

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07216

研究課題名(和文)メモリー指向性TCRを基盤とした新規がん免疫療法の開発

研究課題名(英文)Development of novel cancer immunotherapy based on memory-oriented TCR

研究代表者

森本 創世子 (Morimoto, Soyoko)

大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号：10649023

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：我々はいくつかの研究より、がん免疫療法を成功に導くには、癌抗原特異的メモリーT細胞の誘導、維持が重要であること、また、T細胞の分化決定因子としてTCR avidityが重要であることを示してきた。しかしながら、TCR avidityを正確に評価できる実験系が無かったため、本研究では、TCR avidityを正確に評価できるplatform細胞の作製を試みた。作製したplatform細胞で評価したTCR avidityと、TCR導入T細胞の機能が一致するという結果を得た。これは、TCR発現細胞の機能を反映するTCR avidityを正確に評価できるplatform細胞を作製できたことを示す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年の技術的発展に伴い、TCR遺伝子治療に用いるTCRの選択肢が大幅に広がった。しかしながら、治療に最良のTCRを選択する方法が無かった。本研究で作製したplatform細胞を用いることで、簡便かつ正確にTCR導入T細胞の機能を反映したTCR avidityを評価でき、最良のTCR選択が可能となる。さらに、platform細胞作製に用いた実験系を応用することで、TCR分化決定因子としてのTCR signalやそれに伴う遺伝子発現の差を評価することも可能となる。これは、TCR遺伝子治療のみならずがん免疫療法全般に対して治療効果改善の一端を担う可能性を大いに示唆する。

研究成果の概要(英文)：In our previous reports, we demonstrated that induction and maintain of tumor-antigen specific-memory T cells in vivo needed to successful treatment of cancer immunotherapy and that TCR avidity have played an essential role in differentiation of naive T cells to memory T cells. To evaluate accurately of TCR avidity, we tried to establish the platform cell that could reflect the function of TCR-transduced T cells. TCR avidity evaluated by TCR-transduced platform cells correlated with cytokine production, cell proliferation, and cytotoxic activity of TCR-transduced T cells. These results showed that the platform cell was a novel and stable tool for the efficient and precise evaluation of the functional avidity of isolated and transduced TCRs in developing TCR-base immunotherapy.

研究分野：癌免疫学

キーワード：メモリー TCR functional avidity WT1

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

がん免疫療法は、CAR-T細胞療法を初めとするT細胞輸注療法や抗PD-1抗体療法に代表される免疫チェックポイント抗体療法の成功によって、癌の一般的な治療法へと位置付けられるようになった。しかしながら、未だその効果は十分ではなく、必ずしも全ての癌患者で良好な治療効果が認められるわけではない。その理由として、細胞傷害性T細胞(以下、CTL)が生体内で長期間にわたって細胞傷害活性を發揮できないことが挙げられる。つまり、がん免疫療法の治療効果は、生体内でいかにCTLを維持できるかにかかっている。

生体内でCTLを維持するためには、高い増殖能を有するメモリーCTLの誘導が重要である。我々はこれまでの研究より、WT1ペプチドワクチン療法を受けた癌患者の中で良好な臨床効果を示した癌患者生体内において、WT1特異的メモリーCTLが誘導されていること、また、T細胞受容体(以下、TCR)がT細胞分化の運命決定に関与する知見を得た。そこで、生体内でメモリーT細胞として長期間維持できるT細胞に向かわせる「メモリー指向性TCR」が存在すると仮定し、どのようなメカニズムでTCRがT細胞の分化の方向性を決定しているかを明らかにすることで、長期間生体内で細胞傷害活性を有するCTLを維持できる方法が見つかるかと考えた。

2. 研究の目的

メモリー指向性TCRによっておこるsignalingやそれに続く遺伝子発現を明確にし、TCRのT細胞分化運命決定因子としての役割を分子学的に証明することを目的とする。

3. 研究の方法

ナイーブT細胞のエフェクターもしくはメモリーへの分化決定因子として、抗原ペプチド-MHC分子複合体とTCRの総合的な結合力の強さ(TCR avidity)が重要であるという知見に基づき、正確にTCR avidityを評価できるplatform細胞の作製に重点をおいて実験を進める。「正確にTCR avidityを評価できているか」は、作製したplatform細胞を用いて評価したTCR avidityとTCR導入T細胞の機能が一致するかに基づいて判断する。

4. 研究成果

内因性TCRを欠損したJurkat76細胞株にヒトCD8α鎖とβ鎖を遺伝子導入し、Jurkat76.7細胞株を作製した。さらに、Jurkat76.7細胞株にNFAT-GFPレポーター遺伝子を導入した2D3細胞を作製した。NFAT-GFPレポーター遺伝子を導入することで、TCRからのsignalが入ったことを蛍光タンパクGFPの発現を指標として検出することが可能となった(図1)。

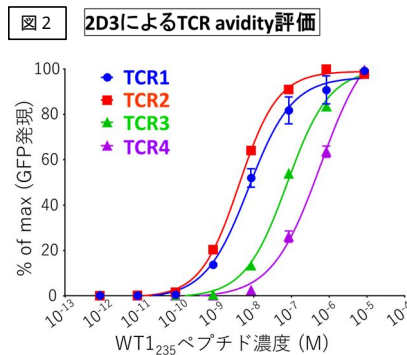
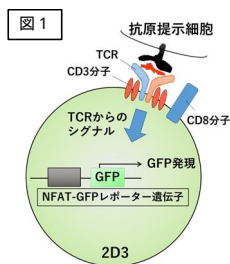


図2: TCR発現2D3細胞をWT1₂₃₅ペプチドで6時間刺激後のGFP陽性細胞の割合を評価した。

次に、2D3細胞に4種類の異なるHLA-A*24:02拘束性WT1₂₃₅特異的TCRを発現させ、WT1₂₃₅ペプチドで刺激したところ、GFP発現に応じた4種類の異なる濃度依存曲線が得られた(図2)。2D3細胞を用いて明らかになった4種類のTCRのTCR avidityの違いがTCR発現T細胞の機能と一致するかを調べるために、4種類のTCRをそれぞれ発現させたCD8⁺T細胞のWT1₂₃₅ペプチドに対する反応性を、サイトカイン産生能、増殖能、細胞傷害活性に焦点を当てて評価した。その結果、2D3細胞を用いて明らかになった4種類のTCRのTCR avidityの違いは、TCR発現CD8⁺T細胞の機能と一致することが明らかになった。

図3: TCR導入T細胞の機能評価

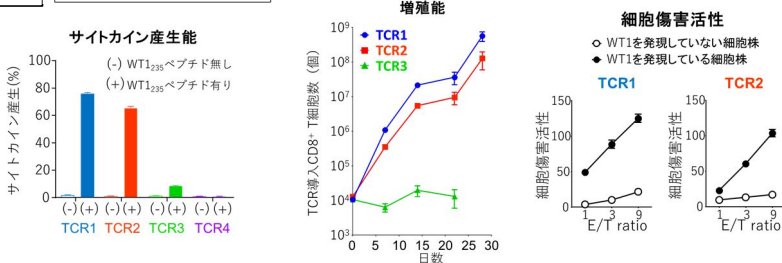


図3: (左) TCR発現ヒトCD8⁺T細胞をWT1₂₃₅ペプチドで5時間刺激後のIFN-γおよびTNF-α産生を評価した。中央) TCR発現ヒトCD8⁺T細胞を7日毎にWT1₂₃₅ペプチドで刺激し、細胞数を評価した。右) TCR発現ヒトCD8⁺T細胞とWT1を発現している細胞または発現していない細胞を4時間共培養後の培養液中に放出された⁵¹Cr量を評価した。

また、HLA class I だけでなく HLA class II 拘束性ペプチドに対する TCR avidity も同様に評価可能かを調べるために、2D3 細胞にヒト CD4 分子を発現させた CD4-2D3 細胞を作製した。同じ epitope を認識する複数の TCR を準備するために、我々がこれまでに樹立した WT1₃₃₂ 特異的 TCR のペプチド結合部位である CDR3 に、アラニン置換によって変異を入れ、mutation1 ~ mutation9 TCR を作製し、それぞれを CD4-2D3 細胞に発現させ、WT1₃₃₂ ペプチドに対する TCR の TCR avidity の評価を行った。また、それら TCR 発現 CD4⁺ T 細胞のサイトカイン産生能を評価し、TCR avidity との相関を評価した。その結果、CD4-2D3 を用いて明らかになった TCR avidity の違いが、TCR 発現 CD4⁺ T 細胞の機能と一致することが明らかになった（データ未掲載）。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 5件）

1. 著者名 Soyoko Morimoto, Fumihiro Fujiki, Kenta Kondo, Hiroko Nakajima, Yoshiki Kobayashi, Miki Inatome, Nao Aoyama, Yuya Nishida, Akihiro Tsuboi, Yoshihiro Oka, Sumiyuki Nishida, Jun Nakata, Naoki Hosen, Yusuke Oji, and Haruo Sugiyama	4. 巻 25
2. 論文標題 Establishment of a novel platform cell line for efficient and precise evaluation of T cell receptor functional avidity	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 34132, 34141
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.26139	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Maarten Versteven, Johan M.J. Van den Bergh, Katrijn Broos, Fumihiro Fujiki, Diana Campillo-Davo, Hans De Reu, Soyoko Morimoto, Quentin Lecocq, Marleen Keyaerts, Zwi Berneman, Haruo Sugiyama, Viggo F.I. Van Tendeloo, Karine Breckpot, and Eva Lion	4. 巻 9
2. 論文標題 A versatile T cell-based assay to assess therapeutic antigen-specific PD-1-targeted approaches	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Oncotarget	6. 最初と最後の頁 27797, 27808
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.18632/oncotarget.25591	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nishida Sumiyuki, Ishikawa Takeshi, Egawa Shinichi, Koido Shigeo, Yanagimoto Hiroaki, Ishii Jun, Kanno Yoshihide, Kokura Satoshi, Yasuda Hiroaki, Oba Mari Saito, Sato Maho, Morimoto Soyoko et al	4. 巻 6
2. 論文標題 Combination Gemcitabine and WT1 Peptide Vaccination Improves Progression-Free Survival in Advanced Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Phase II Randomized Study	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Immunology Research	6. 最初と最後の頁 320 - 331
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/2326-6066.CIR-17-0386	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Oji Yusuke, Inoue Masayoshi, Takeda Yoshito, Hosen Naoki, Shintani Yasushi, Kawakami Manabu, Harada Takuya, Murakami Yui, Iwai Miki, Fukuda Mari, Nishida Sumiyuki, Nakata Jun, Nakae Yoshiki, Takashima Satoshi, Shirakata Toshiaki, Nakajima Hiroko, Hasegawa Kana, Kida Hiroshi, Kijima Takashi, Morimoto Soyoko et al	4. 巻 142
2. 論文標題 WT1 peptide-based immunotherapy for advanced thymic epithelial malignancies	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 2375 ~ 2382
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.31253	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nakata Jun, Nakae Yoshiki, Kawakami Manabu, Morimoto Soyoko, Motooka Daisuke, Hosen Naoki, Fujiki Fumihiro, Nakajima Hiroko, Hasegawa Kana, Nishida Sumiyuki, Tsuboi Akihiro, Oji Yusuke, Oka Yoshihiro, Kumanogoh Atsushi, Sugiyama Haruo	4. 巻 -
2. 論文標題 Wilms tumour 1 peptide vaccine as a cure-oriented post-chemotherapy strategy for patients with acute myeloid leukaemia at high risk of relapse	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 British Journal of Haematology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/bjh.14768	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 森本創世子
2. 発表標題 癌抗原特異的T細胞受容体のfunctional avidityを効率よく正確に評価できるplatform細胞の作製
3. 学会等名 第22回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本創世子
2. 発表標題 癌抗原特異的T細胞受容体のfunctional avidityを効率よく正確に評価できるplatform細胞の作製
3. 学会等名 第46回日本臨床免疫学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Soyoko Morimoto
2. 発表標題 Establishment of a novel platform cell line for efficient and precise evaluation of T cell receptor functional avidity
3. 学会等名 The 9th International Conference on WT1 in Human Neoplasia (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本創世子
2. 発表標題 切除不能進行膵癌に対するゲムシタピン併用HLA拘束性WT1ペプチドワクチン療法で誘導されたWT1特異的CTLの免疫学的機能解析
3. 学会等名 第21回日本がん免疫学会総会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----