

(第7号様式)

学位論文審査結果の要旨

氏名	丸田 雅樹
審査委員	主査 山下 政克 副査 増本 純也 副査 加藤 英政 副査 小川 晃平 副査 福田 信治

論文名

改変抗体 CAR/BiTE で誘導されるがんに対する T 細胞反応性の比較解析

審査結果の要旨

【背景と目的】

近年の遺伝子改変技術の進歩により、改変抗体を応用した T 細胞療法が難治性腫瘍に対する治療法として注目されている。なかでも、キメラ型抗原受容体 (CAR: chimeric antigen receptor) と二重特異性抗体 (BiTE: bispecific T-cell engager) は、臨床試験でも難治性造血器腫瘍に対して有効性が示されている。これまでに報告されている CAR/BiTE は、HLA/ペプチド複合体とは異なる表面抗原を認識する一本鎖抗体 (scFv: single chain fragment variable) を用いて作製されており、CAR と BiTE の治療効果と安全性に深く関わる標的特異性や交差性について詳細に比較することが困難であった。がん精巢抗原 NY-ESO-1 は、HLA-A*02:01/NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ (A2/NY-ESO-1₁₅₇) 複合体として、難治性骨髄腫を含めたがん細胞表面で提示されている。そこで申請者は、A2/NY-ESO-1₁₅₇ を特異的に認識する scFv をもとに CAR および BiTE を作製し、がん細胞に対する特異性、反応性および他の抗原に対する潜在的な交差反応性について、*in vitro*、*in vivo* の両方で詳細な比較検討を行った。

【方法】

標的がん細胞株として、HLA-A*02:01 陽性 T2 細胞株、HLA-A*02:01 分子もしくは A*02:06 分子を遺伝子導入した K562/A*02:01 (K562/A2)、K562/A*02:06 細胞株、K562/A2 に NY-ESO-1 を遺伝子導入した K562/A2/NY-ESO-1 細胞株、骨髓腫細胞株を用いた。親和性と交差反応性は、NY-ESO-1₁₅₇₋₁₆₅ ペプチドとその誘導体を合成して検討した。CAR/BiTE で活性化された T 細胞の標的細胞に対する反応性は、細胞内サイトカイン染色、⁵²Cr 放出試験で評価した。*In vivo* 抗腫瘍効果は、HLA-A2 陽性 NY-ESO-1 陽性骨髓腫細胞株 U266 に ルシフェラーゼ遺伝子を導入した U266/SLR 細胞株を NOG マウスに移植し、蛍光イメージング法で評価した。

【結果】

A2/NY-ESO-1₁₅₇ 特異的な CAR-T または同抗原に特異的な BiTE によって活性化された末梢血 T 細胞は、いずれも抗原特異性を示し、A2/NY-ESO-1₁₅₇ を内在性に発現する細胞株を認識し傷害した。活性化 T 細胞を用いた検討において、CAR-T 細胞と BiTE 刺激 T 細胞は、標的細胞に対して同等の親和性を持つだけでなく、*in vivo* においても同等の抗腫瘍活性を示した。また、CAR-T 細胞と BiTE 活性化末梢血 T 細胞は、HLA-A*02:01 に提示された類似ペプチドや HLA-A*02:01 で提示された NY-ESO-1₁₅₇ ペプチドに対して、それぞれ異なる強度で交差反応性を示した。

【結論】

T 細胞が活性化された条件では、骨髓腫に対して CAR/BiTE ともに同等の治療効果が期待できると考えられた。また、同じ scFv を応用した CAR/BiTE であっても、T 細胞抗原受容体と同様に潜在的交差性を保持しうるが、その反応性は改変抗体の立体構造に影響される可能性が示された。

本論文の公開審査会は、平成 31 年 1 月 24 日に開催され、申請者は、研究内容を英語で明確に発表した。その後、審査員から本研究に関して以下の質問とそれに対する議論が行われた。

- 1) HLA 拘束性の抗原を選択した理由について
 - 2) 精巢特異的タンパク質である NY-ESO-1 を抗原として使用する場合の副作用について
 - 3) BiTE の *in vivo* 使用における投与量、投与頻度の決定方法について
 - 4) BiTE タンパク質の修飾による安定性の向上の可能性について
 - 5) BiTE の有効的な投与方法と局所投与による固形腫瘍への応用の可能性について
 - 6) CAR と BiTE の機能比較方法の妥当性について
 - 7) CAR と BiTE の交差反応性の違いの原因について
 - 8) CAR と BiTE の T 細胞免疫記憶形成能について
 - 9) CAR と BiTE の作用の違いと今回の結果に基づく使い分けの可能性について
- 申請者はこれらの質問に対して日本語で的確に応答した。

審査員は、申請者が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を有することを全員一致で確認し、本論文が学位授与に値すると判断した。