CK の軽度上昇を認め、軽度の肝機能障害および筋炎を誘発した可能性が示唆された。実際に HE 染色で脾炎および心筋炎が観察された。また、免疫細胞解析の結果、CVB3 治療群の原発腫瘍内の NK 細胞、顆粒球、成熟 DC の存在比が増加していた。また、所属リンパ節においても、CVB3 治療群で成熟 DC 存在比の増加を認めた。

### (3)新規 GM-CSF 免疫遺伝子治療の臨床開発

難治性悪性腫瘍 (白血病を含む) に対する新規遺伝子治療法開発を目的に、これまでの我々の研究結果から、GM-CSF 遺伝子搭載非伝播型センダイウイルスにより遺伝子導入したマウス肺癌細胞 (LLC/SeV/GM、LLC 細胞

は低免疫原性腫瘍として知られている)を用いて腫瘍形成試験を施行した際、LLC/SeV/GM投与マウス群は、対照群である LLC/SeV/GFP 或いは LLC 投与マウス群より有意に腫瘍形成を抑制した(50%で完全拒絶)。他のメラノーマ細胞株 B16-F10、マウス乳癌細胞株 4T1 でも同様の強力な抗腫瘍効果が認められた。これらの腫瘍免疫誘導に CTL を中心とした細胞性免疫系が重要であることは知られているが、その分子学的誘導機構は不明である。その解明のために、所属リンパ節における T 細胞プライミング応答が最大となる時期を特定する目的で、各 LLC 細胞群接種より day2、day4、day7 の各マウス群所属リンパ節樹状細胞の活性化マーカー発現様式の比較解析及びリンパ球混合培養反応試験を施行した。この結果、LLC/SeV/GM-CSF 接種群において、day2 で樹状細胞の共刺激因子 CD86 および CD80 の平均蛍光強度、及び成熟化マーカー MHC class II の発現頻度の上昇を認め、さらに同接種群における CD8 陽性 T 細胞の刺激増殖能は day2 において対照群と比較し最大であったことから、同経過中で GM-CSF による T リンパ球刺激能が最大となる時期を day2 と決定した。現在、day2 における所属リンパ節成熟樹状細胞(CD86+CD11c+)を、ARIA を用いて分離し、DNA マイクロアレイ法による網羅的遺伝子発現解析を施行している段階である。

さらに、ロイコトリエン B4 受容体(BLT1)ノックアウトマウスを用いた GM-CSF 遺伝子導入細胞の in vivo 腫瘍形成試験及び腫瘍再接種試験結果から、大変興味深いことに同 BLT1-KO マウスにおいて GM-CSF 遺伝子導入細胞接種により長期に抗腫瘍免疫効果が維持されることが明らかとなった。この長期的抗腫瘍免疫誘導には、BLT1 ノックアウトマウスにおけるメモリーCD4 陽性 T 細胞の生成が重要であることを、in vivo において各免疫細胞中和抗体を用いた欠失実験により明らかにした。さらに、その長期的メモリーCD4 陽性 T 細胞の誘導には、LTB4 シグナル欠失させることが所属リンパ節中樹状細胞の活性化を増強することが関与している可能性が示唆された。

これまでに当研究室において GM-CSF 遺伝子導入腫瘍ワクチンとの併用効果が示唆されたケモカイン分子 TARC 或いは RANTES について、マウス TARC および RANTES 遺伝子搭載非伝播型 SeV ベクターを作製し、それらの GM-CSF 遺伝子との併用遺伝子導入ワクチン細胞の抗腫瘍免疫誘導能を、担癌マウスを用いて検討した結果、RANTES 遺伝子との併用効果を呈した。現在、この腫瘍免疫誘導性を担癌マウスモデルにおいて確認中である。

また、ADE3-SCCA1 ならびに GM-CSF 発現アデノウイルスベクター AXCAmGM-CSF を同時感染させた A549 キャリア細胞はヒト子宮頸部扁平上皮癌接種ヌードマウス in vivo において特異的に抗腫瘍効果を発揮した。本方法は新たな GM-CSF 免疫遺伝子治療法として有用であると考えられ、今後前臨床動物研究をイヌを用いて検討すべく準備中である。

以上のような、次世代 GM-CSF 免疫遺伝子治療法の開発により、難治性悪性腫瘍の克服が可能となることと期待される。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 18 件:全編査読有り)

- 1.Xin M, Nakamura T, Tani K, et al., Enhanced antitumor effects of an oncolytic measles virus vaccine strain expressing the wild-type N, P, L genes on human renal cell carcinoma, *Mol Ther*. 18(3):544-51.2010
- 2.Thacker EE, Nakayama M, Tani K, et al., Curiel DT. A genetically engineered adenovirus vector targeted to CD40 mediates transduction of canine dendritic cells and promotes antigen-specific immune responses in vivo. *Vaccine*. 27:7116-7124. 2009
- 3.Kametani, Y., Suzuki, D., Tani, K., et al., Development of monoclonal antibodies for analyzing immune and hematopoietic systems of common marmoset. *Exp Hematol* 37:1318-1329, 2009.
4. Inoue, H., Iga, H., Tani, K, et al., Non-transmissible SeV encoding GM-CSF is a novel and potent vector system to produce autologous tumor vaccines. *Cancer Science* 99: 2315-2326, 2008
5. Inoue, H., Iga, M., Tani, K, et al., TARC and RANTES enhance antitumor immunity induced by the GM-CSF-transduced tumor vaccine in a mouse tumor model. *Cancer Immunol Immun*. 57: 1399-1411, 2008
6. Sun, X, Somada, S., Tani, K, et al., Podack, E., Yoshikai, Y. A Critical role of CD30 ligand/CD30 in controlling inflammatory bowel diseases in mice. *Gastroenterology* 134(2):447-458, 2007
7. Kudo S, Konda R, Tani K, et al., T. Inhibition of tumor growth through suppression of angiogenesis by brain-specific angiogenesis inhibitor 1 gene transfer in murine renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 18:785-791, 2007
8. Tanaka, T., Okabe, T., Tani, K, et al., Modification of glucocorticoid sensitivity by MAP kinase signaling pathways in glucocorticoid-induced T-cell apoptosis. *Exp Hematol*. 34:1542-1552, 2006.
9. Horn, P.A., Tani, K, et al., Meeting Report: Nonhuman Primates: Embryonic stem cells and transgenesis. *Cloning and Stem Cells* 8:124-129. 2006
10. Ishii, H., Mimori, K., Tani, K, et al., Fhit modulates the DNA damage checkpoint response. *Cancer Res* 66:11287-11292, 2006.
11. Kurita, R., Sasaki, E., Tani, K, et al., Tal1/scl gene transduction using a lentiviral vector stimulates highly efficient hematopoietic cell differentiation from common marmoset (*Callithrix jacchus*) ES cells. *Stem Cells* 24: 2014-2022, 2006.
12. Nakazaki, Y., Hase, H., Tani, K, et al., Serial analysis of gene expression in progressing and regressing mouse tumors implicates the involvement of RANTES and TARC in antitumor immune responses. *Mol Ther* 14: 599-606, 2006
13. Kunisaki, R., Ikawa, S., Tani, K, et al., p51/p63, a novel p53 homologue, potentiates p53 activity and is a human cancer gene therapy candidate. *J Gene Med*. 8: 1121-1130,

2006

14. Nakayama M, Both GW, Tani K. et al., An adenovirus serotype 5 vector with fibers derived from ovine adenovirus demonstrates CAR-independent tropism and unique biodistribution in mice. *Virology*. 350:103-115, 2006
15. Nagano, K., Itagaki, C., Tani K. et al., Rb plays a role in survival of Abl-dependent human tumor cells as a downstream effector of Abl tyrosine kinase. *Oncogene* 25:493-502, 2006
16. Kang X., Xinru Xiao, Tani K. et al., Antiangiogenic activity of BAI1 in vivo: implications for gene therapy of human glioblastomas. *Cancer Gene Ther* 13: 385-392, 2006
17. Nishimura H., Yajima T., Tani K. et al., A novel role of CD30/CD30L signaling in the generation of long-lived memory CD8+T cells. *J. Immunol.* 175:4627-4634, 2005.
18. Sasaki, E., Hanazawa, K., Tani K. Establishment of novel embryonic stem cell lines derived from the common marmoset (*Callithrix jacchus*) Stem cells 23:1304-1313, 2005

#### [学会発表] (計 58 件)

1. Kurita, R., Kageyama, R., Tani K., In vitro induction of the hematopoietic progenitor/stem cells from human ES cells. ASGCT 12<sup>th</sup> annual meeting, San Diego, 2009
2. Miura, Y., Kurita, R., Tani K., Efficient Induction of Hematopoietic Progenitor/Stem Cell Differentiation by Lentiviral Gene Transduction of TAL1/SCL into Human ES Cells. 51<sup>st</sup> ASH Annual Meeting and Exposition, New Orleans, 2009
3. Yokoo, T., Kurita, R., Tani K., Expression Cloning of Genes Enabling Erythropoietin-Independent Erythropoiesis in Vitro. 51<sup>st</sup> ASH (American Society of Hematology) Annual Meeting and Exposition. New Orleans, LA 2009
4. Okazaki, T., Meng, X., Tani K. et al., Engineered measles virus MV-NPL as a novel oncolytic therapy 第 15 回日本遺伝子治療学会 大阪 2009 年 7 月 9 日-11 日
5. Okazaki, T., Meng, X., Tani K. et al., MV-NPL, as a new therapeutic oncolytic measles virus candidate. 12<sup>th</sup> Annual Meeting of the American Society of Gene Therapy. May 27-30, 2009
6. 土方康基、伊賀睦了、谷憲三朗 他、進行・再発固形腫瘍(消化器癌・肺癌)に対する Cyclophosphamide(CY)併用新規腫瘍関連抗原由エビトープペプチドカクテルを用いた腫瘍特異的強化ワクチン療法の検討(第 相臨床試験) 第 106 回 日本内科学会総会、東京 2009 年 4 月 10 日 ~ 12 日
7. Inoue, H., Iga, M., Tani K. et al., Enhanced antitumor immunity by adoptively transfused Sendai virus mediated GM-CSF transduced dendritic cells in LLC bearing mice. June 12, 2008, Sapporo, Japan Society of Gene Therapy (JSGT) 14<sup>th</sup> Annual Meeting
8. Nabeta, H., Inoue, H., Tani K. et al., Blocking LT4 signaling maintains the in vivo antitumor effects of GM-CSF transduced tumor cells. June 13, 2008, Sapporo, Japan Society of Gene Therapy (JSGT) 14<sup>th</sup> Annual Meeting
9. Tani K. Gene Therapy in USA. Educational Seminar III. June 13, 2008, Sapporo, Japan Society of Gene Therapy (JSGT) 14<sup>th</sup> Annual Meeting
10. Nabeta, H., Inoue, H., Tani K. et al., Blocking LT4 signaling maintains the antitumor effect of GM-CSF in the tumor challenge model using BLT-1<sup>-/-</sup> mice. May 29, 2008, Boston, USA, American Society of Gene Therapy (ASGT) 11<sup>th</sup> Annual Meeting, (他 48)

#### [図書] (計 19 件)

1. 谷 憲三朗、悪性腫瘍に対する遺伝子治療、分子細胞治療 8(6): 425-435, 2009
2. 谷 憲三朗、コモンマーモセット、最新医学 64: 723-737, 2009
3. 谷 憲三朗、遺伝子治療、日本医師会雑誌 138: S144-146, 2009

#### [産業財産権]

##### 出願状況 (計 7 件)

1. 名称: THERAPEUTIC AGENT FOR MALIGNANT TUMOR USING ONCOLYTIC MEASLES VIRUS, AND THERAPEUTIC METHOD USING THE AGENT  
発明者: 谷 憲三朗、種類: 特許  
番号: 61/308477 出願年月日: 2010 年 2 月 26 日  
国内外の別: 国際
2. 名称: NOVEL ONCOLYTIC VIRUS FOR LUNG CANCER  
発明者: 谷 憲三朗  
番号: 61/315129 出願年月日: 2010 年 3 月 18 日  
国内外の別: 国際 (他 5 件)

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

谷 憲三朗 (TANI KENZABURO)  
九州大学・生体防御医学研究所・教授  
研究者番号: 00183864

##### (2) 研究分担者

中崎 有恒 (NAKAZAKI YUKOU)  
九州大学・生体防御医学研究所・助手  
研究者番号: 00346850  
久野 晃聖 (HISANO TERUMASA)  
九州大学病院・助手  
研究者番号: 40380399  
内丸 薫 (UCHIMARU KAORU)  
東京大学・医科学研究所・助教授  
研究者番号: 60251203  
三浦 竜一 (MIURA RYUICHI)  
東京大学・医科学研究所  
研究者番号: 00322074  
中山 雅晴 (NAKAYAMA MASAHARU)  
九州大学病院・助教  
研究者番号: 80363349  
栗田 良 (KURITA RYO)  
九州大学・生体防御医学研究所・助教  
研究者番号: 90380526  
佐藤 宏樹 (SATO HIROKI)  
東京大学・医科学研究所・助教  
研究者番号: 50418654

##### (3) 連携研究者

内丸 薫 (UCHIMARU KAORU)  
東京大学・医科学研究所・准教授  
研究者番号: 60251203  
佐藤 宏樹 (SATO HIROKI)  
東京大学・医科学研究所・助教  
研究者番号: 50418654