

学位論文審査結果の要旨

氏名	越智 史博
審査委員	主査 薬師神 芳洋 副査 高田 泰次 副査 青戸 守 副査 藤岡 徹 副査 山田 啓之

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

審査結果の要旨 (2,000 字以内)

【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 (ADCC) による。しかし実臨床においては、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 細胞の疲弊から、期待した臨床効果が得られないことが多い。これに対し、mAb 投与に加え 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。即ち、体外で増幅培養した NK 細胞や $\gamma\delta$ T 細胞を用いた細胞免疫療法である。しかし一方で、十分な評価は得られていない。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。これらの事実を基に我々は、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、CD16 分子の 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、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、cCD16ζ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) 健康人末梢血T細胞を用いて作製したcCD16ζ-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)。cCD16ζ-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)に対し高いADCC活性を發揮した。ADC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、cCD16ζ-T細胞は標的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cCD16ζ-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、cCD16ζ-T細胞と異なり反応性細胞分裂は示さなかった。6) ルン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cCD16ζ-T細胞は腫瘍増殖を抑制し生存期間を延長した。一方、NK細胞では短期的な腫瘍抑制効果に留まった。cCD16ζ-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】cCD16ζ-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可能であり、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cCD16ζ-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、cCD16ζ-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成績を大きく向上する新たながん治療戦略になり得る可能性を示している。

審査会は平成26年1月7日に開催され、発表後に質疑応答が為された。各審査委員からは、「cytotoxic assayの評価方法とET ratioについての考察」「本実験系をNK細胞では無くT細胞に用いた意義」「抗体薬の相違による効果の違いについて」「抗体投与のタイミングについての考察」「不応例に生じる中枢転移の理由」等の本実験に関する知識について質問が行われた。続いて、本研究の意義に関するものとしては、「本治療を人体に用いた際の副作用、例えばlentivirus vectorを用いる事の問題点や、治療後生じる可能性のある高サイトカイン血症の考察と対応」「現在行われている他の免疫療法との比較」「今後人体に本研究を用いた際の問題点と今後の進展について」等の質問が行われた。申請者は各質問に的確に返答し、本論文関連領域に関して学位授与に値する十分な見識と能力があることを審査員全員一致で確認した。