

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：10107

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02948

研究課題名(和文) 鼻性NK/T細胞リンパ腫における免疫抑制機構の解明と新規免疫療法の開発

研究課題名(英文) Developing novel immunotherapy against nasal NK/T cell lymphoma

研究代表者

原 淵 保明 (Harabuchi, Yasuaki)

旭川医科大学・医学部・教授

研究者番号：80208686

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：鼻性NK/T細胞リンパ腫は、申請者が腫瘍細胞へのEBウイルス(EBV)感染を世界に先駆けて報告して以来、EBV関連悪性腫瘍のひとつとして確立されている。本研究では、これまでの研究をさらに発展させ、本疾患における免疫抑制機構を多方面から明らかにするとともに、多様なアプローチで免疫療法の標的となる新規腫瘍抗原の同定を試み、さらに、同定した腫瘍抗原由来ペプチドワクチンや免疫抑制機構を解除する様々な薬剤を用いた複合免疫療法の確立を行なった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

鼻性NK/T細胞リンパ腫は、日本を含むアジア圏に多い難治性の疾患である。進行例においては多剤併用化学療法を用いて予後不良であり、新規治療法の開発が望まれている。今回われわれは、現在各分野で注目を集めている免疫チェックポイント分子の本リンパ腫における発現や意義について解析した。また、新たな免疫治療の一つであるペプチドワクチンに着目し、新たな腫瘍抗原由来のエピトープペプチドを複数同定した。これらの結果は、本リンパ腫に患者に免疫チェックポイント阻害薬およびペプチドワクチンの併用両方の根拠となり得る画期的な発見である。

研究成果の概要(英文)：Nasal NK/T cell lymphoma is an EB virus-related malignancy mainly observed in the Asian countries. We have previously discovered that this lymphoma has a cross-talk between immune cells. In this study, we provide the evidence that immune regulatory mechanism plays a role in supporting lymphoma cells, and established a novel immunotherapeutic approach. Specifically, negative immune checkpoint including PD-1/PD-L1 interaction plays an essential role in lymphoma-mediated immunosuppression. In addition, we found novel epitope peptides from lymphoma-associated antigens. These results indicating that peptide vaccine using novel epitope peptides combined with immune checkpoint blockade could be an interesting strategy to treat nasal NK/T cell lymphoma.

研究分野：耳鼻咽喉科

キーワード：NK/T細胞リンパ腫 免疫チェックポイント ペプチドワクチン

1. 研究開始当初の背景

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫は、申請者が腫瘍細胞への EB ウイルス (EBV) 感染を世界に先駆けて報告 (Harabuchi et al. Lancet, 1990) して以来、EBV 関連悪性腫瘍のひとつとして確立されている。これまで、申請者らは本疾患に発現している遺伝子を網羅的に解析するとともに、疾患特異的な腫瘍増殖因子の検索、腫瘍周囲に浸潤している炎症細胞とのクロストークの解明、細胞株を免疫不全マウスに移植した異種移植モデルの作成と薬効評価系の確立などを行い、その成果を国内外に報告してきた。本研究では、これまでの研究をさらに発展させ、本疾患における免疫抑制機構を多方面から明らかにするとともに、多様なアプローチで免疫療法の標的となる新規腫瘍抗原の同定を試みる。さらに、同定した腫瘍抗原由来ペプチドワクチンや抗原特異的 T 細胞移入療法と免疫抑制機構を解除する様々な薬剤を併用した新規免疫療法の有効性をマウスモデルにて明らかにすることにより、難治性である本疾患を治癒に導ける複合免疫療法の確立を目指す。

2. 研究の目的

鼻性 NK/T 細胞リンパ腫に対する新規免疫療法を開発する。

3. 研究の方法

(1) 腫瘍細胞と腫瘍組織内浸潤免疫担当細胞による免疫抑制機構の解明

本疾患細胞株と生検組織材料、患者血清を用いて、様々な免疫チェックポイント分子および免疫抑制物質 (VEGF, TGF- β , PGE2 など) の分泌・発現を蛋白アレイや ELISA、免疫染色を用いて同定する。

(2) 新規腫瘍抗原の検索

腫瘍細胞には、DNA 変異によって正常細胞とは異なる活性を持つリン酸基・アセチル基転移酵素が存在し、正常細胞では生じない腫瘍特異的翻訳後修飾が展開されている。エピジェネティック修飾であるリン酸化・アセチル化抗原蛋白質から生成される腫瘍抗原由来のエピトープペプチドをコンピューターアルゴリズム解析を用いて同定する。さらに、上記で同定したエピトープペプチドを用いて、*in vitro* 培養系で健常人もしくは患者末梢血からペプチド特異的 T 細胞クローンを誘導し、そのサイトカイン産生パターンや HLA 拘束性、腫瘍細胞に対する認識能と殺傷能を明らかにする。

4. 研究成果

本疾患の細胞株と生検組織材料を用いて、腫瘍細胞や浸潤免疫細胞における免疫チェックポイント分子の発現をフローサイトメトリー、ウエスタンブロット、免疫染色などの手法により明らかにした。また、細胞株培養上清や患者血清中の可溶性免疫チェックポイント分子の存在も ELISA 法にて解析した。さらに、本疾患細胞株と生検組織材料、患者血清を用いて、様々な免疫抑制物質 (VEGF, TGF- β , PGE2 など) の分泌・発現を蛋白アレイや ELISA、免疫染色を用いて同定した。

さらに、本疾患の細胞株が発現している腫瘍抗原を同定し、そのアミノ酸配列から T 細胞応答を惹起可能なエピトープペプチドを同定し、実際に抗腫瘍能を有する T 細胞クローンを樹立した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 高原 幹	4. 巻 58
2. 論文標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日鼻誌	6. 最初と最後の頁 85-87
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7248/jjrhi.58.85	査読の有無 有
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 熊井 琢美	4. 巻 58
2. 論文標題 頭頸部癌に対する癌ペプチドワクチン療法の開発	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日鼻誌	6. 最初と最後の頁 107-108
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.7248/jjrhi.58.107	査読の有無 有
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 Harabuchi S, Kosaka A, Yajima Y, Nagata M, Hayashi R, Kumai T, Ohara K, Nagato T, Oikawa K, Ohara M, Harabuchi Y, Ohkuri T, Kobayashi H.	4. 巻 522
2. 論文標題 Intratumoral STING activations overcome negative impact of cisplatin on antitumor immunity by inflaming tumor microenvironment in squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 408-414
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.11.107.	査読の有無 有
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 Hirata-Nozaki Y, Ohkuri T, Ohara K, Kumai T, Nagata M, Harabuchi S, Kosaka A, Nagato T, Ishibashi K, Oikawa K, Aoki N, Ohara M, Harabuchi Y, Uno Y, Takei H, Celis E, Kobayashi H.	4. 巻 17
2. 論文標題 PD-L1-specific helper T-cells exhibit effective antitumor responses: new strategy of cancer immunotherapy targeting PD-L1 in head and neck squamous cell carcinoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Transl Med.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s12967-019-1957-5.	査読の有無 有
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 Ohara M, Ohara K, Kumai T, Ohkuri T, Nagato T, Hirata-Nozaki Y, Kosaka A, Nagata M, Hayashi R, Harabuchi S, Yajima Y, Oikawa K, Harabuchi Y, Sumi Y, Furukawa H, Kobayashi H.	4. 巻 ePub
2. 論文標題 Phosphorylated vimentin as an immunotherapeutic target against metastatic colorectal cancer.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Immunol Immunother.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00262-020-02524-9.	査読の有無 有
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 Harabuchi Yasuaki, Takahara Miki, Kishibe Kan, Nagato Toshihiro, Kumai Takumi	4. 巻 7
2. 論文標題 Extranodal Natural Killer/T-Cell Lymphoma, Nasal Type: Basic Science and Clinical Progress	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Frontiers in Pediatrics	6. 最初と最後の頁 141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fped.2019.00141	査読の有無 有
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 Nagato Toshihiro, Ueda Seigo, Takahara Miki, Kishibe Kan, Komabayashi Yuki, Kumai Takumi, Ohara Kenzo, Hirata-Nozaki Yui, Harabuchi Shohei, Hayashi Ryusuke, Ohkuri Takayuki, Bernasconi Michele, Nadal David, Kobayashi Hiroya, Harabuchi Yasuaki	4. 巻 99
2. 論文標題 Cyclin-dependent kinase 1 and survivin as potential therapeutic targets against nasal natural killer/T-cell lymphoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Laboratory Investigation	6. 最初と最後の頁 612 ~ 624
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41374-018-0182-9	査読の有無 有
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 該当する

1. 著者名 長門 利純、熊井 琢美、高原 幹、大栗 敬幸、小林 博也、Celis Esteban、原渕 保明	4. 巻 36
2. 論文標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫に対する革新的免疫療法の開発	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 耳鼻咽喉科免疫アレルギー	6. 最初と最後の頁 15 ~ 22
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33件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 11件）

1. 発表者名 熊井琢美
2. 発表標題 頭頸部癌に対する癌ペプチドワクチン療法の開発
3. 学会等名 第32回日本耳鼻咽喉科学会北海道地方部会ブロック講演会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野崎 結
2. 発表標題 PD-L1を標的とした頭頸部扁平上皮癌に対する癌免疫療法に関する研究
3. 学会等名 第35回旭川集談会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kumai T, Sultan H, Harabuchi Y, Celis E
2. 発表標題 Sustained persistence of IL-2 signaling enhances the antitumor effect of peptide vaccines
3. 学会等名 American Association for Cancer Research Annual Meeting（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kishibe K, Komabayashi Y, Hayashi R, Kumai T, Takahara M, Harabuchi Y
2. 発表標題 Expression and function of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs in nasal natural killer/ T-cell lymphoma
3. 学会等名 ISIAN・IRS・ARS (RhinoWorld Chicago 2019)（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hayashi R, Nagato T, Harabuchi S, Kumai T, Kishibe K, Takahara M, Kobayashi H, Harabuchi Y
2. 発表標題 Expression of cyclin-dependent kinase 1 and survivin in nasal natural killer/T-cell lymphoma
3. 学会等名 ISIAN-IRS-ARS (RhinoWorld Chicago 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Wakisaka R, Takahara M, Kishibe K, Katada A, Hayashi T, Harabuchi Y
2. 発表標題 Arterial infusion chemotherapy from superficial temporal artery in combination with radiotherapy for early stage nasal NK/T cell lymphoma
3. 学会等名 ISIAN-IRS-ARS (RhinoWorld Chicago 2019) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長門利純, 林 隆介, 原淵翔平, 野崎 結, 大原賢三, 熊井琢美, 岸部 幹, 高原 幹, 小林博也, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるCD27の発現
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大原賢三, 熊井琢美, 長門利純, 林 隆介, 原淵翔平, 小林博也, 原淵保明
2. 発表標題 リン酸化抗原特異的T細胞を利用した悪性腫瘍に対するペプチドワクチン療法の基礎的解析
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊井琢美, 長門利純, 岸部 幹, 高原 幹, 青木直子, 及川賢輔, 林 達哉, 小林博也, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫における免疫抑制サイトカインの検討
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高原 幹, 熊井琢美, 岸部 幹, 片田彰博, 林 達哉, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫67症例の臨床学的検討
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊井琢美, 長門利純, 高原 幹, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるCDK1とサバイビンの発現
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高原 幹, 熊井琢美, 岸部 幹, 片田彰博, 林 達哉, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫67症例の臨床学的検討
3. 学会等名 第16回EBウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 熊井琢美, 林 隆介, 長門利純, 原淵翔平, 岸部 幹, 高原 幹, 永田真莉乃, 矢島優己, 小坂 朱, 大栗敬幸, 及川賢輔, 小林博也, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫および上咽頭癌におけるCD74とMIFの発現
3. 学会等名 第16回EBウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 隆介, 長門利純, 原淵翔平, 熊井琢美, 岸部 幹, 高原 幹, 小林博也, 原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるCD74とMIFの発現
3. 学会等名 第58回日本鼻科学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Hayashi R, Nagato T, Kumai T, Nagata M, Harabuchi S, Yajima Y, Kosaka A, Ohkuri T, Oikawa K, Kishibe K, Takahara M, Harabuchi Y, Kobayashi H
2. 発表標題 Expression of cell surface CD74 and macrophage migration inhibitory factor in malignant tumors of head and neck region
3. 学会等名 第78回日本癌学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 大原賢三, 大栗敬幸, 長門利純, 小林博也
2. 発表標題 癌特異的な翻訳後修飾を受けたp53タンパク質は特異的T細胞応答を惹起する
3. 学会等名 第23回日本がん免疫学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原淵翔平, 大原賢三, 野崎 結, 熊井琢美, 長門利純, 林 達哉, 小林博也, 原淵保明
2. 発表標題 Cancer Immunity Cycleと化学療法
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 隆介, 長門利純, 永田真莉乃, 原淵翔平, 大原賢三, 大原みずほ, 小坂 朱, 大栗敬幸, 及川賢輔, 小林博也
2. 発表標題 頭頸部悪性腫瘍におけるCD74の発現
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 原淵翔平, 大栗敬幸, 小坂 朱, 永田真莉乃, 林 隆介, 大原賢三, 大原みずほ, 長門利純, 及川賢輔, 小林博也
2. 発表標題 マウス扁平上皮癌モデルを用いた、化学療法とSTING活性化療法の併用に関する基礎研究
3. 学会等名 第108回日本病理学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Harabuchi Y
2. 発表標題 Special Lecture1: Clinical, pathologic and Epstein-Barr virus features of nasal NK/T cell lymphoma
3. 学会等名 The 55th Korean Rhinologic Society Annual Congress (KRS) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takahara M, Nagato T, Kishibe K, Katada A, Hayashi T, Harabuchi Y
2. 発表標題 Clinical investigation of 64 patients with nasal NK/T-cell lymphoma
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kishibe K, Komabayashi Y, Kumai T, Nagato T, Takahara M, Harabuchi Y
2. 発表標題 Expression and function of Epstein-Barr virus-encoded microRNAs in nasal natural killer/T-cell lymphoma
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nagato T, Ohkuri T, Ohara K, Nozaki Y, Kishibe K, Takahara M, Kumai T, Araki D, Komabayashi H, Kobayashi H, Harabuchi Y
2. 発表標題 Expression of programmed death-ligand 1 in nasal natural killer/T-cell lymphoma
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kumai T, Komatsuda H, Araki D, Nagato T, Kishibe K, Takahara M, Hayashi T, Harabuchi Y
2. 発表標題 The identification of extranodal NK/T cell lymphoma, nasal type-associated antigen for helper T cell-based immunotherapy
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Araki D, Kumai T, Nagato T, Kishibe K, Takahara M, Katada A, Hayashi T, Harabuchi Y
2. 発表標題 A clinical and pathological characterization of Epstein-Barr virus positive methotrexate-associated lymphoproliferative disorders for seven cases
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Komatsuda H, Kishibe K, Komabayashi Y, Nagato T, Takahara M, Harabuchi Y
2. 発表標題 Diagnostic values of circulating Epstein-Barr virus-encoded microRNAs as potential biomarkers for nasal natural killer/T-cell lymphoma
3. 学会等名 International Conference on EBV & KSHV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 高原 幹
2. 発表標題 腫瘍シンポジウム：「鼻副鼻腔悪性腫瘍の病態・診断・治療 up to date」鼻性NK/T細胞リンパ腫
3. 学会等名 第57回日本鼻科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長門 利純、原淵 保明、小林 博也
2. 発表標題 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」鼻性NK/T細胞リンパ腫における免疫抑制機構の解明と新規免疫療法の開発
3. 学会等名 第107回日本病理学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊井 琢美、長門 利純、林 隆介、原淵 翔平、岸部 幹、高原 幹、林 達哉、小林 博也、原淵 保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫における免疫抑制サイトカインの検討
3. 学会等名 第37回日本耳鼻咽喉科免疫アレルギー学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長門 利純、大原 賢三、原淵 翔平、林 隆介、大栗 敬幸、永田 真莉乃、大原 みずほ、小坂 朱、青木 直子、及川 賢輔、原淵 保明、小林 博也
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫におけるCDK1とサバイビンの発現
3. 学会等名 第51回北海道病理談話会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 原淵 翔平、熊井 琢美、長門 利純、林 達哉、原淵保明
2. 発表標題 EBウイルス陽性鼻性NK/T細胞リンパ腫に対するペプチドワクチン療法の開発
3. 学会等名 第57回日本鼻科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 脇坂 理紗、高原 幹、長門 利純、岸部 幹、片田 彰博、林 達哉、原淵保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫に対する放射線同時併用動注化学療法
3. 学会等名 第57回日本鼻科学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 熊井 琢美、長門 利純、岸部 幹、高原 幹、青木 直子、及川 賢輔、林 達哉、小林 博也、原淵 保明
2. 発表標題 鼻性NK/T細胞リンパ腫における免疫抑制サイトカインの検討
3. 学会等名 第15回EBウイルス研究会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 長門利純	4. 発行年 2018年
2. 出版社 医学書院	5. 総ページ数 2 (540-542)
3. 書名 今日の耳鼻咽喉科・頭頸部外科治療指針 第4版 (森山 寛, 大森孝一, 藤枝重治, 小島博己, 猪原秀典 編) 頭頸部領域の悪性リンパ腫	

〔産業財産権〕

〔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	熊井 琢美 (Kumai Takumi) (00596306)	旭川医科大学・医学部・特任講師 (10107)	
研究分担者	高原 幹 (Takahara Miki) (50322904)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	
研究分担者	大栗 敬幸 (Ohkuri Takayuki) (70564061)	旭川医科大学・医学部・准教授 (10107)	

6. 研究組織（つづき）

	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	長門 利純 (Nagato Toshihiro) (80431419)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	
研究分担者	岸部 幹 (Kishibe Kan) (80447101)	旭川医科大学・医学部・講師 (10107)	
研究分担者	小林 博也 (Kobayashi Hiroya) (90280867)	旭川医科大学・医学部・教授 (10107)	
研究分担者	大原 賢三 (Ohara Kenzo) (20596308)	旭川医科大学・医学部・助教 (10107)	

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