

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「免疫機構をターゲットとした創薬」
(次世代型遺伝子改変 T 細胞による新規がん免疫療法の開発)
2. 研究開発代表者： 玉田耕治 (国立大学法人山口大学)
3. 研究開発の成果

研究代表者の玉田は固形がんに対して有効性を示しうる次世代型キメラ抗原受容体 (CAR: Chimeric Antigen Receptor)-T 細胞の誘導を目的として、T 細胞の長期生存や集積の誘導に必要なサイトカインとケモカインである IL-7 (interleukin-7) と CCL19 (C-C motif chemokine 19) の発現モジュールを組み込んだ CAR ベクターシステムを開発した。IL-7/CCL19 発現 CAR-T 細胞は高濃度の IL-7 と CCL19 を産生し、*in vitro* 培養において通常の CAR-T 細胞と比べて長期に生存しうることが示された。また、チャンバー培養システムにて、周囲に存在する T 細胞や樹状細胞の集積を誘導する能力があることが示された。マウスを用いた固形がん治療モデルでは、通常の CAR-T 細胞投与ではほとんど治療効果は認められなかった一方、IL-7/CCL19 発現 CAR-T 細胞の投与では有意な腫瘍サイズの縮小、生存率の延長が認められた。また、IL-7/CCL19 発現 CAR-T 細胞の投与をうけたマウスの腫瘍局所では著明なリンパ球浸潤が認められた。

研究分担者の安川は CD16-CD3 ζ キメラレセプター遺伝子発現ベクターを作製し、抗体療法との併用による新規がん免疫細胞療法を開発した。CD16-CD3 ζ 発現 CTL は、CD20 陽性悪性リンパ腫細胞ならびに Her2/neu 陽性乳がん細胞に対して、それぞれ rituximab および trastuzumab 添加時に高い ADCC 活性を呈することが明らかとなった。さらに、成人 T 細胞白血病細胞に対する mogamulizumab の抗腫瘍効果の向上も確認できた。また、従来 of TCR 遺伝子治療の効果を上向きさせる目的で、hTERT 特異的 TCR と CD16-CD3 ζ を同時に発現させた CTL の mogamulizumab 添加での抗 ATL 効果を解析したところ、CD16-CD3 ζ 単独発現 CTL に比べて高い抗腫瘍効果が確認できた。さらに、新規 T 細胞レセプター遺伝子改変 T 細胞療法の開発目的で、WT1-TCR 遺伝子をヒト CD34 陽性造血幹細胞に遺伝子導入し、HLA トランスジェニック NSG マウスに移植した。その結果、WT1 特異的 TCR 遺伝子をヒト造血幹細胞に遺伝子導入することで、WT1 特異的 HLA-A24 拘束性 CTL がマウス体内で分化増殖することが示された。

研究分担者の谷口は、食道癌などの扁平上皮がん、膵がん、乳がんなどで、膜上に発現している GPC-1、および肝がんなどで膜上に発現している抗原 X を標的として、CAR-T 細胞療法の開発を行った。GPC-1 に関しては、谷口らの保有する抗 GPC-1 モノクローナル抗体の可変領域部分から、抗 GPC-1-CAR-T 細胞を作製した。作製した抗 GPC-1-CAR-T 細胞は、GPC-1 発現がん細胞に対して、*in vitro* で GPC-1 特異的な殺傷能力をしめし、*in vivo* でも有意な抗腫瘍効果を示した。抗原 X に関しては、細胞膜上に発現する抗原 X を、FACS を用いて高感度に認識できるモノクローナル抗体を 2 クローン作製した。そのうちの一つは、パラフィン切片での免疫染色にも用いることができ、30 種類のヒト正常組織で抗原 X の発現を評価した結果、どの組織にも染色像は、認められなかった。これら 2 クローンの抗体から抗 X-CAR-T 細胞を作製した。作製した抗 X-CAR-T 細胞は、抗原 X 特異的に、抗原 X 発現がん細胞を *in vitro* で認識した。以上、本研究で、GPC-1 や抗原 X を標的とした CAR-T 細胞の作製に成功した。いずれの標的も正常組織では明らかな発現を認めないため、作製した T 細胞を用いた CAR-T 細胞療法の臨床応用の可能性が示唆された。