

Title	去勢抵抗性前立腺がん幹細胞を標的とした強力な免疫複合療法の開発
Sub Title	Development of combined immunotherapy against castration resistant prostate cancer (CRPC)
Author	松下, 麻衣子(Matsushita, Maiko)
Publisher	福澤基金運営委員会
Publication year	2023
Jtitle	福澤諭吉記念慶應義塾学事振興基金事業報告集 (2022.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>我々は前立腺がん幹細胞に発現しているCXorf48を標的としたがん免疫療法の開発を目指している。そのためにCXorf48特異的な診断用モノクローナル抗体の開発と、CXorf48を標的とする遺伝子改変T細胞の作製を行った。</p> <p>まず、精製したMBP-CXorf48タンパク質とアジュバントをBALB/cCrSlcマウスに免疫し、後腸骨リンパ節由来のリンパ球とミエローマ細胞(SP2)からハイブリドーマを作製した。CXorf48発現HEK293T細胞を用いたIn Cell Western法によりハイブリドーマの培養上清の抗原反応性を評価し61種の細胞を選出した。さらに上位7クローンについて限界希釈法によるクローニングを行い4種の有望なクローンを得た。今後、選別したモノクローナル抗体を用いて、前立腺がん細胞株よりEOSシステムを用いて分離した幹細胞におけるCXorf48抗原の発現を検討する。</p> <p>また、我々はこれまでにHLA-A*24:02拘束性に提示されるエピトープを認識するT細胞受容体(TCR)遺伝子導入T細胞を作成しているが、予想していたよりも抗原認識能が低かった。これは内在性TCRと導入されたTCRのミスペアリングにより抗原認識能が低下していた可能性があるため、本研究では、内在性TCRの発現を低下させるsiTCR発現レトロウイルスベクターを用いて再度TCR-T細胞を作製した。すなわち、CXorf48特異的TCRα鎖およびβ鎖遺伝子のVJ領域およびVDJ領域をsiTCRベクターに組み込んでヒトリンパ球に導入し、TCR-T細胞の抗原認識能を評価した。CXorf48, siTCR導入ヒトリンパ球はCXorf48ペプチドを添加したC1R-A24細胞に対して高いIFN-γ産生能を示した。また、CXorf48, siTCR導入細胞は、CXorf48とHLA-A*24:02を高発現しているK562細胞(K562-A24)に対しても高いIFN-γの産生を認めた。さらに、51Cr細胞傷害性試験により、K562-A24細胞への傷害能も確認された。今後は本遺伝子改変T細胞を用いて前立腺がん幹細胞に対する傷害性を明らかにしていく。</p> <p>We are aiming at development of strong immunotherapy against CXorf48, which is highly expressed in prostate cancer stem cells. For this purpose, we have made monoclonal antibody specific to CXorf48 and also generated the gene-modified T cells against this antigen.</p> <p>First, we immunized mice with MBP-CXorf48 protein and generated hybridoma using lymphocytes and myeloma cells. We screened these hybridomas by in cell western method using CXorf48 gene-transduced HEK293T cells, and finally obtained 4 clones. We are going to stain prostate stem cells with these antibodies.</p> <p>On the other hand, we have previously made anti-CXorf48 T cell receptor(TCR)-T cells which recognize HLA-A*24:02-restricted epitope, however, their antigen recognition was relatively weak due to mispairing of internal TCR and transduced-TCR. In this study, we made new retroviral vector which contain siTCR and anti-CXorf48 TCR. Human T cells transduced with this vector recognized C1R-A24 cells pulsed with CXorf48 peptides, and also showed cytotoxicity against K562 cells which have both HLA-A*24:02 and CXorf48. We are going to evaluate cytotoxicity of the TCR-T cells against prostate cancer stem cells.</p>
Notes	申請種類：福澤基金研究補助
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KO12003001-20220003-0001

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.

研究代表者	所属	薬学部	職名	准教授	補助額	1,500 千円
	氏名	松下 麻衣子	氏名 (英語)	Maiko Matsushita		
研究課題 (日本語)						
去勢抵抗性前立腺がん幹細胞を標的とした強力な免疫複合療法の開発						
研究課題 (英訳)						
Development of combined immunotherapy against castration resistant prostate cancer (CRPC)						
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・准教授				
1. 研究成果実績の概要						
<p>我々は前立腺がん幹細胞に発現している CXorf48 を標的としたがん免疫療法の開発を目指している。そのために CXorf48 特異的な診断用モノクローナル抗体の開発と、CXorf48 を標的とする遺伝子改変T細胞の作製を行った。</p> <p>まず、精製した MBP-CXorf48 タンパク質とアジュバントを BALB/cCrSlc マウスに免疫し、後腸骨リンパ節由来のリンパ球とミエローマ細胞(SP2)からハイブリドーマを作製した。CXorf48 発現 HEK293T 細胞を用いた In Cell Western 法によりハイブリドーマの培養上清の抗原反応性を評価し 61 種の細胞を選出した。さらに上位 7 クローンについて限界希釈法によるクローニングを行い 4 種の有望なクローンを得た。今後、選別したモノクローナル抗体を用いて、前立腺がん細胞株より EOS システムを用いて分離した幹細胞における CXorf48 抗原の発現を検討する。</p> <p>また、我々はこれまでに HLA-A*24:02 拘束性に提示されるエピトープを認識するT細胞受容体(TCR)遺伝子導入T細胞を作成しているが、予想していたよりも抗原認識能が低かった。これは内在性 TCR と導入された TCR のミスペアリングにより抗原認識能が低下していた可能性があるため、本研究では、内在性 TCR の発現を低下させる siTCR 発現レトロウイルスベクターを用いて再度 TCR-T 細胞を作製した。すなわち、CXorf48 特異的 TCRα 鎖および β 鎖遺伝子の VJ 領域および VDJ 領域を siTCR ベクターに組み込んでヒトリンパ球に導入し、TCR-T 細胞の抗原認識能を評価した。CXorf48, siTCR 導入ヒトリンパ球は CXorf48 ペプチドを添加した C1R-A24 細胞に対して高い IFN-γ 産生能を示した。また、CXorf48, siTCR 導入細胞は、CXorf48 と HLA-A*24:02 を高発現している K562 細胞 (K562-A24) に対しても高い IFN-γ の産生を認めた。さらに、51Cr 細胞傷害性試験により、K562-A24 細胞への傷害能も確認された。今後は本遺伝子改変T細胞を用いて前立腺がん幹細胞に対する傷害性を明らかにしていく。</p>						
2. 研究成果実績の概要 (英訳)						
<p>We are aiming at development of strong immunotherapy against CXorf48, which is highly expressed in prostate cancer stem cells. For this purpose, we have made monoclonal antibody specific to CXorf48 and also generated the gene-modified T cells against this antigen.</p> <p>First, we immunized mice with MBP-CXorf48 protein and generated hybridoma using lymphocytes and myeloma cells. We screened these hybridomas by in cell western method using CXorf48 gene-transduced HEK293T cells, and finally obtained 4 clones. We are going to stain prostate stem cells with these antibodies.</p> <p>On the other hand, we have previously made anti-CXorf48 T cell receptor(TCR)-T cells which recognize HLA-A*24:02-restricted epitope, however, their antigen recognition was relatively weak due to mispairing of internal TCR and transduced-TCR. In this study, we made new retroviral vector which contain siTCR and anti-CXorf48 TCR. Human T cells transduced with this vector recognized C1R-A24 cells pulsed with CXorf48 peptides, and also showed cytotoxicity against K562 cells which have both HLA-A*24:02 and CXorf48. We are going to evaluate cytotoxicity of the TCR-T 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)			