

令和 4 年 5 月 25 日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17649

研究課題名（和文）アロ反応が引き起こす抗腫瘍応答増強を利用した新規癌治療の開発

研究課題名（英文）Development of new cancer treatment utilizing the enhancement of antitumor response caused by allo reaction

研究代表者

渡部 晃大（Watanabe, Akihiro）

神戸大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：40866034

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、同種異系樹状細胞を用いた腫瘍抗原情報を付加したNKT細胞活性化ワクチン治療による抗腫瘍効果を検証する研究である。電気穿孔法による腫瘍タンパク抗原を樹状細胞に導入し、 α -ガラクトシルセラミドを付加したNKT細胞活性化ワクチン(OVA-EP-galDC)を作成した。ワクチンは皮下接種腫瘍を完全に拒絶した。OT-1 CD8⁺ T細胞を事前に移入し、抗原反応を増進することで、ワクチンがエフェクター期、メモリー期のいずれでも抗原特異的なCD8陽性T細胞を誘導した。ワクチンは皮膚における抗原特異的なCD8⁺ T細胞の誘導を確認し、さらに抗原特異的なTRMの誘導も確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害剤の台頭と共に、奏功症例の解析が進み、がんの発症に伴う遺伝子変異に起因する新生変異抗原(neoantigen)の存在が必要条件であることが示された。ただ、neoantigenの同定は煩雑であり、共通性の極めて低いものであり、困難となる。本研究は、neoantigenを同定せずとも免疫療法の機会を失さない、効果的なオーダーメイド治療の確立に貢献するものである。

研究成果の概要（英文）：This study shows the potential of a novel dendritic cell vaccine therapy in antitumor immunity, in which bone marrow-derived dendritic cells are electroporated with an exogenous ovalbumin protein and simultaneously pulsed with α -galactosylceramide. This strategy enhances the induction of cytotoxic CD8⁺ T cells specific for tumor-associated antigens through the activation of invariant natural killer T cells, natural killer cells, and intrinsic dendritic cells. Moreover, this strategy sustains antigen-specific antitumor T cell responses over time.

研究分野：消化器外科

キーワード：がんワクチン アロ反応 NKT細胞 樹状細胞ワクチン 同種異形樹状細胞 電気穿孔法

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫チェックポイント阻害剤を中心としたがん免疫療法の発展はめざましい。NKT 胞(Natural Killer T 細胞)は、 α -Galactosylceramide (Gal) を樹状細胞 (dendritic cell: DC) に付加した DC/Gal の投与により活性化し、自然免疫と獲得免疫の双方を介した抗腫瘍免疫応答を引き起こし、抗腫瘍効果をもたらすため、期待されるモダリティである。我々は、肺転移モデルにおいて、同種異系樹状細胞 (allogeneic dendritic cell; allo DC) を用いた allo DC/Gal が肺転移抑制効果を示すことを見出した (Hasegawa H, Yamashita K, Kamigaki T, Kakeji Y, et al. Anticancer Res. 2014)。また、腫瘍抗原を導入した DC を用いて、抗原特異的 T 細胞を誘導する活性化ワクチンベクターを開発した。本研究の目的は アロ反応に伴う肺転移抑制機構を解明すること、allo DC に抗原導入を行った NKT 細胞活性化ワクチンを用いて、アロ効果を明らかにすることである。アロ樹状細胞の抗腫瘍効果を NKT 細胞の活性化を介して検討し、より有効な NKT 細胞活性化ワクチンの開発につなげる。

2. 研究の目的

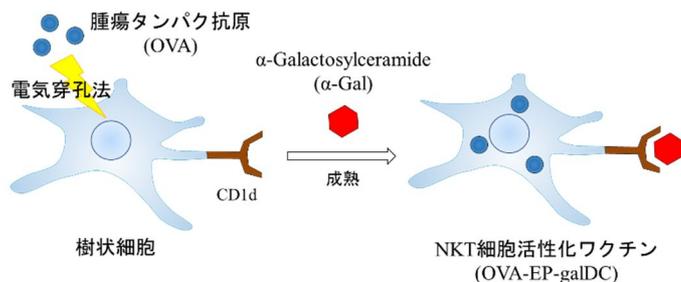
本研究は、同種異系樹状細胞を用いた腫瘍抗原情報を付加した NKT 細胞活性化ワクチン治療による抗腫瘍効果を検証する研究である。

3. 研究の方法

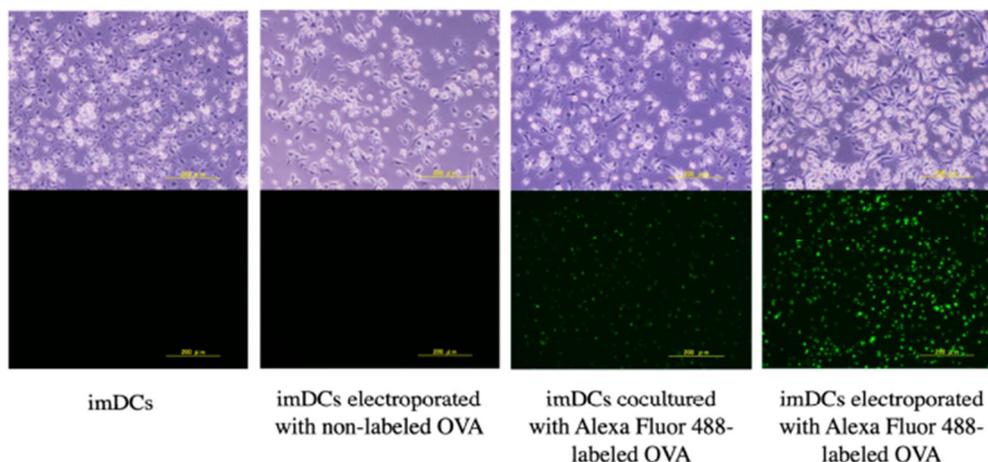
計画：NKT 細胞活性化ワクチンによる腫瘍皮下接種予防モデルの確立と腫瘍免疫微小環境の解析
抗原情報を導入した NKT 細胞活性化ワクチン (OVA-EP-galDC) の作成
皮下接種モデルでの予防モデルの作成
転移性肺腫瘍モデルにおける予防モデルの作成
NKT 細胞活性化ワクチン投与による抗原特異的リンパ球誘導の検証
NKT 細胞活性化ワクチン投与によるレジデントメモリー T 細胞誘導の検証

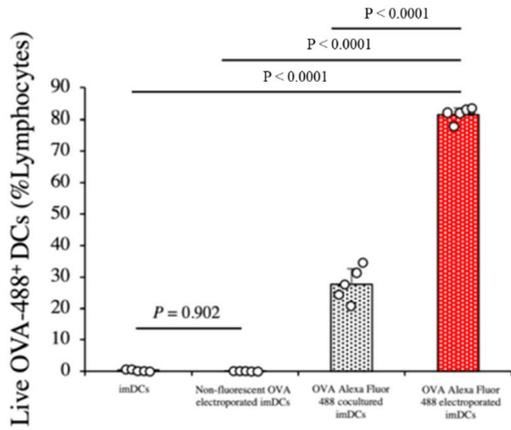
4. 研究成果

電気穿孔法 (Electroporation: EP 法) により腫瘍タンパク抗原 (卵白アルブミン、Ovalbumin: OVA) を樹状細胞に導入し、 α -ガラクトシルセラミドを付加した NKT 細胞活性化ワクチン (OVA-EP-galDC) を作成した。

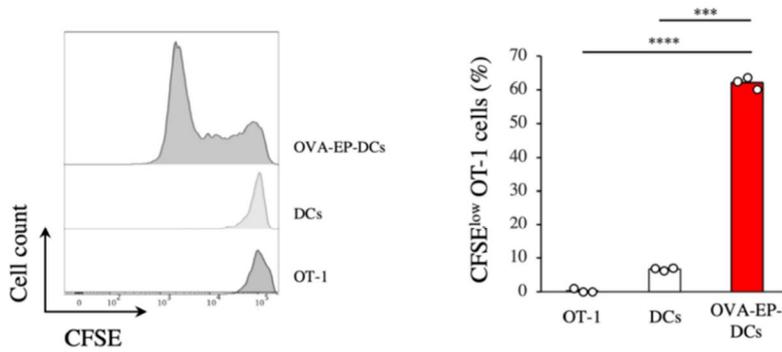


蛍光色素でラベルした OVA を用いて、OVA-EP-galDC と OVA と樹状細胞を共培養し作成したワクチンを比較すると、OVA-EP-galDC は有意に高いシグナルを発生し ($P < 0.0001$)、viability は保たれた ($P = 0.0531$)。

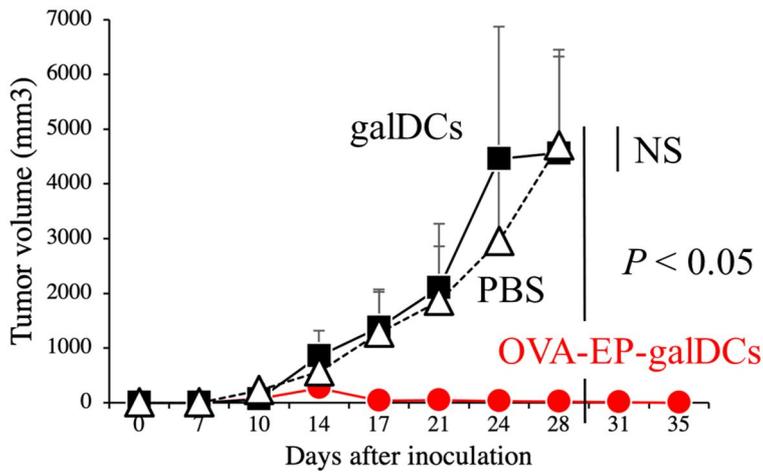




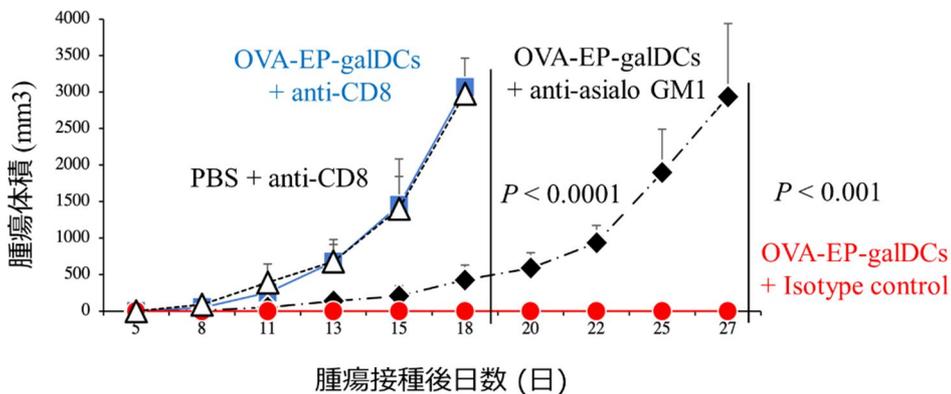
次に OVA 特異的 T 細胞受容体のみをもつ OT-1 マウス由来の CD8+ T 細胞と OVA-EP-galDC を共培養することで抗原特異的な CD8+ T 細胞が効率的に増殖することを示した。



OVA-EP-galDC の in vivo での腫瘍予防効果の検証を行った。OVA-EP-galDC を接種後に腫瘍皮下接種(EG7)を行い、腫瘍が完全に拒絶されることを示した。

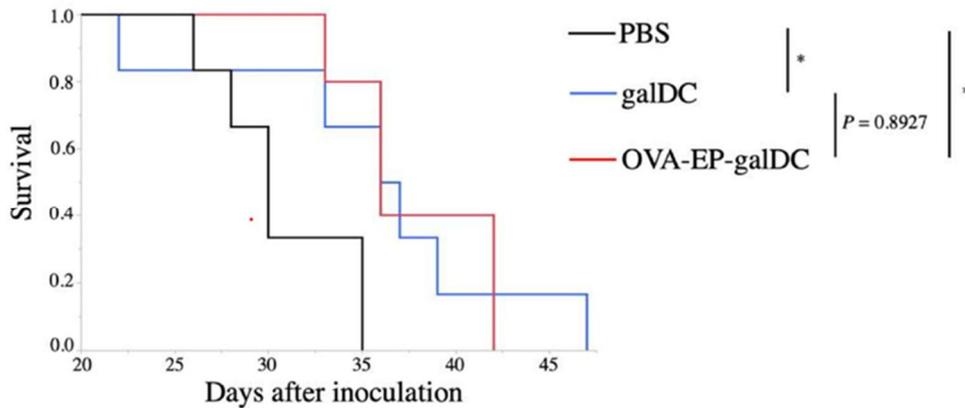


また、抗 CD8 抗体で CD8+T 細胞を枯渇させると抗腫瘍効果は失われた。同様に NK 細胞を枯渇さ

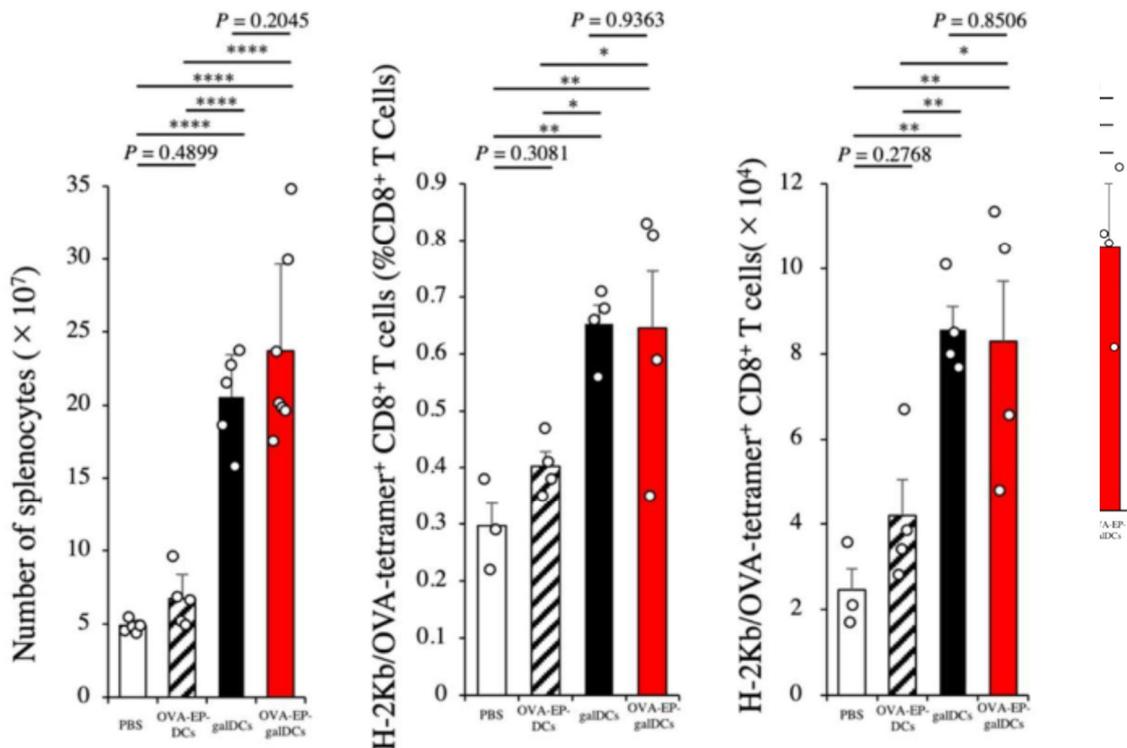


せると抗腫瘍効果は減弱した。以上より予防モデルにおいて CD8+T 細胞と NK 細胞がともに重要であることが示唆された。

転移性肺腫瘍モデル(B16-OVA)において、OVA-EP-DC/Gal は対照群の PBS 群と比較して生存期間を延長した($P < 0.05$)。



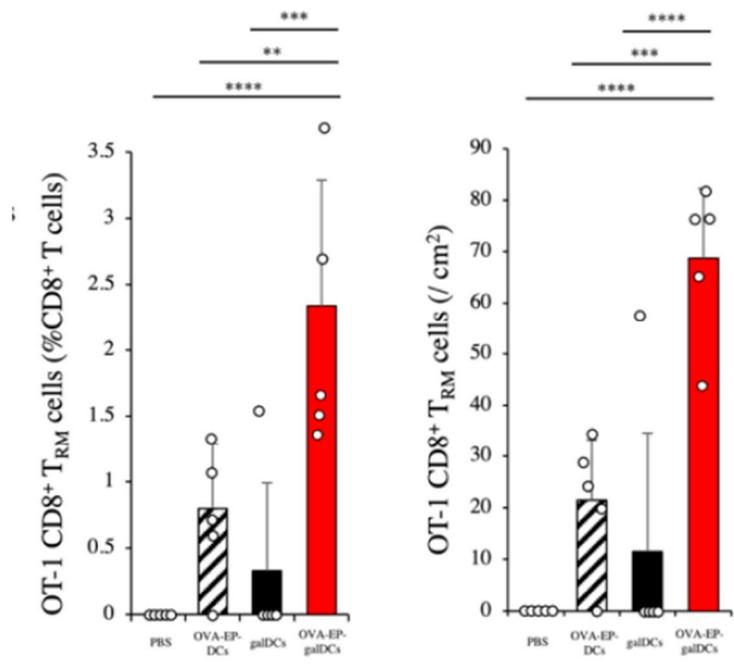
OVA-EP-galDC 投与により抗原特異的 CD8+T 細胞の誘導を認めた。



しかし OVA を導入していない galDC においても OVA-EP-galDC と同等の脾臓内への抗原特異的 CD8+T 細胞の誘導を認めたため、OT-1 CD8+ T 細胞を事前に投与することで、抗原反応を増進した。ワクチン接種後 7 日目に解析すると、OVA-EP-galDC は OT-1 CD8+ T 細胞事前投与にて、対照群と比較して OVA 特異的 T 細胞やメモリー前駆細胞を効率的に誘導できた。

次に長期免疫の検討のためワクチン接種後 50 日目に解析すると、OVA-EP-galDC は対照群と比較し、抗原特異的 CD8+T 細胞を脾に誘導し、高い腫瘍反応性(INF- 産生能)が確認できた。OVA-EP-galDC が抗原特異的な長期メモリー T 細胞の効率的な誘導したことを示した。

OVA-EP-galDC は皮膚における抗原特異的な CD8+T 細胞の誘導を確認し、さらに抗原特異的なレジデントメモリー T 細胞(T_{RM})の誘導も確認した。



上記により同種同系統の成果は以上となる。
 さらに、同種異系統の成果を検討している。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Watanabe A	4. 巻 14(1)
2. 論文標題 Vaccine Based on Dendritic Cells Electroporated with an Exogenous Ovalbumin Protein and Pulsed with Invariant Natural Killer T Cell Ligands Effectively Induces Antigen-Specific Antitumor Immunity	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancers	6. 最初と最後の頁 171-188
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/cancers14010171	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件/うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Akihiro Watanabe
2. 発表標題 Antigen specific antitumor effect induced by antigen-electroporated, natural killer T cell ligand-loaded dendritic cells
3. 学会等名 American Association for Cancer Research（国際学会）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部 晃大
2. 発表標題 -ガラクトシルセラミドを付加し、腫瘍抗原を導入した樹状細胞ワクチンベクターの抗腫瘍効果
3. 学会等名 日本消化器癌発生学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 渡部 晃大
2. 発表標題 -ガラクトシルセラミドを付加し、腫瘍抗原を導入した樹状細胞ワクチンベクターの抗腫瘍効果
3. 学会等名 バイオ治療法研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Akihiro Watanabe
2. 発表標題 Antigen specific antitumor effect induced by antigen-electroporated, natural killer T cell ligand-loaded dendritic cells
3. 学会等名 American Association for Cancer Research (国際学会)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------