

学位論文の要約 (研究成果のまとめ)

氏名 越智 史博

学位論文名 細胞免疫療法を目的とした抗体依存性細胞傷害活性を発揮する
CD16-CD3 ζ キメラレセプター遺伝子改変 T 細胞の開発

学位論文の要約

【背景】

がんに対するモノクローナル抗体 (mAb) 療法の主たる抗腫瘍効果は、NK 細胞やマクロファージなどの Fc γ RIIIa (CD16) 発現細胞が介在する抗体依存性細胞傷害活性 (Antibody-dependent cellular cytotoxicity: ADCC) による。しかし、実臨床において、抗がん剤投与に続発するリンパ球減少や ADCC 自体による NK 細胞の疲弊により、期待した臨床効果が得られないことが多い。これに対して、mAb 投与と合わせて ADCC エフェクター細胞を補充する細胞免疫療法が試みられ始めている。具体的には、体外で増幅培養した NK 細胞や $\gamma\delta$ T 細胞を用いているが、十分な評価は得られていない。また、最近、ウイルス感染細胞に対し CD16 陽性 α/β -T 細胞が HLA 非拘束性に ADCC 活性を示すことが報告された。このことは、自然界において、CD16 陽性 T 細胞が存在し得ることを示している。

これらの事実をもとに我々は、ADCC エフェクター細胞として人工 CD16 陽性 T 細胞を作製することを考えた。IgG1 と IgG3 に対する Fc γ RIIIa の結合性が、158 番アミノ酸の多型性に規定されることが知られている。そこで、細胞外ドメインを新規高親和性 (158V/V) CD16 で、T 細胞活性化シグナル伝達部位である細胞内ドメインを CD3 ζ とするキメラ受容体遺伝子を開発し、lentivirus vector を用いて末梢血 α/β T 細胞に遺伝子導入した新たなエフェクター細胞 (cCD16 ζ -T 細胞) を作成して、現在のがんに対する mAb 療法の問題点の克服を試みた。

【方法と結果】

- 1) 新たに作成した高親和性 CD16-CD3 ζ キメラ遺伝子を、内在性 TCR を欠失させ活性化リポーター遺伝子構造としてルシフェラーゼ-NFAT 遺伝子を導入しているヒト T リンパ球細胞株 Jurkat/MA/CD8 α /luc 細胞に lentivirus vector を用いて導入した。この細胞を用いて、cCD16 ζ 受容体が標的識別と T 細胞の活性化を達成し得ることを確認した。
- 2) 健常人末梢血 T 細胞を用いて作製した cCD16 ζ -T 細胞は体外で容易に拡大培養できた (28 日間で $1.01 \pm 0.25 \times 10^3$ 倍)。cCD16 ζ -T 細胞は抗 CD20-mAb (rituximab) でオプソニン化された

CD20 陽性リンパ腫細胞株 (Raji, Daudi) , 抗 Her2-mAb (trastuzumab) でオプソニン化された乳がん細胞株 (MCF-7) /卵巣がん細胞株 (SKOV3) , 抗 CCR4-mAb (mogamulizumab) でオプソニン化された CCR4 陽性 HTLV-1 感染 CD4 陽性 T 細胞株 (MT4) /ATL 細胞株 (ATN-1) に対して高い ADCC 活性を發揮した。ADCC 活性は mAb 量, 標的細胞表面の抗原発現量, エフェクター細胞数に規定された。

3) ADCC 活性を發揮する過程で, cCD16 ζ -T 細胞は, 標的特異的に炎症性サイトカイン分泌と細胞傷害性脱顆粒を示し, さらに反応性細胞分裂増殖と effector memory T 細胞への分化を示した。

4) CD20 陽性 B 細胞リンパ腫患者の末梢血から作成した cCD16 ζ -T 細胞は, rituximab でオプソニン化した自己リンパ腫細胞に対し, ADCC 活性と反応性増殖を示し, 患者リンパ球を用いてもこの系は成立することが示された。

5) 他方, NK 細胞との比較において, IL-2 で活性化した NK 細胞はオプソニン化されたがん細胞に対し ADCC 活性を有していたが, cCD16 ζ -T 細胞と異なり反応性細胞分裂は示さなかった。

6) ルシフェラーゼ遺伝子を導入したヒトリンパ腫細胞株 Raji/luc を静脈播種させた NOG マウス異種移植腫瘍モデルを用いた in vivo での検討でも, rituximab と同時に経静脈的に輸注した cCD16 ζ -T 細胞は, 腫瘍増殖を抑制し, 生存期間を延長した。一方で NK 細胞では短期的な腫瘍抑制効果に留まった。cCD16 ζ -T 細胞と rituximab を投与したマウスの剖検結果でも, その腫瘍抑制効果は確認された。

【考察】

cCD16 ζ -T 細胞は活性化 NK 細胞と同等の ADCC 活性を持つ一方で, NK 細胞と異なり容易に拡大培養でき, さらに, 輸注後体内で腫瘍細胞を殺傷した後, 引き続き一定期間増幅することで体内に長く留まることが出来る。また, 理論的には cCD16 ζ -T 細胞は ADCC 活性を發揮する既存の IgG1, IgG3 抗体製剤すべてを利用できる点において, 現在注目されている chimeric antigen receptor (CAR) に対しても優位性を有すると考えられる。

今回の研究結果は, cCD16 ζ -T 細胞を用いた細胞免疫療法が, 現在の抗体療法の問題点を克服し, がんに対する抗体療法の治療成績を大きく向上できる新たながん治療戦略になり得る可能性を示している。

なお, 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。

主論文: Ochi F, Fujiwara H, Tanimoto K, Asai H, Miyazaki Y, Okamoto S, Mineno J, Kuzushima K, Shiku H, Barrett J, Ishii E, Yasukawa M: Gene-modified human α/β -T cells expressing a chimeric CD16-CD3 ζ receptor as adoptively transferable effector cells for anticancer monoclonal antibody therapy. *Cancer Immunol Res.* 2:249-62, 2014. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0099-T. Epub 2014 Jan 3.