

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26640099

研究課題名(和文)がんワクチン効果増強分子メカニズムに関する研究

研究課題名(英文)A molecular mechanism of cancer vaccine enhancement

研究代表者

清野 研一郎 (Seino, Ken-ichiro)

北海道大学・遺伝子病制御研究所・教授

研究者番号：20312845

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：4T1細胞株はマウスの乳がん細胞株であるが、免疫原性が低いことで知られていた。しかし我々は偶然、事前にマウスに接種しておく、後の同細胞の成長を完全にブロックするような特殊な株を見出し4T1-S細胞と名付けた。4T1-S細胞をマウスに打つと、局所リンパ節の腫脹が見られ、CD8細胞やミエロイド細胞の増加が認められた。4T1-S細胞による腫瘍抑制作用はヌードマウスでは見られず、T細胞依存的と考えられた。この細胞を用いて新しい腫瘍抗原が発見される可能性がある。

研究成果の概要(英文)：4T1 mouse breast cancer cell line has been known as poorly immunogenic and highly metastatic cell line. Using this model, we identified a sub cell line of 4T1- designated as 4T1-Sapporo (4T1-S) - which shows immunogenic properties when used as a vaccine against the same line. In 4T1-S-vaccinated mice, subcutaneous injection of 4T1-S resulted in an anti-tumor inflammatory response represented by significant enlargement of draining lymph nodes, accompanied with increased frequencies of activated CD8 T cells and a subpopulation of myeloid cells. Additionally, 4T1-S vaccine was ineffective to induce tumor rejection in nude mice, which importantly indicate that 4T1-S vaccine rely on T cell response to induce tumor rejection. Further analysis to identify mechanisms that control tumor immunogenicity in this model may help to develop new methods for improving the efficacies of clinical cancer vaccines.

研究分野：免疫学

キーワード：がんワクチン

1. 研究開始当初の背景

近年、がん治療における免疫反応の重要性が以前にも増して認識されるようになって来た。そのひとつとして、がんの特異的に発現する抗原を標的としたがんワクチンがあげられる。しかし、多くのがんワクチンが開発・報告されている一方で十分な効果を示した報告はいまだ認められない (Rosenberg, et al. Nat Med 2004)。その原因として、腫瘍による免疫逃避機構の理解やアジュバントを始めとするがんワクチン増強の分子メカニズムの理解が完全ではないことがあげられる (Xi Wu, et al. Cancer Let. 2013, Yared, et al. Nat Med 2013)。

2. 研究の目的

我々は最近、がんワクチン効果において非常に興味深い特徴を持つがん細胞株を樹立した。乳がん細胞株 4T1 のうち、従来世界において広く使用されてきた ATCC より入手可能な乳がん細胞株 (4T1-ATCC) にはがんワクチン効果は見られない。一方、我々がサブクローニングした株 (4T1-Sapporo 株) を放射線照射した後野生型マウス生体に投与すると、その後 4T1 の生着を許さなかった。一方、

ヌードマウスで同じ実験を行うとこの効果は見られなかった。即ち、T 細胞依存的に強いがんワクチン効果を有する細胞株であることが判明した。

我々はこれらの細胞株の分子発現を比較検討することにより、がんワクチンの効果増強に関するメカニズムが明らかになる可能性があると考えた。本研究では、これらの分子が実際ががんワクチン効果の増強に関与しているかを確認したうえで、その分子ががん免疫においてどのような機能を有しているか、またその相互作用を検討し、がんワクチン増強メカニズムを明らかにしていく。

3. 研究の方法

下記の(1)-(3)で 4T1-Sapporo 株のがんワクチン効果を分子レベルで明らかにする。

- (1) ワクチン効果増強に関わる分子の同定
- (2) 各分子の機能解析、シグナル関連分子の場合はシグナル解析
- (3) マイクロアレイで得られたその他分子との相互作用・関連性の解析

4. 研究成果

4T1-S と 4T1-A の間で遺伝子発現をマイクロアレイで検討し、S 株で特異的に高く発現している分子として Thbs3, NCAM1, Cyp1b1, Oas1a を同定した。そこでこれらの分子を 4T1-A 株に遺伝子導入し、出来た細胞を用いて腫瘍ワクチン実験を行った。しかし、残念ながらこれらのいずれでも有意に 4T1-S の現象を再現することは出来なかった。

生体の腫瘍ワクチン実験では S 株の免疫で抑えられるのは 4T1-S 株のみである。つまり抗原特異的であることから、MHC 上に提示されうる抗原分子を標的とすることに変更した。そこで、4T1-S 細胞に特異的に発現する抗原分子を探索する目的で、次世代シーケンサーで比較した。その結果、RNA-seq で十分な発現量があり、mutation を持つ遺伝子が 4 つ同定された。現在、それらの 4 遺伝子の機能解析を行っている。

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 2 件)

1. Hirotake Abe, Haruka Wada, Muhammad Baghdadi, Sayaka Nakanishi, Yuu Usui, Takahiro Tsuchikawa, Toshiaki Shichinohe,

Satoshi Hirano and Ken-ichiro Seino.
Identification of a Highly Immunogenic
Mouse Breast Cancer Sub Cell Line, 4T1-S.

Human Cell 29: 58-66, 2016

DOI: 10.1007/s13577-015-0127-1

査読あり

2. Wada H, Kudo H, Sasaki H, Baghdadi M, Seino K. New immune regulation strategy in the age of regenerative medicine using pluripotent stem cells. **Inflammation & Regeneration** 35: 238-243, 2015

DOI: なし

査読あり

[学会発表](計 2 件)

1. 白居優、阿部紘丈、ムハンマド・バグダディ、和田はるか、清野研一郎 . T 細胞依存的に腫瘍ワクチン効果をもたらす乳がん細胞株の新規取得 . 第 25 回 KTCC、京都大学芝蘭会館 (京都府・京都市)、2015 年 5 月 15、16 日
2. 阿部紘丈、和田はるか、武内慎太郎、平野聡、清野研一郎 . 免疫原性の高いマウス乳がん細胞株 4T1-S の取得 . 第 18 回日本がん免疫学会総会、ひめぎんホール

(愛媛県・松山市) 2014年7月30日-8

月1日

〔産業財産権〕

出願状況(計 1 件)

名称：ワクチン、ワクチンの調製方法及び腫瘍細胞に抗腫瘍活性を賦与する方法

発明者：清野研一郎、和田はるか、阿部紘丈

権利者：北海道大学

番号：特願 2014-129735

出願年月日：平成26年6月24日

国内外の別：国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

清野 研一郎 (SEINO, Ken-ichiro)

北海道大学遺伝子病制御研究所・教授

研究者番号：20312845

(2)研究分担者

和田 はるか (WADA, Haruka)

北海道大学遺伝子病制御研究所・講師

研究者番号：70392181