

Title	前立腺がん幹細胞を標的とした複合免疫治療法の開発
Sub Title	Development of combined immunotherapy targeting prostate cancer stem cells
Author	松下, 麻衣子(Matsushita, Maiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2018
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2017.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では、未だ有効な治療法がない去勢抵抗性前立腺がんにおいて、がんの悪性化の原因となっているがん幹細胞に対して、我々が独自に見出したCXorf48抗原を標的とした免疫治療法の開発を目指した基礎研究を続けてきた。</p> <p>前年度の研究において、前立腺がん細胞株において幹細胞マーカーであるOCT4遺伝子とCXorf48遺伝子の発現が相関していることを見出したため、本年度はさらにEOS(Early transposon Oct4 and Sox2 enhancer)システムにより分離したOCT4高発現前立腺がん細胞株2種においてもCXorf48遺伝子が高発現していることを確認し、本遺伝子が前立腺がん幹細胞抗原として有用である可能性が高くなった。さらに、前立腺患者検体におけるCXorf48抗原の発現を免疫染色法およびデータベース解析を用いて検討したところ、Gleasonスコアの高低に関わらず、非がん部と比較してがん部において同抗原が高発現している傾向が認められた。</p> <p>また、CXorf48が免疫治療標的として有用であるかどうかについて検討を進めるために、健康人ドナー由来リンパ球2例より我々が同定したHLA-A*2402拘束性CXorf48由来ペプチドを用いて抗原特異的CTL(cytotoxic T cells)を誘導した。前年度は、限界希釈法によるCTLクローンの樹立に成功できなかったため、今年度はHLA-A*2402拘束性CXorf48特異的デキストラマー試薬を用いてcell sorterで分離した抗原特異的CTLよりmRNAを抽出し、Repertoire Genesis社にてレパトア解析を行った。次世代シーケンサーによりT細胞受容体α鎖およびβ鎖遺伝子のシーケンス解析を行ったところ、CXorf48抗原を認識すると考えられる、CTLクローンが、ドナーAでは1種類、ドナーBでは2種類得られた。</p> <p>今後、これらのT細胞遺伝子を導入したCXorf48特異的ヒトT細胞株を作成し、前立腺幹細胞に対する免疫原性を検討する予定である。</p> <p>We have been conducting basic research for development of immunotherapy against castration-resistant prostate cancer using CXorf48 antigen, which we originally identified as a useful immune-target of cancer stem cells.</p> <p>In previous year, we found that expression level of CXorf48 was correlated with that of OCT4, which is highly expressed gene in prostate cancer stem cells.</p> <p>In this study, we isolated prostate cancer stem cell using EOS (Early transposon Oct4 and Sox2 enhancer) system and confirmed that CXorf48 gene was also highly expressed in these isolated prostate cancer stem cells.</p> <p>Moreover, we analyzed expression of CXorf48 in prostate cancer patients' samples by immunohistochemistry and gene database analysis. It was suggested that this antigen was expressed higher in cancer cells compared to non-cancer cells regardless of level of Gleason score.</p> <p>Then we promoted our research on immunogenicity of CXorf48 antigen as a therapeutic target. We induced CXorf48-specific cytotoxic T cells (CTLs) by stimulating lymphocytes from two healthy donors with HLA-A*2402-restricted peptides. Since we could not get CTL clones by limiting-dilution method last year, this time we sorted antigen-specific T cells by CXorf48-specific dextramer staining and extracted mRNA from these cells. T cell repertoire analysis with T cell receptor (TCR) gene sequencing was conducted in Repertoire Genesis using next generation sequencer. We could obtain one CTL clone from donor A and two CTL clones from donor B.</p> <p>We are going to introduce these TCR gene into human T cells and analyze immune recognition of these cells against prostate cancer stem cells.</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2017000003-20170368

研究代表者	所属	薬学部	職名	准教授	補助額	1,260 千円
	氏名	松下 麻衣子	氏名（英語）	Maiko Matsushita		
研究課題（日本語）						
前立腺がん幹細胞を標的とした複合免疫治療法の開発						
研究課題（英訳）						
Development of combined immunotherapy targeting prostate cancer stem cells						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
松下 麻衣子 (Maiko Matsushita)		薬学部・病態生理学				
服部 豊 (Yutaka Hattori)		薬学部・病態生理学				
河上 裕 (Yutaka Kawakami)		医学部・先端医科学研究所細胞情報部門				
塚本 信夫 (Nobuo Tsukamoto)		医学部・先端医科学研究所細胞情報部門				
大家 基嗣 (Mototsugu Oya)		医学部・泌尿器科学				
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究では、未だ有効な治療法がない去勢抵抗性前立腺がんにおいて、がんの悪性化の原因となっているがん幹細胞に対して、我々が独自に見出した CXorf48 抗原を標的とした免疫治療法の開発を目指した基礎研究を続けてきた。</p> <p>前年度の研究において、前立腺がん細胞株において幹細胞マーカーである OCT4 遺伝子と CXorf48 遺伝子の発現が相関していることを見出したため、本年度はさらに EOS (Early transposon Oct4 and Sox2 enhancer) システムにより分離した OCT4 高発現前立腺がん細胞株 2 種においても CXorf48 遺伝子が高発現していることを確認し、本遺伝子が前立腺がん幹細胞抗原として有用である可能性が高くなった。さらに、前立腺患者検体における CXorf48 抗原の発現を免疫染色法およびデータベース解析を用いて検討したところ、Gleason スコアの高低に関わらず、非がん部と比較してがん部において同抗原が高発現している傾向が認められた。</p> <p>また、CXorf48 が免疫治療標的として有用であるかどうかについて検討を進めるために、健康人ドナー由来リンパ球 2 例より我々が同定した HLA-A*2402 拘束性 CXorf48 由来ペプチドを用いて抗原特異的 CTL (cytotoxic T cells) を誘導した。前年度は、限界希釈法による CTL クローンの樹立に成功できなかったため、今年度は HLA-A*2402 拘束性 CXorf48 特異的デキストラマー試薬を用いて cell sorter で分離した抗原特異的 CTL より mRNA を抽出し、Repertoire Genesis 社にてレパトア解析を行った。次世代シーケンサーにより T 細胞受容体 α 鎖および β 鎖遺伝子のシーケンス解析を行ったところ、CXorf48 抗原を認識すると考えられる、CTL クローンが、ドナー A では 1 種類、ドナー B では 2 種類得られた。</p> <p>今後、これらの T 細胞遺伝子を導入した CXorf48 特異的ヒト T 細胞株を作成し、前立腺幹細胞に対する免疫原性を検討する予定である。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>We have been conducting basic research for development of immunotherapy against castration-resistant prostate cancer using CXorf48 antigen, which we originally identified as a useful immune-target of cancer stem cells.</p> <p>In previous year, we found that expression level of CXorf48 was correlated with that of OCT4, which is highly expressed gene in prostate cancer stem cells.</p> <p>In this study, we isolated prostate cancer stem cell using EOS (Early transposon Oct4 and Sox2 enhancer) system and confirmed that CXorf48 gene was also highly expressed in these isolated prostate cancer stem cells.</p> <p>Moreover, we analyzed expression of CXorf48 in prostate cancer patients' samples by immunohistochemistry and gene database analysis. It was suggested that this antigen was expressed higher in cancer cells compared to non-cancer cells regardless of level of Gleason score.</p> <p>Then we promoted our research on immunogenicity of CXorf48 antigen as a therapeutic target. We induced CXorf48-specific cytotoxic T cells (CTLs) by stimulating lymphocytes from two healthy donors with HLA-A*2402-restricted peptides. Since we could not get CTL clones by limiting-dilution method last year, this time we sorted antigen-specific T cells by CXorf48-specific dextramer staining and extracted mRNA from these cells. T cell repertoire analysis with T cell receptor (TCR) gene sequencing was conducted in Repertoire Genesis using next generation sequencer. We could obtain one CTL clone from donor A and two CTL clones from donor B. We are going to introduce these TCR gene into human T cells and analyze immune recognition of these cells against prostate cancer stem cells.</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Yokoe S, Matsushita M, Ozawa K, Uchiyama A, Kashiwazaki S, Ichikawa D, Hattori Y.	Establishment of KU-MEL9-specific cytotoxic T cells for the development of adoptive immunotherapy for multiple myeloma.	The 8th International Symposium 2017	2017 年 5 月			

平成 2 9 年 4 月 4 日

平成 年度 学事振興資金 研究分担者一覧
(共同研究・部門横断型共同研究・研究科枠)

研究代表者氏名・所属：松下麻衣子・薬学部

研究分担者名	所属・職名	研究課題（分担・役割等）
服部 豊	薬学部・教授	薬剤による前立腺がん幹細胞の CXorf48 発現に対する影響の検討
河上 裕	医学部・教授	TCR 単離、マウスモデル作成および抗腫瘍効果増強法の検討
塚本 信夫	医学部・助教	TCR 単離、マウスモデル作成および抗腫瘍効果増強法の検討
大家 基嗣	医学部・教授	前立腺がん幹細胞の分離および解析
小坂 威雄	医学部・講師	前立腺がん幹細胞の分離および解析
研究協力者名		
横江 信哉	薬学部・大学院生	前立腺がん幹細胞における CXorf48 の免疫原性の検討