

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 23 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590427

研究課題名(和文) 熱ショック蛋白質によるTLRリガンドの時空間的制御を利用した癌免疫増強

研究課題名(英文) Potentiation of cancer immunotherapy using spatiotemporal regulation of heat shock protein-TLR ligand complex

研究代表者

松崎 純一 (Matsuzaki, Junichi)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：80448597

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円、(間接経費) 1,230,000円

研究成果の概要(和文)：Hsp90による結合分子の時空間的制御を利用した、Hsp90とTLRリガンドのコンビネーションによる獲得免疫増強効果について検討した。ヒトの形質細胞様樹状細胞(pDC)にCpG-Aをパルスすると、IFN- α の産生のみならず、Hsp72が分泌されることを明らかにした。このHsp72は、Hsp90-抗原ペプチド複合体とさらに複合体形成することで、Hsp90-抗原ペプチド複合体免疫によるクロスプレゼンテーションを促進し、細胞障害性T細胞の誘導効率が増強した。以上の結果は、Hsp90-抗原ペプチド複合体を用いたがんペプチドワクチン療法においては、CpG-Aが最適なTLRリガンドであることを示す。

研究成果の概要(英文)：We have demonstrated that Hsp90 can act as an efficient inducer for crosspresentation of associated antigenic peptide via spatiotemporal regulation. We examined whether vaccination with Hsp90-antigen peptide complex and TLR ligand augmented the induction of cytotoxic T cell (CTL) response via crosspresentation. Interestingly, plasmacytoid dendritic cells (pDCs) secreted not only IFN- α but also Hsp72 in response to CpG-A administration. We found that the secreted Hsp72 formed complex with Hsp90-peptide complex, leading to the efficient crosspresentation and CTL induction against associated peptide. These data suggest that CpG-A is a good candidate as an immunoadjuvant for Hsp90-based cancer vaccine.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人体病理学

キーワード：がんペプチドワクチン 熱ショック蛋白質 自然免疫 細胞障害性T細胞 クロスプレゼンテーション 樹状細胞 抗原ペプチド 免疫賦活剤

1. 研究開始当初の背景

癌に発現している蛋白質の細胞内分解により生成された8個から10個のアミノ酸からなるペプチドが、癌抗原として同定されてきている。そしてこれらの癌抗原ペプチドを用いた新しい癌ワクチン治療が開始されている。我々はこれまでに、日本人の約60%に陽性であるHLA-A24に提示される癌抗原ペプチドであるサバイピンを同定し、このペプチドを用いた癌ワクチン療法の臨床応用にむけて第1相臨床試験を実施している。しかし、強力な抗癌免疫応答を誘導するには、ペプチドのみのワクチンでは不十分であることが明らかになっている。そのため免疫効果を高める作用を持ち、かつ安全な免疫増強剤の開発が大変重要である。強力な免疫応答を誘導するためには、専門的抗原提示細胞である樹状細胞の活性化すなわち自然免疫活性化と、これによる抗原提示が同時に機動されることが必須である。我々は熱ショック蛋白質 HSP が樹状細胞を介する自然免疫活性化能を有することに加え、HSP に結合した癌抗原ペプチドあるいは抗原蛋白質は非常に効率よく抗原提示され、癌細胞を殺傷する細胞傷害性 T 細胞を活性化することを明らかにしている。HSP のなかでも、細胞質に存在する Hsp70、Hsp90 および小胞体に存在する Gp96、ORP150 といった HSP は、これに癌抗原ペプチドを結合して動物に免疫することにより非常に強い抗癌免疫を誘導できることを報告している (Kurotaki, et al, J Immunol, 2007, Kutomi et al, J Immunol, 2009, Oura et al, Int Immunol., 2011)。さらに Hsp90 は、時空間的に結合分子を初期エンドソームに標的するという特徴があり、これにより Toll-like receptor 9 (TLR9) を介した自然免疫を活性化できることを示してきた (Okuya, et al, J Immunol, 2010)。本研究では、このような Hsp90 による結合分子の時空間的制御を利用した、Hsp90 と TLR リガンドのコンビネーションによる自然免疫増強効果と樹状細胞内動態およびペプチドワクチンによる獲得免疫増強効果を得られるかにつき、検討する。本研究により、癌ワクチンの免疫増強剤としての HSP の有用性について明らかにし、来る臨床応用への基礎研究とするものである。

2. 研究の目的

本研究では、これまで検討されていない HSP による TLR リガンドの時空間的制御を介した自然免疫の活性化とこれを応用した癌ワクチンの効果増強を検討するものである。

これまで各種の HSP が内因性自然免疫リガンドとして、樹状細胞などの抗原提示細胞を活性化・成熟するというシャペ

ロカインという概念が提示されていた。しかし反論する報告も多く、一定の見解は得られていないのが現状である。我々は、HSP そのものではなく、HSP が内因性自然免疫リガンドを結合・シャペロンすることでその内因性リガンドの作用を制御・増強すると考えている。本研究では、TLR1-9 リガンドと Hsp90、Hsp70 との複合体の形成の検討と、それらの自然炎症惹起における役割をひとつひとつ検討する。同時にこれらの HSP-内因性リガンド複合体の樹状細胞内での局在を明らかにすることで、時間的・空間的制御がいかに行われているかを明らかにするものである。さらに Hsp90 および Hsp70 の樹状細胞上の受容体は LOX-1 である可能性を考えているが、この受容体を介するエンドサイトーシスの関与とこれが細胞内局在に及ぼす効果を、LOX-1 の代表的なリガンドである acetylated LDL を用いた阻害実験を行って検討する。

3. 研究の方法

(1) Hsp90 による免疫賦活効果増強

Hsp90 と TLR リガンドとの複合体形成の検討 (松崎)

ヒト由来 Hsp90 と TLR リガンドとして Poly (I:C) (TLR3 リガンド)、LPS (TLR4 リガンド)、Imiquimod (TLR7 リガンド)、CpG-A および CpG-B (TLR9 リガンド)を用いて、複合体形成の至適条件を決定する。具体的には、上記の TLR リガンドをピオチンラベルしたものと Hsp90 を 37、あるいは 43 での熱ショック処理した条件で処理し、native PAGE 後、avidin-PE で検出することにより Hsp90-TLR リガンド複合体の有無を検出する。

ヒトおよびマウス樹状細胞の精製 (松崎)

末梢血由来のヒト conventional DC (cDC)、plasmacytoid DC (pDC)、あるいはマウス脾臓、骨髄由来の cDC、pDC を磁気ビーズを用いて精製する。

Hsp90-TLR リガンド複合体による自然免疫増強効果 (松崎)

これらの DC サブセットに Poly (I:C)、LPS、Imiquimod、CpG-A および CpG-B と Hsp90 との複合体をパルスすることで、IFN- α/β および TNF- α 、IL-6 の産生増強効果を比較検討する。またそれぞれの DC の細胞表面上の MHC class I, class II および共刺激分子の発現について FACS を用いて検討する。

Hsp90 による TLR リガンドの樹状細胞内局在制御 (田村)

Hsp90-TLR リガンド複合体の局在と

動態を time-lapse 法を併用した共焦点レーザー顕微鏡を用いて検討し、TLR リガンド単独の場合と比較検討する。

Hsp90-TLR リガンド複合体による樹状細胞活性化と癌抗原ペプチドのクロスプレゼンテーション促進に与える影響 (松崎)

それぞれの Hsp90-TLR リガンド複合体で刺激した cDC および pDC によるクロスプレゼンテーション促進効果を、我々が臨床応用を検討している癌抗原ペプチド Survivin2B-Hsp90 複合体と Survivin2B 特異的細胞傷害性 T 細胞クローンを用いて比較検討する。

ペプチドワクチン増強効果の検討 (田村)

癌抗原ペプチド Survivin2B を HLA-A24 トランスジェニックマウスに免疫する系を用いて、Hsp90-TLR リガンド複合体のコンビネーションによる細胞傷害性 T 細胞誘導効果を含む獲得免疫増強効果を検討する。

(2) CpG-A によるがんワクチン効果増強のメカニズム解析

CpG-A パルスによる形質細胞様樹状細胞 (pDC) の活性化と免疫増強のメカニズムの解析

ヒトおよびマウスの pDC を MACS システムを用いて精製し、CpG-A パルスによる抗原特異的 CTL の活性化すなわちクロスプレゼンテーション増強効果を検討する。

ヒトおよびマウス pDC を CpG-A で刺激し、その 24 時間培養上清を用いて Hsp72, Hsp90 の分泌を検討する。

Hsp72 の存在下における蛍光標識抗原ペプチドの pDC による取り込みを検討する。

Hsp72 の受容体として報告されている LOX-1 に対する抗体を用いた取り込み阻害実験をフローサイトメーターを用いて検討する。

TLR9 ノックアウトマウス由来の pDC を用いた検討

Hsp72 存在下での抗原ペプチド免疫の CTL 誘導増強効果を Survivin2B および OVA の系で比較検討する。

さらに Hsp90-抗原ペプチド複合体免疫に及ぼす CpG-A 免疫および Hsp72 の影響を CTL 誘導能により比較検討する。

4. 研究成果

(1) Hsp90-自然免疫リガンド複合体による自然免疫活性化増強効果の解析

ヒトの通常型樹状細胞 (cDC) と形質細胞様樹状細胞 (pDC) を用いて、代表的な TLR リガンドである LPS, CpG-A および CpG-B, poly IC をそれぞれ単独で、あるいはヒト Hsp90 との複合体を形成させてこれらの樹状細胞を刺激した際の、自然免疫活性化能を比較検討した。その結果、LPS 単独刺激と比較して、Hsp90-LPS 複合体では高い炎症性サイトカインの産生を認めた。さらに微量の LPS 刺激では IFN- γ 産生は認めないが、Hsp90-LPS 複合体で刺激すると、IFN- γ 産生を認めた。これは Hsp90-LPS 複合体が効率良くエンドサイトーシスにより樹状細胞に取り込まれ、エンドソーム経路で TRAM-TRIF 経路で IFN- γ の産生を誘導することを共焦点顕微鏡を用いて示した。本研究成果は投稿準備中である。また CpG-A および CpG-B を pDC にパルスすると、Hsp90 との複合体でパルスした場合、CpG-A, CpG-B 単独と比較するといずれも高い IFN- γ 産生を認めた。非常に興味深いことに単独では IFN- α 産生能を示さない CpG-B も Hsp90 と複合体を作製して、pDC を刺激すると IFN- γ の産生を認めた。これは Hsp90-CpG-B 複合体は CpG-B 単独と比較して、長時間 TLR9 が局在する初期エンドソームに貯留し、TLR9 刺激が持続することを明らかにした。一方、Hsp90-poly IC 複合体で、cDC を刺激した場合は、poly IC 単独と比較して、IFN- γ 産生は半減した。この理由として、Hsp90-poly IC 複合体は、エンドソームに標的されるが、細胞質での IPS-1 経路を活性化しないためと考えられた。このように Hsp90 はシャペロンする自然免疫リガンドの局在を時間的・空間的に変化させて、自然免疫応答を制御できることを示した。

胞様樹状細胞 (pDC) を用いて、代表的な TLR リガンドである LPS, CpG-A および CpG-B, poly IC をそれぞれ単独で、あるいはヒト Hsp90 との複合体を形成させてこれらの樹状細胞を刺激した際の、自然免疫活性化能を比較検討した。その結果、LPS 単独刺激と比較して、Hsp90-LPS 複合体では高い炎症性サイトカインの産生を認めた。さらに微量の LPS 刺激では IFN- γ 産生は認めないが、Hsp90-LPS 複合体で刺激すると、IFN- γ 産生を認めた。これは Hsp90-LPS 複合体が効率良くエンドサイトーシスにより樹状細胞に取り込まれ、エンドソーム経路で TRAM-TRIF 経路で IFN- γ の産生を誘導することを共焦点顕微鏡を用いて示した。本研究成果は投稿準備中である。また CpG-A および CpG-B を pDC にパルスすると、Hsp90 との複合体でパルスした場合、CpG-A, CpG-B 単独と比較するといずれも高い IFN- γ 産生を認めた。非常に興味深いことに単独では IFN- α 産生能を示さない CpG-B も Hsp90 と複合体を作製して、pDC を刺激すると IFN- γ の産生を認めた。これは Hsp90-CpG-B 複合体は CpG-B 単独と比較して、長時間 TLR9 が局在する初期エンドソームに貯留し、TLR9 刺激が持続することを明らかにした。一方、Hsp90-poly IC 複合体で、cDC を刺激した場合は、poly IC 単独と比較して、IFN- γ 産生は半減した。この理由として、Hsp90-poly IC 複合体は、エンドソームに標的されるが、細胞質での IPS-1 経路を活性化しないためと考えられた。このように Hsp90 はシャペロンする自然免疫リガンドの局在を時間的・空間的に変化させて、自然免疫応答を制御できることを示した。

(2) CpG-A による抗原ペプチド免疫効果増強には、Hsp72 の分泌が関与する。

CpG-A は TLR9 のリガンドとして、形質細胞様樹状細胞による IFN- γ 産生を通じてワクチン効果を増強することが知られている。この免疫増強効果の新しいメカニズムに関する興味深い結果を得ることができた。すなわちヒトの形質細胞様樹状細胞 (pDC) に CpG-A をパルスすると、IFN- α の産生のみならず、Hsp72 が分泌されることを初めて明らかにした。マウスの pDC を用いて同様に CpG-A をパルスした際にも Hsp72 の分泌を認めた。この Hsp72 の分泌は、TLR9 ノックアウトマウス由来の pDC を用いた場合は観察されなかったことから、CpG-A による TLR9 刺激依存性であることが確認された。Hsp72 は、抗原ペプチドと複合体を形成して、クロスプレゼンテーションを促進することが知られている。またシャペロカインとして通常型樹状細胞に発現して

いる TLR4 を活性化して、炎症性サイトカインを産生誘導することが知られている。そこで、この pDC から分泌された Hsp72 が免疫活性化に影響をあたえるかどうかを検討した。HLA-A24 トランスジェニックマウスから得た pDC に Survivin2B 由来前駆抗原ペプチドをパルスすると、CpG-A をパルスしていない pDC と比較して、明らかにペプチドのクロスプレゼンテーションが増強し、Survivin2B 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) を活性化した。この時、pDC に発現している MHC class I 分子や class II 分子の細胞表面上の発現に差は認めなかった。パルスする抗原ペプチドを蛍光標識して細胞内の取り込みを比較検討したところ、CpG-A パルスされた pDC への抗原ペプチドの取り込みが増強していた。また CpG-A でパルスしていない pDC に、Hsp72 とともに抗原ペプチドをパルスすると、その取り込みが増強した。このように pDC から分泌された Hsp72 は、抗原ペプチドと複合体を形成し、おそらく pDC の細胞表面上の特異的な受容体を介して効率良く取り込まれていることが考えられた。実際、Hsp72 と Survivin2B ペプチドの複合体で HLA-A24 トランスジェニックマウスを免疫すると、抗原ペプチド単独と比較して、高い CTL 誘導を認めた。このように CpG-A による免疫増強効果の一部は、分泌された Hsp72 のシャペロン作用によることが明らかになった。

さらに、CpG-A で、形質細胞様樹状細胞を刺激すると、Hsp72 が放出されることにより、Hsp90-抗原ペプチド複合体免疫による細胞障害性 T 細胞の誘導効率が増強したことをふまえて、Hsp72 存在下における Hsp90-抗原ペプチド複合体の細胞内動態を共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察した。Hsp90-抗原ペプチド複合体に比較して、Hsp72 存在下に Hsp90-抗原ペプチド複合体を形質細胞様樹状細胞にパルスすると、明らかに樹状細胞への結合が増強した。これは樹状細胞表面に Hsp72 特異的な受容体が存在することを示唆した。また、細胞内に取り込まれた Hsp90, Hsp72 は初期エンドソームに入るが、その後、Hsp72 はリソソームに輸送された。一方、Hsp90 は初期エンドソームに長時間貯留した。また抗原ペプチドは、初期エンドソームを経て、リサイクリングエンドソームに輸送された。このように CpG-A 刺激により分泌された Hsp72 は、Hsp90-抗原ペプチド複合体の樹状細胞への取り込みを著しく亢進し、その結果クロスプレゼンテーションを促進させることが明らかとなった。一方、TLR4 のリガンドである LPS や TLR3 のリガンドの poly IC を樹状細胞にパルスしても Hsp72 の分泌は認められなかった。以上の結果は、

Hsp90-抗原ペプチド複合体を用いたがんペプチドワクチン療法においては、CpG-A が最適な TLR リガンドであることが示すものである。以上の結果の一部は、第 7 1 回日本癌学会総会シンポジウム“自然免疫エンハンサー”において報告した。

(本研究成果は現在投稿中であり、実際のデータの公表を控えます。)

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)

[雑誌論文](計 22 件)

全て査読有

1. Matsuzaki J, Torigoe T, Hirohashi Y, Tamura Y, Asanuma H, Nakazawa E, Saka E, Yasuda K, Takahashi S, Sato N. Expression of ECRG4 is associated with lower proliferative potential of esophageal cancer cells. *Pathol Int.* 2013 Aug;63(8):391-7. doi: 10.1111/pin.12079.
2. Yamamoto T, Tamura Y, Kobayashi J, Kamiguchi K, Hirohashi Y, Miyazaki A, Torigoe T, Asanuma H, Hiratsuka H, Sato N. Six-transmembrane epithelial antigen of the prostate-1 plays a role for in vivo tumor growth via intercellular communication. *Exp. Cell Res.* 319, 2617-29, 2013. doi: 10.1016/j.yexcr.2013.07.025.
3. Yamada R, Takahashi A, Torigoe T, Morita R, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kubo T, Watarai K, Kondo T, Hirohashi Y, Sato N. Preferential expression of cancer/testis genes in cancer stem-like cells: proposal of a novel sub-category, cancer/testis/stem gene. *Tissue Antigens*, 81, 428-34, 2013. doi: 10.1111/tan.12113.
4. Kutomi G, Tamura Y, Tanaka T, Kajiwara T, Kukita K, Ohmura T, Shima H, Takamaru T, Satomi F, Suzuki Y, Torigoe T, Sato N, Hirata H. Human Endoplasmic Reticulum Oxidoreductin 1- (hERO1-) is a Novel Predictor for Poor Prognosis of Breast Cancer. *Cancer Sci.* 104, 1091-6, 2013. doi: 10.1111/cas.12177.
5. Kiriyama, K., Hirohashi, Y., Torigoe, T., Kubo, T., Tamura, Y., Kanaseki, T., Takahashi, A., Nakazawa, E., Saka, E., Ragnarsson, C., Natatsugawa, M., Inoda, S., Asanima, H., Takasu, H., Hasegawa, T., Yasoshima, T, Hirata, K., Sato, N. Expression and function of FERMT

- genes in colon carcinoma cells. *Anticancer Res.* 33:167-173, 2013
6. Kameshima H, Tsuruma T, Kutomi G, Shima H, Iwayama Y, Kimura Y, Imamura M, Torigoe T, Takahashi A, Hirohashi Y, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Sato N, Hirata K. Immunotherapeutic benefit of -interferon (IFN) in survivin2B-derived peptide vaccination for advanced pancreatic cancer patients *Cancer Sci.* 104:124-129, 2013. doi: 10.1111/cas.12046.
 7. Morita R, Hirohashi Y, Suzuki H, Takahashi A, Tamura Y, Kanaseki T, Asanuma H, Inoda S, Kondo T, Hashino S, Hasegawa T, Tokino T, Toyota M, Asaka M, Torigoe T, Sato N. DNA methyltransferase 1 is essential for initiation of the colon cancers. *Exp. Mol. Pathol.* 94:322-327, 2013. doi: 10.1016/j.yexmp.2012.10.004.
 8. Michifuri Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Miyazaki A, Kobayashi J, Sasaki T, Fujino J, Asanuma H, Tamura Y, Nakamori K, Hasegawa T, Hiratsuka H, Sato N. High expression of ALDH1 and SOX2 diffuse staining pattern of oral squamous cell carcinomas correlates to lymph node metastasis. *Pathol Int.* 62:684-689, 2012. doi: 10.1111/j.1440-1827.2012.02851.x.
 9. Tamura Y, Torigoe T, Kukita K, Saito K, Okuya K, Kutomi G, Hirata K, Sato N. Heat-shock proteins as endogenous ligands building a bridge between innate and adaptive immunity. *Immunotherapy.* 8:841-852, 2012. doi: 10.2217/imt.12.75.
 10. Tamura Y, Torigoe T, Kutomi G, Hirata K, Sato N. New paradigm for intrinsic function of heat shock proteins as endogenous ligands in inflammation and innate immunity. *Curr Mol Med.* 12:1198-1206, 2012.
 11. Takahashi A, Torigoe T, Tamura Y, Kanaseki T, Tsukahara T, Sasaki Y, Kameshima H, Tsuruma T, Hirata K, Tokino T, Hirohashi Y, Sato N. Heat shock enhances the expression of cytotoxic granule proteins and augments the activities of tumor-associated antigen-specific cytotoxic T lymphocytes. *Cell Stress Chaperones.* 17:757-763, 2012. doi: 10.1007/s12192-012-0348-0.
 12. Ishii-Osai Y, Yamashita T, Tamura Y, Sato N, Ito A, Honda H, Wakamatsu K, Ito S, Nakayama E, Okura M, Jimbow K. N-propionyl-4-S-cysteaminylphenol induces apoptosis in B16F1 cells and mediates tumor-specific T-cell immune responses in a mouse melanoma model. *J Dermatol Sci.* 67:51-60, 2012. doi: 10.1016/j.jdermsci.2012.04.009.
 13. Nishizawa, S., Mori, T., Hirohashi, Y., Torigoe, T., Tamura, Y., Kamiguchi, K., Takahashi, A., Kanaseki, T., Nakazawa, E., Asanuma, H., Sokolovskaya, A., Morita, R., Matsuzaki, J., Yamada, R., Fujii, R., Kondo, T., Hasegawa, T., Hara, I. and Sato, N. HSP DNAJB8 controls tumor-initiating ability in renal cancer-stem cells. *Cancer Res.* 72:2844-54, 2012. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3062.
 14. Torigoe, T., Asanuma, H., Nakazawa, E., Tamura, Y., Hirohashi, Y., Yamamoto, E., Kanaseki, T., Hasegawa, T., Sato, N. Establishment of a monoclonal anti-pan HLA class I antibody suitable for immunostaining of formalin-fixed tissue: Unusually high frequency of down-regulation in breast cancer tissues. *Pathol Int.* 62:303-8, 2012. doi: 10.1111/j.1440-1827.2012.02789.x.
 15. Matsuzaki, J., Torigoe, T., Hirohashi, Y., Kamiguchi, K., Tamura, Y., Tsukahara, K., Kubo, T., Takahashi, A., Nakazawa, E., Saka, E., Yasuda, K., Takahashi, S. Sato, N. ECRG4 is a negative regulator of caspase-8-mediated apoptosis in human T-leukemia cells. *Carcinogenesis.* 33:996-1003, 2012. doi: 10.1093/carcin/bgs118.
 16. Mori T, Nishizawa S, Hirohashi Y, Torigoe T, Tamura Y, Takahashi A, Kochin V, Fujii R, Toru K, Greene MI, Hara I, Sato N. Efficiency of G2/M-related tumor-associated antigen-targeting cancer immunotherapy depends on antigen expression in the cancer stem-like population. *Exp Mol Pathol.* 92:27-32, 2012. doi: 10.1016/j.yexmp.2011.09.016.
 17. Nakatsugawa, M., Takahashi, A., Hirohashi, Y., Torigoe, T., Inoda, S., Asanuma, H., Tamura, Y., Hasegawa, T., Takahashi, H., and Sato, N. SOX2 is expressed in stem-like cells of human lung adenocarcinoma and augments the tumor-initiating potential. *Lab Invest.* 91:1796-1804, 2011. doi: 10.1038/labinvest.2011.140.

18. Tamura Y, Hirohashi Y, Kutomi G, Nakanishi K, Kamiguchi K, Torigoe T, Sato N. Tumor-Produced Secreted Form of Binding of Immunoglobulin Protein Elicits Antigen-Specific Tumor Immunity. *J. Immunol.* 186:4325-4330, 2011. Selected paper in "In this issue" of the Journal. doi: 10.4049/jimmunol.1004048.
19. Oura, J., Tamura, Y., Kamiguchi, K., Kutomi, G., Sahara, H., Torigoe, T., Himi, T., and Sato, N. Extracellular heat shock protein 90 plays a role in translocating chaperoned antigen from endosome to proteasome for generating antigenic peptide to be cross-presented by dendritic cells. *Int. Immunol.* 23:223-237, 2011. Selected paper in "In this issue" of the Journal. doi: 10.1093/intimm/dxq475.
20. Kameshima, H., Tsuruma, T., Torigoe, T., Takahashi, A., Hirohashi, Y., Tamura, Y., Tsukahara, T., Ichimiya, S., Kanaseki, T., Iwayama, Y., Sato, N., Hirata, K. Immunogenic enhancement and clinical effect by type-I interferon of anti-apoptotic protein, survivin-derived peptide vaccine, in advanced colorectal cancer patients. *Cancer Sci.* 102:1181-1187, 2011. doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01918.x.
21. Nakatsugawa M, Hirohashi Y, Torigoe T, Inoda S, Kiriya K, Tamura Y, Sato E, Takahashi H, Sato N. Comparison of speedy PCR-ssp method and serological typing of hla-a24 for Japanese cancer patients. *J Immunoassay Immunochem.* 32:93-102, 2011. doi: 10.1080/15321819.2010.543219.
22. Inoda, S., Hirohashi, Y., Torigoe, T., Takahashi, A., Morita, R., Nakatsugawa, M., Nishizawa, S., Tamura, Y., Tsuruma, T., Terui, T., Ishitani, K., Hirata, K. and Sato, N. Cytotoxic T lymphocytes efficiently recognize human colon cancer stem-like cells. *Am. J. Pathol.* 178:1805-1813, 2011. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.01.004.

〔学会発表〕(計 2 件)

1. 田村 保明、鳥越 俊彦、佐藤 昇志 .Tumor microenvironment and antitumor immunity) 第102回日本病理学会 シンポジウム、札幌、6月6日、2013年
2. 田村保明 : Heat shock proteins act as endogenous enhancers building a bridge between innate immunity

and adaptive immunity. 第71回日本癌学会学術総会シンポジウム、札幌、9月20日、2012年.

〔図書〕(計 1 件)

田村 保明、齋藤 慶太、佐藤 昇志 . 分子標的薬 熱ショック蛋白質 (heat shock protein; HSP) 系 . 日本臨床 , 135-139, 2012

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :
 種類 :
 番号 :
 出願年月日 :
 国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
 発明者 :
 権利者 :
 種類 :
 番号 :
 取得年月日 :
 国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

松崎 純一 (MATSUZAKI, Junichi)
 札幌医科大学・医学部・研究員
 研究者番号 : 80448597

(2)研究分担者

田村 保明 (TAMURA, Yasuaki)
 北海道大学・大学院先端生命科学研究所・特任教授
 研究者番号 : 80322329