

学位論文審査結果の要旨

氏名	宮崎 幸大
審査委員	主査 山下 政克 副査 浜川 裕之 副査 阿部 雅則 副査 小笠原 正人 副査 村上 信司

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

審査結果の要旨

【背景・目的】成人 T 細胞性白血病 (ATL) はヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) 感染が原因で発症し、日本での発症が多い、極めて予後不良な血液悪性疾患である。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が、ATL は高齢発症でありその適応は限定的である。また、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】hTERT 特異的 TCR 遺伝子は、日本人に頻度の高い HLA-A*24:02 拘束性かつ申請者の所属研究室で以前に同定した hTERT₄₆₁₋₄₆₉ ペプチドを特異的に認識する TCR である。ベクターは hTERT 特異的 TCR 遺伝子を効高率に発現し、かつ内因性の TCR を抑制する遺伝子 (shRNA) を組み込んだ新しいレトロウィルスベクター (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】ATL 細胞株や患者 ATL 細胞では hTERT が過剰発現していたが、健常人の細胞では hTERT はほとんど発現していなかった。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いた。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、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。作製した CTL は、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。さらに、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す一方で、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。続いて 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が確認できた。NOG/Scid/γC 欠損マウスに 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、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、*in vivo*における抗腫瘍効果が確認された。

【考察と結論】hTERT-siTCR CTL は、hTERT を過剰発現した HLA-A*24:02 陽性 ATL 細胞のみを傷害したことから、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。これまで 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、高齢者に対しても安全かつ効果的に腫瘍細胞を根絶できる可能性が示された。

申請者は、ATL に対する免疫療法について研究の背景を概説した後、今回の実験の方法と結果について説明した。審査員からは、臨床応用を視野に入れた、質・量ともにレベルの高い研究であるとの評価があった。引き続き質疑応答では、幹細胞や粘膜組織、生殖細胞などでは hTERT が発現しているが、本細胞療法はそこには影響しないのか [今のところ影響見られていないが、注意してみていく必要がある]、Autologous の系で細胞障害活性が低いがどうしてか [実験条件の問題であり、十分な細胞数を得るために細胞を増やしすぎたためと考えている。将来的な対処として臍帯血を用いる方法等も考えている]、患者検体の hTERT の発現量と免疫療法の反応性に相関はあるか [相関はないが、低いレベルの hTERT の発現でも HLA で提示され CTL に認識されるには十分であるからと考える]、治療しているうちに hTERT の発現量が低下し治療効果が得にくくなるのではないかと [予想できるが、実際に治療してみないと最終的には判断できない] などの質問に対し、申請者は自らの研究の限界を含めて明確に回答した [カッコ内が回答の内容]。

したがって、審査委員は本論文を高く評価し、全員一致して博士（医学）の学位に値すると判断した。