

平成18年度

# 若手研究者奨励研究報告書

## 目 次

### 政策創薬総合研究

#### 課題番号

KH13302	再生医療を目的としたアデノウイルスベクターによるES細胞への効率的な遺伝子導入・発現系の開発	川端健二 …… 1
KH23303	腎不全の進展・増悪因子の解明と腎機能保護法の開発に関する研究	増田智先 …… 12
KH23304	Toll様受容体（TLR3）を介したミクログリア活性化機序の解明と脳炎治療薬開発のためのハイスループット試験系への応用	中道一生 …… 26
KH23306	吸血昆虫唾液腺生理活性物質の特性解明と創薬への応用に関する研究	伊澤晴彦 …… 37
KH23307	アポトーシス関連分子EATの機能制御によるES細胞の増殖・分化培養法の開発	大喜多 肇 …… 50
KH23331	寄生性原虫の生育に必須な脂質成分の代謝と輸送ならびに創薬探索に関する基礎的研究	中野由美子 …… 60
KH33308	向精神薬のSNPs解析による有効性・安全性に関する研究	橋本亮太 …… 66
KH33309	ヒトの薬物体内動態の予測向上を目指した薬物代謝酵素および薬物トランスポーターの誘導に関するインシリコ予測	小林カオル …… 79
KH33310	薬剤排出トランスポーターの基質輸送メカニズムに関する研究	田辺公一 …… 92
KH33332	制癌分子標的療法の創薬と開発にかかわるブリッジングスタディーの基礎的および応用的研究	川上浩司 …… 101
KH53312	LEE遺伝子群非保有型腸管出血性大腸菌の疫学マーカーおよび新規治療薬の標的となる病原性遺伝子に関する基礎的研究	伊豫田 淳 …… 105
KH53313	遺伝子修飾による樹状細胞の機能強化に基づいた新規癌免疫療法の開発	岡田直貴 …… 116
KH53314	PET検査を用いた癌二次予防の診断アルゴリズムの開発、PET検診施設間のネットワーク構築および死亡率低下の検証研究	小島伸介 …… 126
KH53315	網羅的遺伝子破壊による真菌症病原性発現の分子機構の解明と新規抗真菌剤開発への応用に関する研究	梅山 隆 …… 136
KH53333	治療ターゲットとしてのFcγ受容体を介した Dengue 出血熱の病態形成機序の解析	林 昌宏 …… 150
KHC3361	C型肝炎ウイルス粒子産生制御による新規治療法の萌芽的研究	村上恭子 …… 156
KHC3362	高齢化社会に適応する歯の延命化を目指した歯髄・象牙質再生による新しい抜髄治療法の開発	庵原耕一郎 …… 162
KHC3363	HDL形成責任タンパク質ABCA1の代謝制御をターゲットとした新規動脈硬化治療法に関する研究	奥平桂一郎 …… 167

エイズ医薬品等開発研究

KAI3701	ヘルペスウイルス感染症の新規制御法の確立と潜伏感染機構の 解明	藤室雅弘 ……173
KAC3761	論理的創薬手法によるHIV-1プロテアーゼニ量体化を阻害す る低分子化合物の探索	中村寛則 ……186
KAC3762	HIV治療用合成siRNAの新規デリバリーシステムの開発	児玉耕太 ……191

## 遺伝子修飾による樹状細胞の機能強化に基づいた新規 癌免疫療法の開発

所 属 大阪大学薬学研究科

研究者 岡田 直貴

研究要旨 LIGHT 遺伝子を導入した樹状細胞が、高い癌細胞傷害活性と強力な腫瘍免疫誘導能を併せ持つことを明らかとし、定着腫瘍の治療に極めて効果的な樹状細胞医薬であることを実証した。

### A. 研究目的

樹状細胞 (DC) は、免疫系の司令塔として自然免疫応答および獲得免疫応答の両者の制御を担う抗原提示細胞である。近年、DC を“nature’s adjuvant”として捉え、*in vitro* にて腫瘍関連抗原 (TAA) を導入した DC を生体に投与する癌免疫療法が注目を集めている。既に、悪性黒色腫、肺癌、前立腺癌、消化器癌などに対しては、TAA 導入 DC を用いた癌免疫療法の臨床試験が進められており、腫瘍特異的な免疫応答を惹起できることが証明されている。DC 癌免疫療法の基本コンセプトは、外科療法によって腫瘍を切除した後の転移・再発予防であり、根治療法として定着腫瘍を退縮に導くことは困難とされている。しかし、臓器機能維持の観点から外科療法によって腫瘍を完全切除できない症例も多く存在しており、腫瘍免疫の誘導・増幅によってこれらの定着腫瘍を排除できれば臨床的意義は非常に大きいと考えられる。また、抗癌剤に対して耐性を獲得した腫瘍に対しても、免疫療法は有効な治療戦略となる可能性を秘めている。

DC 癌免疫療法の適応を定着腫瘍治療にまで拡大しようとする試みは、主に DC の腫瘍内投与プロトコールによって検討されてきた。しかし、単に DC を腫瘍内投与しただけでは、動物実験レベルにおいてさえ十分な治療効果が得られないことが明らかとなり、投与する DC の腫瘍免疫誘導機能を最大限に発揮させるための方法論の確立が必要とされている。DC の腫瘍内投与プロトコールにおける治療効果を制限している要因には、①腫瘍内に投与した DC による癌細胞断片 (TAA を含む) の捕捉、② TAA を取り込んだ DC の所属リンパ節への

移行、③ リンパ節に到達した DC による T 細胞感作・活性化、④ TAA 特異的に活性化された免疫エフェクター細胞の腫瘍内浸潤、という一連の免疫イベントのいずれかもしくは複数のステップの抑制あるいは不全が想定されている。したがって、これら①～④の各ステップを促進する機能を DC に付与することができれば、定着腫瘍に対して有効な DC 医薬の創製に繋がるものと期待される。

Tumor necrosis factor (TNF) ファミリー分子は、生体内で細胞増殖、細胞分化、細胞死の誘導因子として機能するとともに、種々の免疫応答やリンパ組織の形成にも深く関与していることが報告されている。なかでも LIGHT は、腫瘍細胞およびストローマ細胞に対する傷害作用や T 細胞に対する活性化作用に加え、リンパ球浸潤に関与する接着分子の発現増強作用を併せ持つことが報告されている。したがって、LIGHT を豊富に発現させた DC の腫瘍内投与は、腫瘍組織傷害による癌細胞断片の増加とその効率的な捕捉、T 細胞の感作・活性化の増強、免疫エフェクター細胞の腫瘍内浸潤促進、といった前述の①、③、④のステップに対して改善効果が期待できる。

これまでに報告者は、RGD ファーバーミュータントアデノウイルスベクター (AdRGD) が DC への遺伝子導入効率に圧倒的に優れるベクターシステムであることを見出し、本ベクターによる遺伝子工学的な機能修飾が DC 医薬の設計・創製に有用なアプローチであることを報告してきた。そこで本研究では、定着腫瘍に対して有効な腫瘍免疫を誘導できる DC 医薬の創出を目指して、AdRGD により LIGHT 遺伝子を導入した DC

(LIGHT/DC) を作製し、その免疫学的特性を解析するとともにマウス定着腫瘍モデルにおける治療効果を評価した。

## B. 研究方法

### 【ベクター構築】

本研究に用いた非増殖型 AdRGD は、ヒトアデノウイルス type 5 (E1/E3 領域欠損) を基本骨格とし、水口裕之博士 (医薬基盤研究所) らの開発した improved *in vitro* ligation method に準拠して作製した。LIGHT cDNA を搭載したプラスミド (pmLIGHT) は玉田耕治博士 (Department of Immunology, Mayo Clinic, MN, USA) より供与を受け、CMV プロモーター支配下に LIGHT を発現する AdRGD-LIGHT を構築した。また、本研究におけるコントロールベクターには、以前に構築したリンフェラーゼ発現 AdRGD (AdRGD-Luc) を使用した。各 AdRGD は HEK293 細胞を用いて増幅した後、塩化セシウム密度勾配遠心法で精製し、Adeno-X Rapid Titer Kit (Clontech 社) によって感染力価 (IFU) を算出した。

### 【マウス骨髄由来 DC の調製と遺伝子導入】

BALB/c マウス (H-2<sup>d</sup>) の骨髄細胞を GM-CSF 存在下で 8 日間培養することにより、未熟 DC を分化誘導した。DC への遺伝子導入は、200 MOI (multiplicity of infection; IFU/cell) に調製した AdRGD-LIGHT あるいは AdRGD-Luc を DC 懸濁液 (5 × 10<sup>6</sup> cells/ml) に添加し、15 分毎に穏やかに攪拌しながら 37°C で 2 時間インキュベーションした。PBS で洗浄後、LIGHT/DC および Luc/DC として以降の実験に供した。

### 【LIGHT の発現解析】

LIGHT/DC を 24 時間培養し、細胞表面上の膜型 LIGHT 発現レベルを flow cytometry (FCM) 解析により、培養上清中に分泌された可溶性 LIGHT レベルを ELISA により、それぞれ評価した。

### 【LIGHT/DC の腫瘍細胞傷害活性】

<sup>51</sup>Cr でラベルしたマウス Meth-A 繊維芽肉腫細胞 (H-2<sup>d</sup>) を 10<sup>4</sup> cells/100 μl/well で 96 穴 V 底プレートに

播種し、種々の DC/Meth-A 比となるように LIGHT/DC を 1.25-5 × 10<sup>5</sup> cells/100 μl/well で添加した。なお、Meth-A 細胞からの Maximum <sup>51</sup>Cr-release および Spontaneous <sup>51</sup>Cr-release を測定する well には、DC 懸濁液の代わりに 0.05% Triton X-100 および培養液をそれぞれ添加した。24 時間共培養後、100 μl の上清中に遊離した <sup>51</sup>Cr 放射活性をγカウンターにて測定し、以下の式に従って細胞傷害活性 (%) を算出した。

$$\% \text{ of lysis} = ([A] - [C]) / ([B] - [C]) \times 100$$

[A]: Experimental <sup>51</sup>Cr-release, [B]: Maximum <sup>51</sup>Cr-release, [C]: Spontaneous <sup>51</sup>Cr-release

### 【LIGHT/DC の抗原貪食能】

24 時間培養した LIGHT/DC を 1 mg/ml の FITC-dextran/PBS で 5 × 10<sup>6</sup> cells/ml に懸濁した。37°C で 1 時間インキュベーションした後、氷冷した PBS で細胞を 5 回洗浄し、FITC-dextran の細胞内取り込みレベル (抗原貪食能) を FCM にて解析した。

### 【Meth-A 腫瘍モデルにおける治療実験】

Meth-A 細胞を BALB/c マウスの腹部皮内に移植し、腫瘍径が 4-6 mm に達した時点で、24 時間培養した LIGHT/DC を 2 × 10<sup>6</sup> cells/50 μl/mouse で腫瘍内投与した。その後、経日的に腫瘍径を測定し、以下の式に従って腫瘍体積を算出した。

$$(\text{腫瘍体積; mm}^3) = (\text{腫瘍の長径; mm}) \times (\text{腫瘍の短径; mm})^2 \times 0.5236$$

なお、DC 投与後 90 日目において腫瘍が認められない個体を完全治癒例とみなした。

### 【LIGHT/DC のリンパ節移行性】

24 時間培養した LIGHT/DC を PKH26 (赤色蛍光試薬) でラベルし、あらかじめマウスに生着させた Meth-A 腫瘍内に 2 × 10<sup>6</sup> cells/50 μl/mouse で投与した。48 時間後、所属リンパ節である鼠径部リンパ節を摘出し、遊走した PKH26 陽性 DC 数をリンパ節細胞の FCM 解析から算出した。

### 【LIGHT/DC の T 細胞増殖刺激能】

LIGHT/DC を 24 時間培養し、50 μg/ml の Mitomycin

Cで30分間処理した後、種々の細胞濃度で96穴プレートに播種した。C57BL/6 マウス (H-2<sup>b</sup>) の脾細胞からナイロンウールカラムを用いてT細胞を調製し、DCを播種した96穴プレートに10<sup>5</sup> cells/wellで添加した。これらの細胞を3日間共培養し、最後の18時間は培養液中にBrdUを共存させた。細胞を洗浄後、BrdU-ELISAを用いてT細胞増殖を評価した。

#### 【LIGHT/DCの細胞傷害性T細胞(CTL)誘導能】

24時間培養したLIGHT/DCをMeth-A腫瘍内に2×10<sup>6</sup> cells/50 μl/mouseで投与し、1週間後にこれらのマウスから脾臓を摘出した。単離した脾細胞をMeth-A細胞と5日間共培養(*in vitro*抗原再刺激)することでエフェクター細胞を調製した。エフェクター細胞の傷害活性は<sup>51</sup>Cr-release assayにより測定し、ターゲット細胞にはMeth-A細胞およびCT26細胞(H-2<sup>d</sup>)を使用した。

#### 【倫理面への配慮】

本研究における遺伝子組換え実験は、「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」を遵守して行った。AdRGDの作製・精製、遺伝子導入実験ならびに遺伝子導入DCを用いた動物実験は、すべてP2レベル封じ込め施設内で行い、器具・細胞・動物屍体等はすべてオートクレーブ滅菌してから廃棄することで、ベクターの環境への伝播に対して万全の対策を講じた。なお、報告者は大阪大学遺伝子組換え実験安全委員会から本研究に関する承認を受けている(承認番号:2292)。

本研究で行った動物実験はすべて、「大阪大学動物実験指針」を遵守し、動物福祉・愛護の精神に基づいて実施した。特に腫瘍治療実験をはじめとする腫瘍移植を受けたマウスについては、腫瘍径が20 mmを越えた時点で麻酔による安楽死処置を施し、実験を終了した。また、マウスへの腫瘍細胞接種およびDC投与は、苦痛を軽減するために麻酔下で行った。

### C. 研究結果

#### 【LIGHTの発現解析】

LIGHTは膜貫通型ホモ三量体タンパクとして細胞膜表面に発現し、メタロプロテアーゼ(セクレターゼ)で切

断されることによって可溶性としても分泌される。また、DCは本来わずかながらLIGHTを発現しており、T細胞表面に発現する特異的レセプター(HVEM)の刺激を介してT細胞増殖・活性化を促すことが知られている。そこで、LIGHT/DCにおける膜結合型および可溶性LIGHTの発現レベルをmock DCおよびLuc/DCと比較した(Fig. 1)。LIGHT/DCの約60%は膜結合型LIGHTを発現しており、培養上清中にはコントロール群と比較して大量の可溶性LIGHTが検出された。なお、LIGHT/DCを作製するために用いた200 MOIのAdRGD-LIGHTが、DCに対する細胞傷害性を示さないことを確認している。

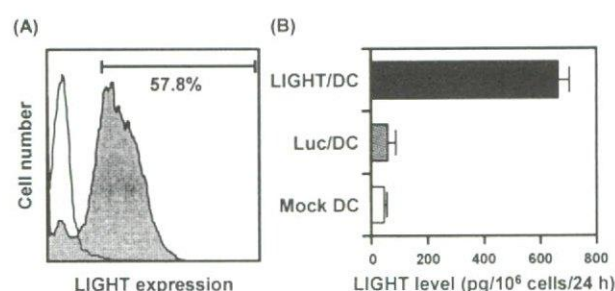


Fig. 1. Expression levels of membrane-bound form (A) and soluble form (B) of LIGHT in DCs transfected with AdRGD-LIGHT. DCs were transfected with AdRGD-LIGHT or AdRGD-Luc at 200 MOI. After 24 h-cultivation, LIGHT protein expression was assessed by flow cytometric analysis (A) and ELISA (B). A: LIGHT/DCs were stained with (closed histogram) or without (open histogram) anti-LIGHT antibody. The % value expresses % of gated cells in closed histogram. B: The data are presented as mean ± SD of three independent cultures.

#### 【LIGHT/DCの腫瘍細胞傷害活性】

LIGHTは、腫瘍細胞や腫瘍間質細胞に発現する特異的レセプター(LTβR)に結合し、これらの細胞にcaspase経路を介したアポトーシスを誘導することが報告されている。そこで、作製したLIGHT/DCのマウスMeth-A繊維芽肉腫細胞に対する直接的な傷害活性を<sup>51</sup>Cr-release assayにより評価した(Fig. 2)。コントロールDCにおいても、DC/Meth-A比の増大に伴ってMeth-A細胞殺傷効果は上昇したが、LIGHT/DCはより強力なMeth-A細胞傷害活性を発揮した。したがって、LIGHT/DCを定着腫瘍内に投与した際には、直接的な傷害作用によって腫瘍細胞を排除するとともに、腫瘍細胞断片の増加によってLIGHT/DCが効率よくTAAを捕捉できる可能性が期待される。現在、LIGHT/DCの腫瘍細胞傷害作用に関わる分子メカニズムについて、より詳細な解析を進めている。

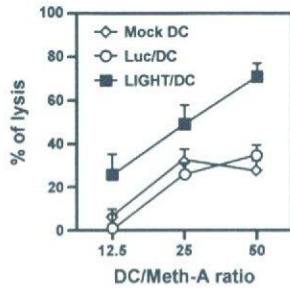


Fig. 2. Cytotoxicity of LIGHT/DCs against Meth-A cells. DCs were transfected with AdRGD-LIGHT or AdRGD-Luc at 200 MOI. After 24 h-cultivation, DCs were co-cultured with  $10^4$   $^{51}\text{Cr}$ -labeled Meth-A cells at the indicated ratio for 24 h. Cytotoxicity of DCs was calculated based on radioactivity of  $^{51}\text{Cr}$  released from target Meth-A cells. Each point represents the mean  $\pm$  SD of three independent cultures.

【LIGHT/DC の抗原貪食能】

LIGHT/DC を定着腫瘍内に投与することによって腫瘍免疫を誘導するためには、TAAを含む腫瘍細胞断片を LIGHT/DC が貪食する過程が必須である。そこで、FITC-dextran の取り込み活性を指標として、LIGHT/DC の貪食能を評価した (Fig. 3)。LIGHT/DC の貪食活性は、mock DC および Luc/DC と比較するとわずかながら低下していたが、依然として DC 特有の高い貪食活性は保持されており、腫瘍内投与した LIGHT/DC が腫瘍細胞断片を十分に捕捉しうることが示唆された。

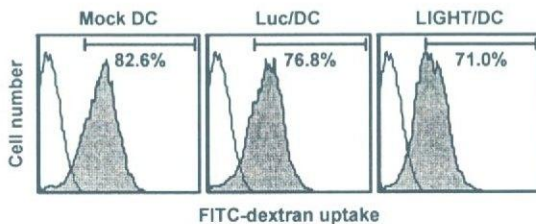


Fig. 3. Uptake of FITC-dextran by LIGHT/DCs. DCs were transfected with AdRGD-LIGHT or AdRGD-Luc at 200 MOI for 2 h, and then cultured for 24 h. These cells were incubated with PBS containing 1 mg/ml FITC-dextran at 37°C for 1 h. Cells were then washed five times in ice-cold PBS and the uptake of FITC-dextran was assessed by flow cytometry. Open histogram represents mock DCs without FITC-dextran treatment. The % value expresses % of gated cells in closed histogram.

【Meth-A 腫瘍モデルにおける治療実験】

マウスに生着させた Meth-A 腫瘍内に LIGHT/DC を投与し、経日的な腫瘍体積変化を観察したところ、mock DCあるいは Luc/DC 投与群と比較して腫瘍増殖に明らかな遅延が認められ、LIGHT/DC を投与した 8 例中 5 例では腫瘍の完全退縮が達成された (Fig. 4)。本結果は、DC 癌免疫療法の適応をこれまで困難とされてきた

定着腫瘍治療にも拡大するために、遺伝子導入による DC への LIGHT 機能の付与が非常に有用なアプローチであることを示している。

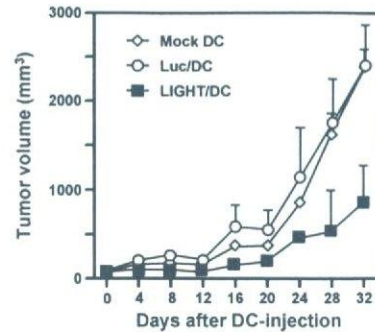


Fig. 4. Anti-tumor efficacy of LIGHT/DCs against established Meth-A tumor. Meth-A cells were intradermally inoculated into the left flank of BALB/c mice at  $5 \times 10^6$  cells. The tumors (4-6 mm in diameter) were injected with LIGHT/DCs, Luc/DCs, or mock DCs at  $2 \times 10^6$  cells. The size of tumors was assessed using microcalipers every four days. Each point represents the mean  $\pm$  SE from 8 mice.

【LIGHT/DC のリンパ節移行性】

PKH26 でラベルした LIGHT/DC を Meth-A 担癌マウスに腫瘍内投与し、2 日後における所属リンパ節への移行量を評価した (Fig. 5)。LIGHT/DC 投与群では、コントロール DC 投与群の約 5 倍の PKH26 陽性 DC が免疫応答誘導の場であるリンパ節に集積しており、LIGHT 遺伝子の導入によって DC の投与部位からリンパ節への遊走活性を促進できることが判明した。

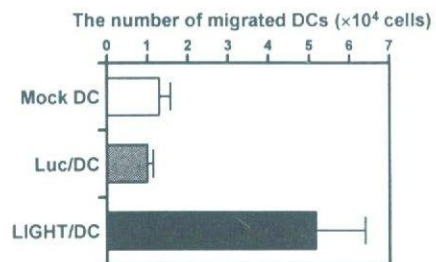


Fig. 5. Migration of LIGHT/DCs into the draining lymph node. LIGHT/DCs, Luc/DCs, and mock DCs were stained with PKH26, and then injected into established Meth-A tumors at  $2 \times 10^6$  cells. Two days later, the draining lymph nodes were harvested from these mice. The number of PKH26-positive DCs contained in lymph node cells was calculated by flow cytometric analysis. The data are presented as mean  $\pm$  SD of three mice.

【LIGHT/DC の T 細胞増殖刺激能】

DC (H-2<sup>d</sup>) と naive T 細胞 (H-2<sup>b</sup>) とを共培養する allogenic MLR により、LIGHT/DC の T 細胞に対する増殖刺激活性を評価した (Fig. 6)。Mock DC および Luc/DC では T 細胞増殖をわずかに促進するのみであったのに対して、LIGHT/DC で刺激された T 細胞の増

殖は著しい亢進が認められた。したがって、LIGHT を発現させることによって、DC の T 細胞増殖刺激能を大幅に増強できることが明らかとなった。

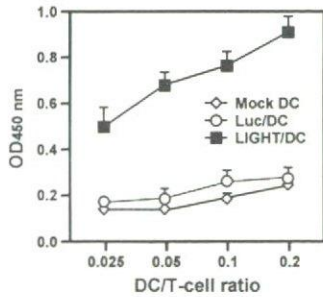


Fig. 6. Allogenic T cell proliferation-stimulating ability of LIGHT/DCs. BALB/c DCs were transfected with AdRGD-LIGHT or AdRGD-Luc at 200 MOI, and cultured for 24 h. Naive C57BL/6 T cells were co-cultured with the transfected DCs at different ratios for 3 days. Cell cultures were pulsed with BrdU during the last 18 h, and then T cell proliferation was assessed by BrdU-ELISA. Results are expressed as mean  $\pm$  SE of three independent cultures using T cells prepared from three individual mice.

#### 【LIGHT/DC の CTL 誘導能】

Meth-A 担癌マウスに DC を腫瘍内投与し、1 週間後に摘出した脾臓から脾細胞を調製した。この脾細胞を Meth-A 細胞で *in vitro* 抗原再刺激し、得られたエフェクター細胞を用いて細胞傷害性試験を行った (Fig. 7)。LIGHT/DC 投与群のエフェクター細胞は、コントロール群と比較して Meth-A 細胞に対する高い傷害活性を発揮した。また、どの群のエフェクター細胞も CT26 細胞に対しては傷害活性を示さなかったことから、LIGHT/DC の腫瘍内投与は腫瘍特異的 CTL を効率よく誘導できることが明らかとなった。

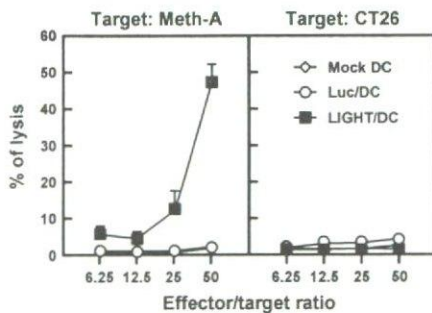


Fig. 7. Meth-A-specific CTL response in mice injected intratumorally with LIGHT/DCs. Established Meth-A tumors (4-6 mm in diameter) in BALB/c mice were injected with LIGHT/DCs, Luc/DCs, or mock DCs at  $2 \times 10^6$  cells. One week later, splenocytes were prepared from these mice, and were re-stimulated *in vitro* for 5 days with Meth-A cells. Cytolytic effects of re-stimulated splenocytes (effector cells) against Meth-A or CT26 cells (target cells) were evaluated by  $^{51}\text{Cr}$ -release assay. Each point represents the means  $\pm$  SE of four independent cultures from four individual mice.

#### D. 考 察

現在、癌治療の第一選択は外科療法であるが、臓器機能維持の観点から腫瘍を完全切除できない症例も多く存在する。また、腫瘍の中には化学療法に耐性を示すものもあり、このような切除不能腫瘍や抗癌剤耐性腫瘍の排除には、DC の腫瘍内投与に基づく免疫療法が有望な治療戦略として期待されている。しかし、単に DC を腫瘍内投与するのみでは、動物実験レベルにおいてさえ効果的な腫瘍免疫を誘導することは困難とされている。この原因として、細胞医薬として投与した DC の機能が十分に発揮されていない可能性が考えられる。

そこで本研究では、腫瘍細胞に対する傷害作用とリンパ球に対する活性化作用を併せ持つ LIGHT 分子に着目し、LIGHT 遺伝子を効率よく導入した DC を創製するとともに、本 DC 医薬の定着腫瘍治療における有用性を評価した。LIGHT/DC は、① 腫瘍細胞に対する直接的な傷害作用を示し、② 抗原貪食活性を保持しており、③ 腫瘍部位から効率よく所属リンパ節へと遊走し、④ T 細胞増殖刺激能に優れ、⑤ 腫瘍特異的 CTL を強力に誘導できることが明らかとなった。これら腫瘍免疫に関わる各ステップを LIGHT/DC が促進した結果、腫瘍内投与プロトコールにおいて腫瘍の完全退縮を高率に達成できる強力な抗腫瘍効果が発揮されたものと考えられた。

これまでに、定着腫瘍に対して有効な DC 癌免疫療法の開発を目指して、抗癌剤・アポトーシス誘導剤の腫瘍局所投与、腫瘍に対する凍結融解処理、あるいは腫瘍への放射線照射、といった腫瘍組織を傷害する手法を施した後、DC を腫瘍内投与するアプローチが試みられてきた。しかし、これらの併用プロトコールは、腫瘍内における DC の腫瘍細胞断片貪食を補助しているのみであり、細胞医薬として投与する DC 自身の機能を強化・改善したものではない。したがって、たとえ腫瘍組織内で DC が効率よく抗原を捕捉できたとしても、その後の腫瘍免疫誘導機序に抑制または不全が生じている場合には、有効な治療に至らない可能性がある。

一方、本研究で検討した LIGHT/DC は、腫瘍免疫誘導に関わる過程を多段階に促進できる能力を備えており、定着腫瘍を対象とした DC 癌免疫療法の開発において極めて有望な DC 医薬となることが期待される。また、



LIGHT/DC の腫瘍内投与によって全身性に腫瘍免疫応答が誘導されたことから、本アプローチは定着腫瘍の治療のみならず、転移・再発予防にも効果的であろうと予想される。

## E. 結論

LIGHT 分子発現 DC の定着腫瘍に対する有効性と抗腫瘍作用機序に関する解析を行い、以下の結論を得た。

- LIGHT 遺伝子を AdRGD により導入することで、DC に腫瘍細胞傷害活性が付与できることを明らかとした。
- AdRGD による LIGHT 遺伝子の導入は、DC の T 細胞増殖刺激能を増強することが判明した。
- LIGHT 遺伝子を導入した DC の腫瘍内投与は、腫瘍特異的 CTL の効率的な誘導に基づき、定着腫瘍に対する強力な増殖抑制・退縮効果を発揮することが明らかとなった。
- LIGHT 遺伝子を導入した DC が、投与部位から所属リンパ節への移行性に優れることを見出した。

これらの研究成果は、定着腫瘍に対して有効な DC 癌免疫療法の開発において、最適な機能を有する DC 医薬の設計・創製に貴重な基礎的情報を提供するものである。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) 岡田直貴, 中川晋作. 免疫細胞の体内動態制御に基づいた癌免疫療法の最適化. *薬学雑誌* 127(2): 327-339 (2007).
- 2) 杉田敏樹, 岡田直貴, 中川晋作. ケモカイン・ケモカインレセプター連関を利用した抗腫瘍免疫の増強. *臨床免疫* 45(5): 525-532 (2006).

### 2. 学会発表

- 1) 大西康司, 金川尚子, 金本雄次, 藤田卓也, 山本 昌, 中川晋作, 岡田直貴. TERT 遺伝子導入樹状細胞の腫瘍免疫誘導機序および安全性に関する検討. *日本薬学会第 127 年会*, 富山市, 2007 年 3 月 28-30 日.
- 2) 後藤美千代, 金川尚子, 岡田裕香, 向 洋平,

吉岡靖雄, 岡田直貴, 中川晋作. TNF 関連分子発現樹状細胞を用いた定着腫瘍に対する新規免疫療法の開発. *日本薬学会第 127 年会*, 富山市, 2007 年 3 月 28-30 日.

- 3) 大西康司, 岡田直貴, 中川晋作, 藤田卓也, 山本 昌. 種々のマウス腫瘍モデルを用いた TERT 遺伝子導入樹状細胞ワクチンの有効性と汎用性の評価. *第 36 回日本免疫学会総会*, 大阪市, 2006 年 12 月 11-13 日.
- 4) 大西康司, 岡田直貴, 金本雄次, 森川愉加里, 中川晋作, 藤田卓也, 山本 昌. TERT 遺伝子導入樹状細胞ワクチンを用いた汎用性に優れた癌免疫療法の開発. *第 2 回創剤フォーラム若手研究発表討論会*, 京都市, 2006 年 10 月 13-14 日.
- 5) 前田葉子, 岡田直貴, 上羽美貴, 松永知子, 藤井 愛, 中川晋作, 藤田卓也, 山本 昌. ケモカイン・サイトカイン遺伝子を導入した樹状細胞の創製と癌免疫療法への応用. *第 2 回創剤フォーラム若手研究発表討論会*, 京都市, 2006 年 10 月 13-14 日.
- 6) 吉川友章, 岡田直貴, 中川晋作. 遺伝子工学的手法を用いて DDS 機能を付与した樹状細胞ワクチンの有用性. *第 22 回日本 DDS 学会*, 東京都, 2006 年 7 月 7-8 日.
- 7) 後藤美千代, 丹羽貴子, 吉川友章, 水口裕之, 岡田直貴, 中川晋作. アポトーシス抵抗性を付与した樹状細胞の生体内生存期間延長と免疫誘導との連関評価. *第 22 回日本 DDS 学会*, 東京都, 2006 年 7 月 7-8 日.

## G. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし。

### 2. 実用新案登録

該当なし。

### 3. その他

該当なし。

---

平成18年度

政策創薬総合研究事業  
若手研究者奨励研究報告書

平成19年7月31日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

---

印刷 株式会社 ソーラン社