

(第 12 号様式)

学位論文の要約
(研究成果のまとめ)

氏名 宮崎 幸大

学位論文名 成人 T 細胞性白血病に対する hTERT 特異的 TCR 遺伝子を用いた
新たな細胞免疫療法の開発

学位論文の要約

【背景・目的】成人 T 細胞性白血病 (ATL) はヒト T リンパ球向性ウイルス (HTLV-1) 感染が原因で発症し、日本で発症が多い、予後の極めて不良な血液悪性疾患である。現在に至るまで化学療法での根治は極めて困難であり、最も強力な免疫療法である同種造血幹細胞移植が唯一長期生存の期待できる治療法である。しかし ATL は高齢発症であり同種造血幹細胞移植の適応が限定されている。また免疫療法の標的となる ATL の腫瘍抗原はウイルス関連抗原を含めて報告はあるが、臨床的に有効性のある腫瘍抗原はまだ報告されていない。今回 ATL に対する新たな免疫療法を開発するために、腫瘍関連抗原の一つである human telomerase reverse transcriptase (hTERT) を特異的に認識する T 細胞受容体 (TCR) を用いた細胞免疫療法の有用性について検討を行った。

【方法】今回使用した hTERT 特異的 TCR 遺伝子は、日本人に頻度の高い HLA-A*24:02 拘束性かつ以前当科で同定した hTERT₄₆₁₋₄₆₉ の nonamer を特異的に認識する TCR である。ベクターは hTERT 特異的 TCR 遺伝子を高率に発現し、かつ内因性の TCR を抑制する遺伝子 (siRNA) を組み込んだ新しいレトロウイルスベクター (hTERT-siTCR vector) を使用した。この hTERT-siTCR vector を CD8 陽性 T 細胞に遺伝子導入して細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を作成し (hTERT-siTCR CTL)、ATL 細胞に対する抗腫瘍効果を in vitro および in vivo で検討した。

【結果】最初に ATL 細胞における hTERT の発現をリアルタイム PCR および Western blotting で検討した。ATL 細胞株や患者 ATL 細胞では hTERT が過剰発現していたが、造血幹細胞のマーカーである CD34 陽性細胞を含めた健常人の細胞では hTERT はほとんど発現していなかった。これは hTERT を腫瘍抗原とする細胞免疫療法を行う際に、正常細胞や造血能を傷害することなく ATL 細胞を選択的に傷害する可能性を示唆している。次に患者末梢血を hTERT ペプチドで刺激してテトラマー染色したところ、HLA-A*24:02 陽性 ATL 患者の末梢血中には陰性 ATL 患者や陽性健常人と比較して hTERT を特異的に認識する CD8 陽性 T 細胞が有意に高く存在しており、患者体内

で ATL 細胞由来の hTERT が CTL 誘導活性を發揮していることが示唆された。健常人の CD8 陽性 T 細胞に hTERT-siTCR vector を遺伝子導入して作成した hTERT-siTCR CTL は、30-50%前後と高い hTERT 特異的 TCR を発現し、HLA-A*24:02 拘束性かつ hTERT 特異的に細胞傷害活性を獲得した。作成した CTL を用いてまず ATL 細胞株に対する抗腫瘍効果を検討したところ、HLA-A*24:02 陽性 ATL 細胞株に対して高い細胞傷害活性を示した。顕微鏡的にも経時的に抗腫瘍効果を發揮していく様子を観察することができた。次に患者の ATL 細胞に対する抗腫瘍効果を検討したところ、細胞株と同様に HLA-A*24:02 陽性患者 ATL 細胞に対して高い細胞傷害活性を示した。一方 HLA-A*24:02 陽性の正常細胞や CD34 陽性細胞に対しては細胞傷害活性を示さなかった。次に HLA-A*24:02 陽性 ATL 患者から hTERT-siTCR CTL を作成し自身の ATL 細胞に対する抗腫瘍効果を検討したところ、この系でも CTL は患者 ATL 細胞に対して細胞傷害活性を示した。最後に in vivo における抗腫瘍効果の検討を行った。NOG マウスに HLA-A*24:02 陽性 ATL 細胞株と hTERT-siTCR CTL を同時に皮下接種してその後 CTL を 3 回追加静脈して腫瘍増殖の抑制効果を検討したところ、遺伝子導入していないコントロール群では腫瘍細胞が急激に増殖したが、hTERT-siTCR を遺伝子導入した CTL 投与群では腫瘍細胞の増殖が完全に抑制された。

【考察と結論】hTERT-siTCR CTL は細胞表面上にプロセスされた HLA-A*24:02 と hTERT の複合体を特異的に認識して、hTERT を過剰発現した HLA-A*24:02 陽性 ATL 細胞のみを傷害し、発現の低い正常細胞は傷害しないことから、hTERT が ATL に対して有用な腫瘍関連抗原となりうる可能性が示された。さらに autologous の系において急性型 ATL 細胞を傷害した報告はなく、hTERT を標的とした細胞免疫療法は臨床的にも有用性が高いと考えられる。この細胞免疫療法は同種造血幹細胞移植の適応外となる高齢者に対しても安全かつ効果的に腫瘍細胞を根絶する可能性があると考えられる。

尚、この学位論文の内容は、以下の原著論文にすでに公表済である。

Yukihiro M, Hiroshi F, et al: Development of a novel redirected T cell-based immunocelltherapy targeting human telomerase reverse transcriptase for the treatment of adult T-cell leukemia. *Blood*. 121(24):4894-4901, 2013