

平成21年6月18日現在

研究種目：若手研究（B）  
研究期間：2007～2008  
課題番号：19791007  
研究課題名（和文） 悪性グリオーマに対する樹状細胞/CD133 陽性細胞フュージョン  
ワクチン療法の開発  
研究課題名（英文） Study of dendrite cell-CD133 positive cell fusion vaccine for  
alignant glioma  
研究代表者  
湯之上 俊二（YUNOUE SYUNJI）  
鹿児島大学・医学部・歯学部附属病院・助教  
研究者番号：20404478

## 研究成果の概要：

今回の研究テーマでは悪性グリオーマ組織から安定してCD133陽性細胞を抽出できることが必要であったが、マグネットビーズとCD133抗体を用いたシステムによってCD133陽性細胞を悪性グリオーマより抽出できるようになった。同細胞は無血清培地にて増殖が可能であった。さらに培養を続けると基質の無い培養ディッシュにおいてもadhesionすることが確認され、この細胞自身が基質を産生し足場を形成しているものと思われた。

また、免疫染色で同細胞株はCD133抗原を保持していた。この細胞は悪性グリオーマにおけるCD133陽性細胞のcharacterを解明するための材料となるのではないかと考えられ、さらに発展した研究テーマを構築することができるようになった。

今回のテーマは同細胞をターゲットとした治療法の開発としてCD133陽性細胞－樹状細胞フュージョンワクチンの作成であったが、現在、マグネットビーズと抗体を用いたシステムによってCD11陽性細胞をマウス脾臓より分離しIL-4, MG-CSF下に分化誘導を行った後に樹状細胞に分化した細胞とヒト悪性グリオーマから抽出したCD133陽性細胞、さらに、われわれが樹立したCD133細胞株をポリエチレングリコールを用いてそれぞれ融合細胞作成の実験を行っている。

前述のとおり悪性グリオーマ中のCD133陽性細胞は自ら足場を形成していたが、このことは遊走にかかわっている可能性が示唆されたと考えている。つまり、悪性グリオーマの正常脳への浸潤にCD133陽性細胞が寄与している可能性がうかがわれる。そこで、このフュージョンワクチンが浸潤に寄与する腫瘍内CD133陽性細胞の機能を阻止することができれば抗浸潤効果が期待できる。われわれはまず、CD133陽性細胞自体が遊走能を獲得し悪性グリオーマの浸潤機構の一つになっているのではないかという仮説の元、基礎的実験を行った。具体的

には腫瘍より抽出したCD133陽性細胞を用いてボイデンチャンバーによる migration assayを行った。CD133陽性細胞はMCP1,HGF,SHH (sonic hedgehog) によってその遊走能が上昇することを現在見出している。その刺激因子の中でわれわれはSHHに注目しておりさらに詳細な実験を行っている。

本研究におけるこのフュージョンワクチンが抗腫瘍効果をもたらしたときの一つのメカニズムとしてCD133陽性細胞に起因する浸潤の阻止という考え方もできるのではないかと考えている。

#### 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2004年度			
2005年度			
2006年度			
2007年度	1,400,000	0	1,400,000
2008年度	1,500,000	450,000	1,950,000
総計	2,900,000	450,000	3,350,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・脳神経外科学

キーワード：CD133、malignant glioma, vaccine

## 1. 研究開始当初の背景

脳腫瘍に関する免疫治療の報告は多々あり細胞性免疫療法、NK細胞療法、サイトカイン療法、ペプチド療法など行なわれている。特に近年、抗原提示細胞である樹状細胞を使った細胞性免疫療法が良い成績を収めており2005年にYmanakaらはClinical Evaluation of Dendritic cell Vaccination for Patients with Recurrent Glioma: Results of a Clinical Phase I/II Trial (*Clin Cancer Res* 2005;11(11) June 1, 2005)で対照群と比較しoverall survivalの有意な延長を認め副作用がほとんどなく同療法の安全性と効果について報告している。さらにKjaergaardらはActive immunotherapy for advanced intracranial murine tumors by using dendritic cell-tumor cell fusion vaccines (*J Neurosurg* 103:156-164, 2005)の中で腫瘍細胞を樹状細胞に取り込ませpulsingを行いtumor cell lysateでpulsingした群よりも良好な成績であったと報告している。

悪性脳腫瘍の治療においても集学的治療法を行なうことは当然のことであるが“第四の治療法”とされるも本治療法も脳腫瘍に対してその他の治療法と組み合わせることでさらに生命予後の改善が期待できるのではないだろうか。

近年、悪性腫瘍の形成に腫瘍幹細胞が脚光を浴びるようになってきた。悪性グリオーマにおいても腫瘍幹細胞は腫瘍形成において重要な役割を有しているという事実が報告され、その腫

瘍幹細胞の一つはCD133陽性細胞として捕らえられている。

当研究施設においてCD133陽性細胞をヒト悪性グリオーマから分離する手技が徐々に整いつつあった。一方で、CD133陽性細胞が化学療法、放射線治療に抵抗性を示すことが報告された。そこで、CD133陽性細胞をターゲットにした治療法の開発は悪性グリオーマの治療方として成り立つのではないかと考えた。そこでわれわれは同細胞をターゲットとした治療法の開発のために樹状細胞とCD133陽性細胞のフュージョンワクチンを開発するために研究を開始した。

## 2. 研究の目的

悪性グリオーマを移植したマウスに対し樹状細胞-CD133陽性細胞のフュージョンワクチンが効果があるかどうかを確かめることが目的である。

## 3. 研究の方法

①悪性グリオーマ組織からのCD133陽性細胞の単離②悪性グリオーママウスの作成③樹状細胞-CD133陽性細胞フュージョン細胞の作成④ワクチンの効果判定

## 4. 研究成果

ヒトグリオーマから分離したCD133陽性細胞の細胞株が樹立された(図1)。同細胞を使用し、ソニックヘッジホッグ(SHH)シグナルによって遊走能があがるなどの分子レベルの解析が進んだ。その結果、同細胞はSHHシグナルによって遊走能が上昇するという結果を見出した(図2)。このことから悪性グリオーマにおけ

る CD133 陽性細胞は SHH シグナルによって遊走能が上昇し腫瘍の浸潤に関与していることが示唆された。一方、マウス脾臓より CD11 陽性細胞を分離し IL-4, MG-CSF によって分化誘導させる所までは進んだ。

図 1

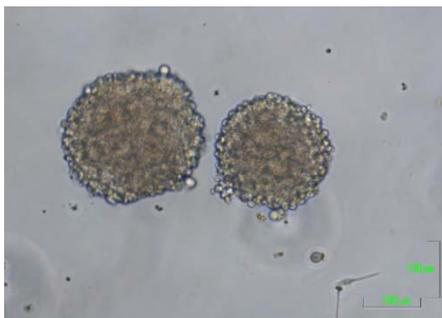
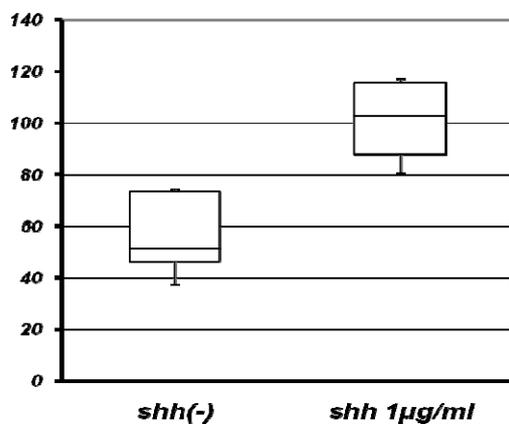


図 2



## 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)

[学会発表] (計 1 件)

内田裕之、湯之上俊二、有田和徳  
悪性膠腫における CD133 陽性細胞の  
遊走能に対する sonic-hedgehog

signal の影響に関する評価

日本脳神経外科学会総会

平成 19 年 10 月 4 日 東京都

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

湯之上 俊二 (YUNOUE SYUNJI)

鹿児島大学・医学部・歯学部附属病  
院・助教

研究者番号：20404478

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし