

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：32612

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K15290

研究課題名(和文)代謝リプログラミングによるステムセルメモリーT細胞の誘導とがん免疫療法への応用

研究課題名(英文)Metabolic Reprogramming Requires Stem Cell Memory T Cell phenotypes for Cancer Immunotherapy

研究代表者

近藤 泰介 (KONDO, TAISUKE)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・助教

研究者番号：60803765

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：免疫記憶を担うメモリーT細胞の中で、最も未分化な細胞集団としてステムセルメモリーT(TSCM)細胞が知られている。我々は以前試験管内でTSCM様細胞を誘導する方法を確立した。本研究費助成事業で我々はがん治療法であるキメラ型抗原受容体発現T(CAR-T)細胞療法の技術を用いて、従来治療で使用されるCAR-T細胞をTSCM様の細胞へ変化させることに成功した。このTSCM様のCAR-T細胞は白血病モデルにおいて強い抗腫瘍効果を示した。この強い抗腫瘍効果はミトコンドリア機能の亢進に依ることも明らかになった。これらの研究結果は2020年に米国癌学会誌Cancer Researchに発表された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

キメラ型抗原受容体発現T(CAR-T)細胞移入療法はチェックポイント阻害剤と並ぶ、新たながん免疫療法である。米国ではすでに製剤として認可されており、小児および若年白血病患者に対して、高い治療成績を示している。しかしながら、長期間の寛解維持が困難であり、その原因の一つとして移入する細胞の品質が問題となっていた。本研究は従来のCAR-T細胞をより長期間体内で維持される様に改善する方法であり、新しいがん治療法として期待される。

研究成果の概要(英文)：Stem cell memory T (TSCM) cells are well-known as one of less differentiated-memory T cell population. We previously established a method for the induction of TSCM-like cells in vitro. With the support of the grant, we applied the established method for chimeric antigen receptor engineered-T (CAR-T) cell therapy and succeeded to convert normal CAR-T cells into TSCM-like CAR-T cells. The TSCM-like CAR-T cells showed potent anti-tumor activity in humanized leukemia model. We also found that the enhanced anti-tumor activity was dependent on mitochondrial biogenesis. The study has already been published on Cancer Research journal on 2020.

研究分野：がん免疫学

キーワード：がん免疫 代謝 免疫記憶 ミトコンドリア CAR-T療法

## 1. 研究開始当初の背景

免疫記憶は獲得免疫機構の根幹をなす機能である。免疫記憶の中心的役割を担うメモリーT細胞にはエフェクターメモリーT細胞(TEM)、セントラルメモリーT細胞(TCM)などの亜集団が存在することが知られている。近年マウス、ヒトおよび霊長類において、新規メモリーT細胞集団であるステムセルメモリーT細胞(TSCM)が発見された(Gattinoni et al. Nat Med. 2009)。TSCMはナイーブT細胞マーカーを有するメモリーT細胞集団で、自己複製能や長期生存能を有し、抗原刺激によってTEMやTCMに分化する。よってTSCMは免疫記憶の根幹を担う重要なメモリーT細胞集団であると考えられている。一方で、TSCMをがんのT細胞移入療法に応用する試みがなされている。T細胞移入療法はきわめて有用ながん治療法であるが、T細胞は持続的な刺激を受けることで免疫チェックポイント分子であるPD-1やCTLA-4を発現して疲弊することが知られている(Jiang et al. Cell Death Dis. 2015; Rosenberg et al. Science 2015)。TSCMは疲弊しにくく、かつ増幅してTCMやTEMを産み出すために、細胞移入療法においてより強力な治療効果が期待出来ると考えられている。申請者はTSCMを細胞移入療法に応用することを目的とし、マウスおよびヒトT細胞を用いて、in vitroで一旦活性化したT細胞からTSCM様細胞を誘導する方法を確立した(Kondo et al. Nat Comm. 2017)。抗原刺激により活性化したT細胞を、Notchリガンドを発現するフィーダー細胞と共培養を行った。共培養の結果、活性化T細胞はステムセルメモリー細胞様の細胞へと分化し、疲弊状態を示す免疫チェックポイント分子の発現が低下していた。この細胞をiTSCMと名づけ、機能解析を行ったところiTSCMは抗原刺激により迅速に大量のエフェクター細胞を生み出すことができ、また生体内において長期生存能や自己複製能を示した。またiTSCMを担癌マウスに移入したところ、他のT細胞サブセットに比べて有意に腫瘍の増大を抑制した

## 2. 研究の目的

本研究では1. iTSCMの誘導メカニズムの解明とヒト化マウスを用いた2. ヒトiTSCMの抗腫瘍効果の検討および細胞移入療法への応用を目的とする。

ヒトiTSCMの網羅的遺伝子発現解析を行った結果、iTSCMではミトコンドリアの酸化リン酸化や代謝に関連するシグナル経路が亢進しているという知見を得た。また、その下流に存在するマスターレギュレータの候補転写因子を既に数個にまで絞っている。さらにヒトB細胞腫担癌モデルマウスを用いた実験結果よりヒトiTSCMが他のT細胞サブセットよりも有意にがんの増大を抑制するという実験結果を得ている。本研究では、メタボローム解析やミトコンドリア機能解析によりiTSCM誘導過程における代謝の変化を解明し、T細胞を疲弊状態から回復させるマスターレギュレータの同定を行う。さらになんがん患者検体を用いることで、クリニカルグレードのiTSCMの作製プロトコルの樹立し、臨床応用を目指す。細胞移入療法によるがん治療では、移入する細胞の疲弊化と機能不全が問題となっていた。今回申請者の研究によって、がん患者から分離した疲弊したT細胞をiTSCM細胞化することで、非常に高い治療効果を示す新たなT細胞移入療法の開発につながると期待できる。また申請者が発見したTSCMの誘導メカニズムを詳細に解明することで、未だ解明されていない生体内におけるTSCMの分化メカニズムを明らかにできると期待される。さらに、生体内での効率的にTSCMを誘導する方法が明らかになれば、より優れたワクチンの開発につながると考えられ、がん治療のみならず感染症の予防や治療にも広く応用できると予測される。

### 3. 研究の方法

本研究では、我々が以前確立した TSCM 誘導方法を用いて、キメラ型抗原受容体発現 T(CAR-T)細胞を TSCM 様細胞(CAR-iTSCM)化することを目的とする。またなぜ iTSCM 様の細胞ができるのか、代謝学的側面に着目して解析を行う。具体的にはメタボローム解析やミトコンドリア 機能を評価できるフラックスアナライザーを使用することで、多角的に iTSCM 細胞の代謝機能を解析する。また遺伝子発現プロファイルから iTSCM 誘導に関わるマスターレギュレータを特定し、以前発表した方法の改良を目指す。

### 4. 研究成果

本年度において iTSCM の代謝学的特徴の解析およびキメラ型抗原受容体(CAR)を発現する iTSCM(CAR-iTSCM)の作製を行なった結果、ヒト iTSCM ではミトコンドリア量やミトコンドリアの酸化的リン酸化の亢進が見られた。ヒト白血病モデルにおいて、CAR-iTSCM は通常の CAR-T 細胞に比べて、強い抗腫瘍効果を示した。そこで CAR-iTSCM の優れた代謝メカニズムを誘導する責任遺伝子の探索を行った。CAR-iTSCM では転写因子である FOXM1 の有意な発現上昇が見られ、この FOXM1 が CAR-iTSCM のミトコンドリア新生および酸化的リン酸化の亢進を誘導することが明らかになった。さらに FOXM1 を強制発現することで、フィーダー細胞フリーで CAR-iTSCM を誘導する実験系を確立し、この方法で誘導された CAR-iTSCM はフィーダー細胞により誘導された CAR-iTSCM と同様優れた抗腫瘍効果を示した。これらの結果は Cancer Research に発表された。また CAR-iTSCM の誘導方法は製薬企業との共同で特許出願された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kondo Taisuke, Ando Makoto, Nagai Nao, Tomisato Wataru, Srirat Tanakorn, Liu Binbin, Mise-Omata Setsuko, Ikeda Mari, Chikuma Shunsuke, Nishimasu Hiroshi, Nureki Osamu, Ohmura Mitsuyo, Hayakawa Noriyo, Hishiki Takako, Uchibori Ryosuke, Ozawa Keiya, Yoshimura Akihiko	4. 巻 80
2. 論文標題 The NOTCH-FOXM1 Axis Plays a Key Role in Mitochondrial Biogenesis in the Induction of Human Stem Cell Memory-like CAR-T Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 471 ~ 483
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-19-1196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Taisuke Kondo Yuki Imura Shunsuke Chikuma Sana Hibino Setsuko Omata Mise Makoto Ando Takashi Akanuma Mana Iizuka Ryota Sakai Rimpei Morita Akihiko Yoshimura	4. 巻 109
2. 論文標題 Generation and application of human induced-stem cell memory T cells for adoptive immunotherapy.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2130-2140
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.13648	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2件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 近藤泰介
2. 発表標題 Metabolic Reprogramming requires Stem Cell Memory T Cells phenotypes for Adoptive Immunotherapy
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤泰介
2. 発表標題 ミトコンドリア制御によるステムセルメモリーT細胞の誘導と細胞移入療法への応用
3. 学会等名 日本がん免疫学会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----