

# バイオバンクを用いたがん細胞およびがん幹細胞の細胞膜上に特異的に発現する免疫療法の標的分子のスクリーニングに関する研究

## 1. 研究の対象

2019年3月までに国立がん研究センターで包括同意を得られ、保存されたバイオバンクの組織

## 2. 研究目的・方法

背景：がんに対する免疫療法は最近5-10年の間に著しく進歩した。近年のがん免疫療法研究における最も重要なブレイクスルーの一つはCAR (Chimeric Antigen Receptor: キメラ抗原受容体) によるTリンパ球の遺伝子改変技術である。これは、本来がん細胞を認識しない末梢血リンパ球に、がん細胞表面抗原に対する特異的一本鎖抗体を含むシグナル伝達受容体を遺伝子導入することで、がんに対して強い反応性を持つTリンパ球を作製する技術である。この技術により、がん患者の末梢血からほぼ無尽蔵にがん特異的なTリンパ球を作製することが可能となった。現在、米国などでCAR-T細胞によるClinical Trialが進められており、これまでのがん免疫療法に比べ、非常に有効な結果が報告されている。CAR-T細胞による殺細胞効果はこれまで開発が行われてきたどのがん免疫療法よりも飛躍的に強いため、その安全性を確保するためには正常組織での標的分子の発現の有無を慎重に検索する必要がある。つまり、CAR-T細胞を用いたがんの治療法の開発にはがん細胞およびがん幹細胞 (CSC) に特異的に発現する細胞膜蛋白を確認・同定し、同時に正常組織で発現していないことを確認することが非常に重要となってきた。

目的：本研究ではバイオバンクに保存された多数の組織からなるがんおよび正常サンプルを用いてCSC特異的に発現する細胞膜蛋白を同定する。また、これまでに発見されたがん細胞特異的な細胞表面マーカーの発現確認も行い、実際にCAR-T細胞の標的として適しているかの検討を行う。

方法：現在、がん細胞膜特異的に発現すると考えられ、開発が進められている抗体の中で実際にはその効果が認められないものや、発現が確認できているがその下流のシグナルが明確ではないため抗体療法としては開発を断念している分子などCAR-Tの標的分子候補として期待できるものが複数存在する。また、我々は大腸がん細胞株および膵臓がん細胞株に培養による誘導をかけCSC様細胞を作製した。これらの細胞から細胞膜蛋白質を抽出して質量分析による網羅的発現解析を行った。その結果、多数の細胞膜蛋白質がCSC様細胞で高発現していた。さらに現在複数のがん腫で同様にがん幹細胞様細胞に特異的な膜表面蛋白分子の同定を行っており、これらの蛋白質をCSC特異的に高発現する候補遺伝子として以下のような解析を行う。

多種のがん組織(肺がん、肝細胞がん、胃がん、大腸がん、膵臓がん、胆道がん、ATL他造血器系腫瘍、脳腫瘍、食道がんなど) および正常組織(大腸、小腸、肺、血球、胃、脳、膵臓、心筋など)からRNAを抽出しcDNAを作製する。また、これらの組織について凍

結切片の提供を受ける。cDNA を用いてがん及び CSC 様細胞に高発現していた候補遺伝子についてリアルタイム PCR による発現解析を行いがん組織特異的あるいは高発現している遺伝子を探索する。その結果、得られた標的分子の候補について凍結組織切片あるいはパラフィン切片などを用いて免疫組織化学染色を行い、発現を確認する。

研究実施期間：2015 年 2 月～2019 年 3 月

### 3. 研究に用いる試料・情報の種類

国立がん研究センター築地キャンパスのバイオバンク内の組織で、がん組織（肝細胞がん、膵臓がん、胃がん、大腸がん、肺がん（腺がん、扁平上皮がん、大細胞がん、小細胞がん）、ATL 他造血器系腫瘍、主に神経芽腫、膠芽腫などの脳腫瘍、胆嚢がん、胆管細胞がん、食道がん、メラノーマ、悪性中皮腫）および正常組織（食道、胃、小腸、大腸、肝臓、胆嚢、膵臓、肺、心臓（心筋）、腎臓、血球、脳、皮膚）の凍結組織を用いる。凍結組織の量は RNA 抽出するのに十分な量として 500mg 程度さらに HE 染色および免疫組織化学染色をするのに十分な量が必要となる。これらを各がん組織約 10 検体、各正常組織 20 検体を要する。

### 4. 外部への試料・情報の提供・公表

施設外共同研究者は本研究に関する免疫学的アッセイに関する技術的助言を行うのみで試料・情報の提供・公表は行わない。バイオバンクから払い出しを受ける際にバイオバンク上の番号とこちらで提供する番号を連結させて管理する。提供された検体の管理には検体番号が割り付けられ、以後すべての情報は検体番号にて管理する。検体番号は、登録順に自動的に割り付けられ、連結可能匿名化とする。解析並びに結果の公表時の、検体提供者のプライバシーは最大限配慮する。

### 5. 研究組織

国立がん研究センター 吉村 清（研究責任者）  
国立がん研究センター 井上 萌子（分担研究者）  
国立がん研究センター 布施 雅規（分担研究者）  
国立がん研究センター 北野 滋久（分担研究者）  
国立がん研究センター 青木一教（分担研究者）  
国立がん研究センター 中面哲也（分担研究者）  
国立がん研究センター 落合淳志（分担研究者）  
国立がん研究センター 平岡伸介（分担研究者）  
国立がん研究センター 吉田朗彦（分担研究者）

国立がん研究センター 関根茂樹（分担研究者）  
国立がん研究センター 谷口浩和（分担研究者）  
国立がん研究センター 森 泰昌（分担研究者）  
国立がん研究センター 元井 紀子（分担研究者）  
国立がん研究センター 大江裕一郎（分担研究者）  
国立がん研究センター 渡邊俊一（分担研究者）  
国立がん研究センター 片井均（分担研究者）  
国立がん研究センター 深川剛生（分担研究者）  
国立がん研究センター 金光幸秀（分担研究者）  
国立がん研究センター 島田和明（分担研究者）  
山口大学大学院 玉田 耕治（分担研究者）

## 6. 問い合わせ先

本研究に関するご質問等がありましたら下記の連絡先までお問い合わせ下さい。

ご希望があれば、他の研究対象者の個人情報及び知的財産の保護に支障がない範囲内で、研究計画書及び関連資料を閲覧することが出来ますのでお申出下さい。

また、試料・情報が当該研究に用いられることについて、患者さんもしくは患者さんの代理人の方にご了承いただけない場合には研究対象としませんので、下記の連絡先までお申出ください。

この場合も患者さんに不利益が生じることはありません。

照会先および研究への利用を拒否する場合の連絡先：

〒104-0045 東京都中央区築地 5-1-1

国立がん研究センター 中央病院 先端医療科/先端医療開発センター 免疫療法開発  
分野 吉村 清 （研究責任者）

電話 03-3542-2511 FAX 03-3543-6283

研究代表者

同上