

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 次世代がん医療創生研究事業
(英語) Project for Cancer Research and Therapeutic Evolution
- 研究開発課題名： (日本語) がん幹細胞とニッチに特異的な標的分子群の同定と免疫治療への応用
(英語) Identification of target molecules specific to cancer stem cell/niche and application to cancer immunotherapy
- 研究開発担当者 (日本語) 北海道公立大学法人札幌医科大学医学部病理学第一講座・教授・鳥越俊彦
所属 役職 氏名： (英語) Department of Pathology 1, Sapporo Medical University School of Medicine, Professor Toshihiko Torigoe
- 実施期間： 平成 28 年 5 月 25 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) 腫瘍組織の単細胞遺伝子発現解析と研究統括
開発課題名： (英語) Single cell transcriptome analysis of cancer tissues and research management
- 研究開発分担者 (日本語) 北海道公立大学法人札幌医科大学医学部病理学第一講座・教授・鳥越俊彦
所属 役職 氏名： (英語) Department of Pathology 1, Sapporo Medical University School of Medicine, Professor Toshihiko Torigoe
- 分担研究 (日本語) がん幹細胞特異抗原と組織微小環境の解析
開発課題名： (英語) Analysis of cancer stem antigens and tumor microenvironment
- 研究開発分担者 (日本語) 北海道公立大学法人札幌医科大学医学部病理学第一講座・准教授・廣橋良彦
所属 役職 氏名： (英語) Department of Pathology 1, Sapporo Medical University School of Medicine, Associate Professor Yoshihiko Hirohashi
- 分担研究 (日本語) 肉腫幹細胞抗原の探索と Bispecific 人工抗体の開発
開発課題名： (英語) Exploration of sarcoma stem antigens and development of bispecific artificial antibody

研究開発分担者 (日本語) 北海道公立大学法人札幌医科大学医学部病理学第一講座・准教授・塚原智英
所属 役職 氏名: (英語) Department of Pathology 1, Sapporo Medical University School of
Medicine, Associate Professor Tomohide Tsukahara

分担研究 (日本語) ICP 阻害剤抵抗性腫瘍の組織微小環境解析
開発課題名: (英語) Analysis of tumor microenvironment of immune checkpoint blockade-resistant tumors

研究開発分担者 (日本語) 北海道公立大学法人札幌医科大学医学部病理学第一講座・講師・金関貴幸
所属 役職 氏名: (英語) Department of Pathology 1, Sapporo Medical University School of
Medicine, Assistant Professor Takayuki Kanaseki

II. 成果の概要 (総括研究報告)

(1) がん幹細胞に特異的な標的分子群の探索とカタログ化

- ① 腎細胞がん、消化器がん、婦人科がん、肺がん、肉腫の各株化がん細胞および初代培養がん細胞からスフェア形成法および ALDH 活性測定 ALDEFLUOR 法によってがん幹細胞を分離し、RNAseq 法、DNA microarray 法、SAGE 法による網羅的遺伝子発現解析を実施。遺伝子発現データベースを用いて、がん幹細胞に発現が高い遺伝子のうち、精巣以外の正常臓器に発現していない遺伝子をスクリーニングした結果、大腸がん幹細胞に特徴的な遺伝子として LYPD3, LEMD1, OR7C1, DNAJB8 が見出された。子宮がんおよび卵巣がんのがん幹細胞には MMP10, BORISv6 が見出され、肺がん幹細胞からは HOXA5, BORISv6 が見出された。
- ② これらがん幹細胞遺伝子の発現をそれぞれ siRNA によってノックダウンすると、がん幹細胞形質、特に造腫瘍能が失われることから、いずれの遺伝子もがん幹細胞形質の維持に関わる重要な機能性遺伝子であることが判明した。興味深いことに、これらの大部分は精子形成細胞にも発現する遺伝子群であった。

(2) 免疫チェックポイント(ICP)阻害剤抵抗性を規定する組織微小環境解析

- ① 腎細胞がん和大腸がん焦点を絞り、抗 PD-1 抗体感受性のがん組織と抵抗性のがん組織について、包括的単細胞遺伝子発現解析技術を用いて、がん組織を構成する多種多様な細胞の遺伝子を単細胞レベルで分析した。H28年度は新鮮大腸がん組織4例、腎細胞がん組織1例の解析を実施。同時に免疫組織染色法、RT-PCR アレイ法等の従来型解析を実施し、組織単細胞遺伝子発現解析の結果と照合した。
- ② がん組織に含まれるヘテロな細胞群を、がん細胞・免疫細胞・間質細胞の3グループに分類し、各グループに特徴的な遺伝子群を解析した。興味深いことに、がん組織に浸潤している単球・マクロファージには、末梢血由来の単球とは異なる遺伝子を発現していることが判明した。
- ③ がん患者および健常人の末梢血からがん幹細胞抗原 ASB4 特異的 CD8 陽性 T 細胞をクローン化し、テトラマー解析によって存在頻度を分析した。またがん抗原特異的 T 細胞の TCR 遺伝子をクローニングし、構造解析を実施した。さらに末梢血 CD8 陽性 T 細胞の免疫形質と機能を解析し、新規 memory stem-cell subpopulation を同定することに成功。CXCR3+, CD73+ memory T-cell として検出

できることを発見し、“young memory T-cell”と命名した。

(3) がん幹細胞とニッチを標的とする複合型免疫治療法の開発

① がん幹細胞特異的 Bispecific 人工抗体の開発

がん幹細胞抗原 DNAJB8 の CTL エピトープペプチドと HLA-A*2402 複合体に対する人工抗体の特異性と感度について分析し、2 量体形成によるアフィニティーの向上を検討した。さらに、別のがん幹細胞抗原 FAM83B の CTL エピトープペプチドと HLA-A*2402 複合体に対する人工抗体のスクリーニングも開始した。

② がん幹細胞抗原特異的複合型免疫治療法の基礎研究

Type I Interferon と免疫チェックポイント阻害剤 Nivolumab を併用した、がん抗原特異的 CTL の誘導試験を実施。H28 年度はヒト細胞を用いた in vitro CTL 誘導試験によって基礎的データを集めた。

(英文)

A summary of the results

(1) Identification of target molecules specific to cancer stem cells and their categorization

1. Cancer stem cells (CSCs) were successfully separated from cell lines and primary culture cells of kidney cancers, gastrointestinal cancers, gynecological cancers, lung cancers, and sarcoma by sphere-forming method and Aldefluor method. Comprehensive analysis of their gene expression was conducted by using RNAseq, SAGE, and/or DNA microarray. Screening for CSC-specific genes, which are not expressed in normal adult tissues except for testis revealed LYPD3, LEMD1, OR7C1, and DNAJB8 as colon cancer stem-specific genes, MMP10 and BORISv6 as gynecological cancer stem-specific genes, HOXA5 and BORISv5-6 as lung cancer stem-specific genes.

2. Knockdown of these CSC-specific genes by siRNA could lead to the inhibition of CSC-phenotypes such as high tumorigenicity and resistance against chemotherapeutic reagents, indicating that most of the CSC-specific genes have important roles in the maintenance of properties of CSC. Therefore, they are termed CSC-specific functioning molecules. Interestingly, most of them were expressed in testis and involved in the spermatogenesis.

(2) Analysis of tumor microenvironment regulating sensitivity to immune checkpoint blockades (ICB)

1. Tumor tissues derived from ICB-resistant colon cancers and kidney cancers were subjected to single cell transcriptome analysis. Four cases of colon cancers and one case of kidney cancer were analyzed, and the transcriptome data were compared with immunostaining data and conventional RT-PCR data. It was revealed that monocytes in tumor tissues expressed unique genes that were distinct from those in PBLs.

2. CSC-antigen ASB4-specific CD8+ T-cell clones were induced from PBLs of healthy volunteers and cancer patients, and analyzed for the TCR genes. In addition, a novel subpopulation of memory T-cells, which have stem cell-like properties was identified as CXCR3+, CD73+ memory T-cells and termed “young memory T-cells”. Frequency of antigen-specific young memory T-cells was analyzed in PBLs of sarcoma patients after chemotherapy.

(3) Development of combination immunotherapy targeting cancer stem cells and their niches

1. Artificial antibodies specific to CSC antigen DNAJB8/HLA-A24 complex were screened from phage display libraries of immunoglobulin, and two clones were successfully developed. They were formed as dimers and analyzed for the specificity and sensitivity. Complement-dependent cytotoxicity assay demonstrated the specific killing activity against DNAJB8+ cancer cells.
2. In vitro CTL induction assay was performed by using type I interferon and/or anti-PD1 antibody Nivolumab. The efficiency of antigen-specific CTL induction was significantly enhanced in the presence of type I interferon. It was necessary to define more optimized conditions in the experiments.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 8 件、国際誌 20 件）

1. Sasaki T, Kanaseki T, Shionoya Y, Tokita S, Miyamoto S, Saka E, Kochin V, Takasawa A, Hirohashi Y, Tamura Y, Miyazaki A, Torigoe T, Hiratsuka H, Sato N. Microenvironmental stresses induce HLA-E/Qa-1 surface expression and thereby reduce CD8(+) T-cell recognition of stressed cells. *Eur J Immunol* 2016;46:929-940.
2. Ito N, Kamiguchi K, Nakanishi K, Sokolovskaya A, Hirohashi Y, Tamura Y, Murai A, Yamamoto E, Kanaseki T, Tsukahara T, Kochin V, Chiba S, Shimohama S, Sato N, Torigoe T. A novel nuclear DnaJ protein, DNAJC8, can suppress the formation of spinocerebellar ataxia 3 polyglutamine aggregation in a J-domain independent manner. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;474:626-633.
3. Kajiwara T, Tanaka T, Kukita K, Kutomi G, Saito K, Okuya K, Takaya A, Kochin V, Kanaseki T, Tsukahara T, Hirohashi Y, Torigoe T, Hirata K, Sato N, Tamura Y. Hypoxia augments MHC class I antigen presentation via facilitation of ERO1-alpha-mediated oxidative folding in murine tumor cells. *Eur J Immunol* 2016.
4. Kubo T, Hirohashi Y, Torigoe T. Dendritic cell and cancer immune checkpoint. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2016;39:468-472.
5. Mariya T, Hirohashi Y, Torigoe T, Tabuchi Y, Asano T, Saijo H, Kuroda T, Yasuda K, Mizuuchi M, Saito T, Sato N. Matrix metalloproteinase-10 regulates stemness of ovarian cancer stem-like cells by activation of canonical Wnt signaling and can be a target of chemotherapy-resistant ovarian cancer. *Oncotarget* 2016;7:26806-26822.
6. Morita R, Hirohashi Y, Torigoe T, Ito-Inoda S, Takahashi A, Mariya T, Asanuma H, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kubo T, Kutomi G, Mizuguchi T, Terui T, Ishitani K, Hashino S, Kondo T, Minagawa N, Takahashi N, Taketomi A, Todo S, Asaka M, Sato N. Olfactory Receptor Family 7 Subfamily C Member 1 Is a Novel Marker of Colon Cancer-Initiating Cells and Is a Potent Target of Immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2016;22:3298-3309.
7. Murata K, Tsukahara T, Emori M, Shibayama Y, Mizushima E, Matsumiya H, Yamashita K, Kaya M, Hirohashi Y, Kanaseki T, Kubo T, Himi T, Ichimiya S, Yamashita T, Sato N, Torigoe T. Identification of a novel human memory T-cell population with the characteristics of stem-like chemo-resistance. *Oncoimmunology* 2016;5:e1165376.

8. Murata K, Tsukahara T, Torigoe T. Cancer immunotherapy and immunological memory. *Nihon Rinsho Meneki Gakkai Kaishi* 2016;39:18-22.
9. Okita K, Mizuguchi T, Shigenori O, Ishii M, Nishidate T, Ueki T, Meguro M, Kimura Y, Tanimizu N, Ichinohe N, Torigoe T, Kojima T, Mitaka T, Sato N, Sawada N, Hirata K. Pancreatic regeneration: basic research and gene regulation. *Surg Today* 2016;46:633-640.
10. Saijo H, Hirohashi Y, Torigoe T, Horibe R, Takaya A, Murai A, Kubo T, Kajiwara T, Tanaka T, Shionoya Y, Yamamoto E, Maruyama R, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Tsukahara T, Tamura Y, Sasaki Y, Tokino T, Suzuki H, Kondo T, Takahashi H, Sato N. Plasticity of lung cancer stem-like cells is regulated by the transcription factor HOXA5 that is induced by oxidative stress. *Oncotarget* 2016;7:50043-50056.
11. Shima H, Kutomi G, Satomi F, Maeda H, Hirohashi Y, Hasegawa T, Mori M, Torigoe T, Takemasa I. SOX2 and ALDH1 as Predictors of Operable Breast Cancer. *Anticancer Res* 2016;36:2945-2953.
12. Takaya A, Hirohashi Y, Murai A, Morita R, Saijo H, Yamamoto E, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Tsukahara T, Tamura Y, Takemasa I, Kondo T, Sato N, Torigoe T. Establishment and Analysis of Cancer Stem-Like and Non-Cancer Stem-Like Clone Cells from the Human Colon Cancer Cell Line SW480. *PLoS One* 2016;11:e0158903.
13. Tanabe A, Tanikawa K, Tsunetomi M, Takai K, Ikeda H, Konno J, Torigoe T, Maeda H, Kutomi G, Okita K, Mori M, Sahara H. RNA helicase YTHDC2 promotes cancer metastasis via the enhancement of the efficiency by which HIF-1alpha mRNA is translated. *Cancer Lett* 2016;376:34-42.
14. Tanaka T, Kutomi G, Kajiwara T, Kukita K, Kochin V, Kanaseki T, Tsukahara T, Hirohashi Y, Torigoe T, Okamoto Y, Hirata K, Sato N, Tamura Y. Cancer-associated oxidoreductase ERO1-alpha drives the production of VEGF via oxidative protein folding and regulating the mRNA level. *Br J Cancer* 2016;114:1227-1234.
15. Tsukahara T, Emori M, Murata K, Mizushima E, Shibayama Y, Kubo T, Kanaseki T, Hirohashi Y, Yamashita T, Sato N, Torigoe T. The future of immunotherapy for sarcoma. *Expert Opin Biol Ther* 2016;16:1049-1057.
16. Tsukahara T, Hirohashi Y, Kanaseki T, Nakatsugawa M, Kubo T, Sato N, Torigoe T. Peptide vaccination therapy: Towards the next generation. *Pathol Int* 2016;66:547-553.
17. Yamashita M, Hirohashi Y, Torigoe T, Kusumoto H, Murai A, Imagawa T, Sato N. Dnajb8, a Member of the Heat Shock Protein 40 Family Has a Role in the Tumor Initiation and Resistance to Docetaxel but Is Dispensable for Stress Response. *PLoS One* 2016;11:e0146501.
18. Yamauchi M, Hirohashi Y, Torigoe T, Matsumoto Y, Yamashita K, Kayama M, Sato N, Yotsuyanagi T. Wound healing delays in alpha-Klotho-deficient mice that have skin appearance similar to that in aged humans - Study of delayed wound healing mechanism. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;473:845-852.
19. Yasuda K, Hirohashi Y, Kuroda T, Takaya A, Kubo T, Kanaseki T, Tsukahara T, Hasegawa T, Saito T, Sato N, Torigoe T. MAPK13 is preferentially expressed in gynecological cancer stem cells and has a role in the tumor-initiation. *Biochem Biophys Res Commun* 2016;472:643-647.
20. 塩野谷洋輔, 金関貴幸, 鳥越俊彦: がん免疫の基礎と免疫療法, 腎臓内科・泌尿器科 3: 195-200, 2016.

21. 芝山雄二, 塚原智英, 鳥越俊彦: がん幹細胞を標的としたペプチドワチン療法の開発. 日本医歯薬ジャーナル 52: 1073-1076, 2016.
22. 堀部亮多, 廣橋良彦, 鳥越俊彦: がん細胞亜集団-がん幹細胞, EMT, オートファージの観点から-がん免疫療法の標的としての可能性. 実験医学 34: 69-75, 2016.
23. 鳥越俊彦, 久保輝文: 乳癌腫瘍免疫の新展開: PD-1治療との関連性. CANCER BOARD of the BREAST 2: 23-27, 2016.
24. 久保輝文, 廣橋良彦, 塚原智英, 金関貴幸, 中津川宗秀, 守田玲菜, 菊池泰弘, 佐藤昇志, 鳥越俊彦: Somato-Garminomicsががん幹細胞抗原とCTL-based免疫療法. 臨床免疫・アレルギー科 66: 209-214, 2016.
25. 塚原智英, 村田憲治, 江森誠人: 「Vocabulary」免疫記憶幹細胞. 整形外科67, 1364. 2016.
26. Horibe R, Hirohashi Y, Asano T, Mariya T, Suzuki T, Takaya A, Saijo H, Shionoya Y, Kubo T, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Tsukahara T, Watanabe K, Atsuyama E, Toji S, Hirano H, Hasegawa T, Takahashi H, Sato N, Torigoe T. Brother of the regulator of the imprinted site (BORIS) variant subfamily 6 is a novel target of lung cancer stem-like cell immunotherapy. PLoS One 2017;12:e0171460.
27. Kubo T, Hirohashi Y, Matsuo K, Sonoda T, Sakamoto H, Furumura K, Tsukahara T, Kanaseki T, Nakatsugawa M, Hirano H, Furuhashi T, Takemasa I, Hasegawa T, Torigoe T. Mismatch Repair Protein Deficiency Is a Risk Factor for Aberrant Expression of HLA Class I Molecules: A Putative "Adaptive Immune Escape" Phenomenon. Anticancer Res 2017;37:1289-1295.
28. Shionoya Y, Kanaseki T, Miyamoto S, Tokita S, Hongo A, Kikuchi Y, Kochin V, Watanabe K, Horibe R, Saijo H, Tsukahara T, Hirohashi Y, Takahashi H, Sato N, Torigoe T. Loss of tapasin in human lung and colon cancer cells and escape from tumor-associated antigen-specific CTL recognition. Oncoimmunology 2017;6:e1274476.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Plasticity of lung cancer stem cells is regulated by epigenetic mechanism. ポスター、Torigoe T, Hirohashi Y, Sato N. The 41st Naito Conference on Cancer Heterogeneity and Plasticity: Relevance to Therapeutic Resistance, Sapporo, July 5-8, 2016, 国内
2. ETAS uptake can protect renal function against cisplatin nephrotoxicity. 口頭、Torigoe T, Nakayama A, Hashino Y, Tokita S, Asanuma H, Kanaseki T. 24th Annual meeting of international congress on nutrition and integrative medicine. Sapporo, July 9-10, 2016, 国内
3. Somato-Germinomics antigens: A new entity of cancer-stem cell-specific functioning antigens. 口頭、Torigoe T, Hirohashi Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Vitaly K, Miyamoto S, Asano T, Horibe R, Morita R, Sato N: International Congress of Immunology 2016. Melbourne, Australia, Aug 21-26, 2016. 国外
4. 北の大地が発信する腫瘍免疫学とがん免疫療法. 口頭、鳥越俊彦. 第12回北海道癌免疫制御研究会特別講演、札幌、2016年7月9日、国内

5. Somato-Germinomics antigens: A new entity of functioning cancer stem cell antigens、口頭、鳥越俊彦、第 18 回日本免疫学会免疫サマースクール 2016、函館大沼、2016 年 7 月 12 日、国内
6. がんを免疫で治す時代の到来、口頭、鳥越俊彦、第 3 回生活習慣病を考える医療研究会、さいたま市、2016 年 7 月 23 日、国内
7. 病理組織学バイオマーカーによる免疫病理診断の重要性、口頭、鳥越俊彦、第20回日本がん免疫学会総会ワークショップ、大阪、2016年7月29日、国内
8. 免疫チェックポイント阻害療法の現状と問題点、口頭、鳥越俊彦、北海道医学大会腫瘍系分科会特別講演、札幌、2016 年 9 月 3 日、国内
9. がん幹細胞を標的としたがん予防ワクチンの開発、口頭、鳥越俊彦、第 8 回血液疾患免疫療法学会学術集会シンポジウム、札幌、2016 年 9 月 3 日、国内
10. 免疫チェックポイント阻害療法の自己免疫副作用：概説、口頭、鳥越俊彦、第44回日本臨床免疫学会ワークショップ、東京、2016年9月8日、国内
11. がん免疫制御の基礎と臨床、口頭、鳥越俊彦、第44回日本臨床免疫学会ビギナーズセミナー、東京、2016年9月8日、国内
12. がん免疫療法バイオマーカーの探索と免疫病理診断、口頭、鳥越俊彦、第 6 回北海道探索病理学研究シンポジウム講演、札幌、2016 年 9 月 17 日、国内
13. Somato-Germinomics antigens are immunogenic cancer stem cell antigens. ポスター、Torigoe T, Hirohashi Y, Tsukahara T, Nakatsugawa M, Kubo T, Vitaly K: The Second CRI-CIMT-EATI-AACR International Cancer Immunotherapy Conference, New York, USA, September 25-28, 2016, 国外
14. がん免疫病理学の進歩と免疫療法の開発、口頭、鳥越俊彦、北海道医学大会病理系分科会特別講演、札幌、2016 年 10 月 15 日、国内
15. HLA-A24 リガンドーム解析による腫瘍抗原・ネオアンチゲン・がん幹細胞抗原探索、口頭、金関貴幸、Vitaly K、宮本昇、時田芹奈、鳥越俊彦、第 25 回日本組織適合性学会大会シンポジウム「腫瘍免疫学・免疫治療学の進歩」、札幌、2016 年 10 月 22 日、国内
16. Immune responses against cancer stem cell-specific stress proteins: Application to prophylactic cancer vaccine. ポスター、Torigoe T: VIIIth International Symposium on Heat Shock Proteins in Biology and Medicine: Stress Responses in Health and Disease. Alexandria, USA, October 29-November 2, 2016, 国外
17. 免疫チェックポイント阻害療法の最新知見：作用機序から副作用まで、口頭、鳥越俊彦、MSD 皮膚疾患フォーラム特別講演、札幌、2016 年 11 月 19 日、国内
18. 肺がん免疫療法の基礎と臨床：Up-to-date、口頭、鳥越俊彦、第177回日本肺癌学会関東支部学術集会ランチョンセミナー、東京、2016年11月26日、国内
19. 免疫チェックポイント阻害剤の新たな知見、口頭、鳥越俊彦、Sapporo Immunotherapy Evening、札幌、2017年1月27日、国内
20. Single cell transcriptome analysis for dissecting tumor microenvironment. 口頭、Torigoe T: The 32nd Nagoya International Cancer Treatment Symposium: Next generation cancer immunotherapy beyond the current status. Nagoya, Japan, February 11-12, 2017, 国内
21. 免疫チェックポイント阻害剤の最新知見と展望、口頭、鳥越俊彦、肺腫瘍臨床フォーラム、札幌、2017年3月10日、国内

22. がん免疫療法の基礎と臨床、口頭、鳥越俊彦、第 29 回北海道癌治療研究会、札幌、2017 年 3 月 18 日、国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. がん治療の革命「免疫力でがんを治す時代が来た」、鳥越俊彦、2016 年度赤平市医師会市民公開講座「がん免疫療法の進歩」特別講演、赤平、2016 年 5 月 19 日、国内
2. 免疫力でがんを治す時代の到来が到来した、鳥越俊彦、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「がん研究分野の特性等を踏まえた支援活動」青少年・市民公開講座「高校生のためのがんセミナー」、札幌、2016 年 6 月 11 日、国内
3. がん治療の革命「免疫力でがんを治す時代の到来」、鳥越俊彦、自衛隊札幌病院豊友会特別講演、札幌、2016 年 6 月 11 日、国内
4. がん治療の革命「がん免疫療法」—免疫病理学はおもしろい—、鳥越俊彦、第 13 回日本病理学会北海道支部「病理夏の学校」、旭川、2016 年 7 月 4 日、国内
5. 病理解剖がもたらした医学の進歩、鳥越俊彦、市立室蘭総合病院解剖慰霊祭特別講演、室蘭、2016 年 10 月 11 日、国内
6. がん免疫治療の最新事情、鳥越俊彦、札幌モーニングロータリークラブ講演会、札幌、2017 年 3 月 8 日、国内

(4) 特許出願

1. PCT/JP2016/83984
2. PCT/JP2016/88904
3. 特願2017-53317