慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	難治がんに対する新規免疫標的分子を用いた診断法および免疫治療法の開発
Sub Title	Development of diagnosis and immunotherapy for intractable cancers
Author	松下, 麻衣子(Matsushita, Maiko)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2020
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2019.)
JaLC DOI	
Abstract	我々は、これまでに新規がん精巣抗原であるCXorf48 が白血病幹細胞に高発現することを明らかにし、本抗原に由来するHLA-A*24:02 拘束性エピトープを同定した。本抗原遺伝子は膵がんおよびホルモン療法抵抗性前立腺がんを含む難治がん細胞にも高発現していることが確認されているが、有用なモノクローナル抗体が存在せず固形がん患者検体でのタンパク質発現検出系が存在しない。そこで、本研究では、CXorf48 分子に対するモノクローナル抗体を作成するために、大腸菌（BL21）を用いてCXorf48 リコンビナントタンパク質の合成および精製を行った。条件検討に難渋したもののタンパクの精製には成功したため、今後さらに大量合成を行った上でモノクローナル抗体作成を行う必要がある。 さらに、同抗原に特異的なT 細胞受容体遺伝子を導入したヒトＴ細胞の作製を行った。我々がすでに同定したCXorf48特異的T細胞受容体遺伝子のうちの１つをｐＭＩＧレトロウイルスベクターに組み換え、内因性Ｔ細胞受容体発現を欠くヒトＴ細胞株に遺伝子導入した。得られた遺伝子改変Ｔ細胞の抗原認識能および細胞傷害活性を検討したところ、CXorf48ペプチドを加えたHLA-A24陽性C1R-A24細胞を認識したにもかかわらず、CXorf48を発現するがん細胞株の認識能は低かった。今後は、脱メチル化剤でがん細胞の抗原発現量を上昇させた上で、遺伝子改変Ｔ細胞の認識能を再検討する必要がある。なお、脱メチル化剤は、T細胞の疲弊を回復させる効果もあると報告されており、遺伝子改変T細胞の活性を持続させる効果も期待できる。 さらに、TCRのアミノ酸配列の一部を変更しTCRと抗原複合体の親和性を上げることで、CXorf48低発現がん細胞も認識できるようになるのではないかと考えている。 本研究の成果をもとに、難治がんにおいて新規分子標的を用いた診断法および強力な免疫治療法の開発を目指していきたい。 We have proved that novel cancer-testis antigen, CXorf48 is highly expressed in leukemic stem cells of chronic myeloid leukemia and identified HLA-A*24:02-restricted epitope derived from this antigen. This gene is also expressed in intractable cancers, including pancreatic cancer or castration-resistant prostate cancer. However, there exists no monoclonal antibody which can detect expression of this antigen in patient samples. Therefore, we tried to generate anti-CXorf48 antibody. We had made recombinant proteins using E.coli (BL21) and purified them. We are going to immunize mice after obtaining enough amount of the protein. Moreover, we could generate human T cell line transduced with antigen-specific T cell receptor (TCR) gene using retroviral vector. The gene-modified T cells recognized CIR-A24 cells pulsed with epitope peptide, althogh the recognition was weak against cancer cells expressing the antigen. Therefore, up-regulation of antigen expression by demethylating agents would be necessary, since demethylating agent is also reported to reverse T cell exaustion. The altelation of amino acids in TCR would be another option to enhance T cell recognition against cancer cells with low antigen expression. We will continue to develop novel diagnostic system and immunotherapy using this target.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2019000007-20190002

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2019 年度　学事振興資金（個人研究）研究成果実績報告書

2020 年 3 月 12 日

研究代表者	所属	薬学部	職名	准教授	補助額	500 （特B）千円
	氏名	松下 麻衣子	氏名（英語）	Maiko Matsushita		

研究課題（日本語）

難治がんに対する新規免疫標的分子を用いた診断法および免疫治療法の開発

研究課題（英訳）

Development of diagnosis and immunotherapy for intractable cancers

１．研究成果実績の概要

我々は、これまでに新規がん精巣抗原である CXorf48 が白血病幹細胞に高発現することを明らかにし、本抗原に由来する HLA-A*24:02 拘束性エピトープを同定した。本抗原遺伝子は膵がんおよびホルモン療法抵抗性前立腺がんを含む難治がん細胞にも高発現していることが確認されているが、有用なモノクローナル抗体が存在せず固形がん患者検体でのタンパク質発現検出系が存在しない。そこで、本研究では、CXorf48 分子に対するモノクローナル抗体を作成するために、大腸菌（BL21）を用いて CXorf48 リコンビナントタンパク質の合成および精製を行った。条件検討に難渋したもののタンパクの精製には成功したため、今後さらに大量合成を行った上でモノクローナル抗体作成を行う必要がある。
さらに、同抗原に特異的な T 細胞受容体遺伝子を導入したヒトT細胞の作製を行った。我々がすでに同定した CXorf48 特異的 T 細胞受容体遺伝子のうちの１つをpMIGレトロウイルスベクターに組み換え、内因性T細胞受容体発現を欠くヒトT細胞株に遺伝子導入した。得られた遺伝子改変T細胞の抗原認識能および細胞傷害活性を検討したところ、CXorf48 ペプチドを加えた HLA-A24 陽性 C1R-A24 細胞を認識したにもかかわらず、CXorf48 を発現するがん細胞株の認識能は低かった。今後は、脱メチル化剤でがん細胞の抗原発現量を上昇させた上で、遺伝子改変T細胞の認識能を再検討する必要がある。なお、脱メチル化剤は、T 細胞の疲弊を回復させる効果もあると報告されており、遺伝子改変 T 細胞の活性を持続させる効果も期待できる。
さらに、TCR のアミノ酸配列の一部を変更し TCR と抗原複合体の親和性を上げることで、CXorf48 低発現がん細胞も認識できるようになるのではないかと考えている。
本研究の成果をもとに、難治がんにおいて新規分子標的を用いた診断法および強力な免疫治療法の開発を目指していきたい。

２．研究成果実績の概要（英訳）

We have proved that novel cancer-testis antigen, CXorf48 is highly expressed in leukemic stem cells of chronic myeloid leukemia and identified HLA-A*24:02-restricted epitope derived from this antigen. This gene is also expressed in intractable cancers, including pancreatic cancer or castration-resistant prostate cancer. However, there exists no monoclonal antibody which can detect expression of this antigen in patient samples. Therefore, we tried to generate anti-CXorf48 antibody. We had made recombinant proteins using E.coli (BL21) and purified them. We are going to immunize mice after obtaining enough amount of the protein. Moreover, we could generate human T cell line transduced with antigen-specific T cell receptor (TCR) gene using retroviral vector. The gene-modified T cells recognized CIR-A24 cells pulsed with epitope peptide, althogh the recognition was weak against cancer cells expressing the antigen. Therefore, up-regulation of antigen expression by demethylating agents would be necessary, since demethylating agent is also reported to reverse T cell exaustion. The altelation of amino acids in TCR would be another option to enhance T cell recognition against cancer cells with low antigen expression. We will continue to develop novel diagnostic system and immunotherapy using this target.

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）
松下麻衣子	Establishment of novel cancer stem cell antigen-specific T cell receptor gene-transduced T cell line	第 17 回日本免疫治療学会	2020 年 2 月 22 日