

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：83901

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03005

研究課題名（和文）標的抗原欠損バリエーションを含む腫瘍に対する効果的な新規細胞輸注療法の開発

研究課題名（英文）Development of Novel Adoptive Cell Therapy for Tumors Containing antigen loss variants cells

研究代表者

村岡 大輔（Muraoka, Daisuke）

愛知県がんセンター（研究所）・腫瘍免疫制御TR分野・ユニット長

研究者番号：20608955

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：遺伝子改変技術を用いた細胞輸注療法は、輸注細胞が腫瘍の発現する抗原を認識して癌細胞を殺傷し治療効果が発揮される。しかし、ヒト腫瘍では、全ての癌細胞が標的抗原を発現しているわけではなく、一部の抗原を欠損した腫瘍が当治療に対し抵抗性となり、治療効果を減弱させる。我々は、このような抗原欠損バリエーションを含む腫瘍に対する有効な治療法の開発・検討を進めた。その結果、細胞輸注療法とワクチンを併用することで、標的抗原欠損バリエーションにも高い治療効果が導けること、そして当機構が、TNF- $\alpha$ を介して導かれることを見出した。本知見を基盤として、標的抗原欠損バリエーションに対する効果的な治療法の創製が期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

遺伝子改変技術を用いた細胞輸注療法が注目を集めている。しかし、当治療は標的抗原を発現しない腫瘍では著しく治療効果が落ちることが問題になっている。我々は、このような腫瘍に対する治療法の開発検討を行い、細胞輸注療法とワクチンを併用することで、標的抗原欠損バリエーションにも高い治療効果が導けること、そして当機構が、TNF- $\alpha$ を介して導かれることを見出した。本知見を基盤として、標的抗原欠損バリエーションに対する効果的な治療法の創製が期待できる。

研究成果の概要（英文）：In adoptive cell therapy using gene-modification technology, the transfused cells recognize cancer cells via antigens and kill these cells, thereby exerting a therapeutic effect. However, not all cancer cells in human tumors express the target antigens. The absence of antigen expression in some cancer cells makes the tumor resistant to the therapy and reduces its therapeutic effect.

We have developed and investigated effective therapies for tumors containing such antigen-deficient variants. We found that the combination of adoptive cell therapy and vaccines can induce high therapeutic efficacy against target antigen-deficient variants, and that this mechanism is mediated by TNF- $\alpha$ . Based on our findings, we expect to create an effective therapy for target antigen-deficient variants.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：養子免疫療法 抗原欠損バリエーション

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近年、遺伝子改変技術を用いた細胞輸注療法が、国内外で承認され注目を集めている。これらの治療では、遺伝子改変輸注細胞が腫瘍の発現する特異抗原を認識して癌細胞を殺傷することが期待される。しかし、ヒト腫瘍では、全ての癌細胞が標的抗原を発現しているわけではなく、一部の抗原を欠損したバリエーション腫瘍が当治療に対し抵抗性となり、治療効果を著しく減弱させることが問題となっている。

### 2. 研究の目的

我々は、このような抗原欠損バリエーションを含むヘテロ性腫瘍に対する有効な治療法を開発する為、新規マウス腫瘍モデルを構築し検討を進めた。その中で、興味深いことに「腫瘍が標的抗原を発現しなくとも、T細胞により殺傷される」機構が存在する事を発見した。本研究では、このT細胞による抗原発現に依存しない腫瘍殺傷機構 (= 抗原非依存的腫瘍殺傷機構) を明らかにすると共に、当知見を基盤とした抗原欠損バリエーションを含む腫瘍に対する効果的な細胞輸注療法の開発を目指す。

### 3. 研究の方法

#### ・マウス腫瘍モデル

繊維肉腫細胞株 CMS5a および抗原欠損 CMS5a (CMS5a/wt9m) を混合し皮下移植した。

#### ・細胞輸注療法

CMS5a の発現する新生抗原 9m に対する TCR を発現する DUC18 TCR 遺伝子操作 (Tg) マウスより CD8 陽性 T 細胞を精製し、尾静脈投与を行った。

#### ・免疫モニタリング

腫瘍及びリンパ節よりリンパ球を回収し抗原ペプチドで刺激後、サイトカイン産生を評価した。

### 4. 研究成果

我々は、細胞輸注療法とワクチンそしてアジュバントの併用が標的抗原欠損バリエーション腫瘍に対しても有効であることを見出している。そこで、当治療法におけるアジュバントの重要性の確認を行った。CMS5a 単独 (標的抗原発現腫瘍モデル) もしくは CMS5a と CMS5a/9m (標的抗原欠損バリエーション腫瘍含有モデル) を混合し皮下移植後、抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の輸注およびワクチンとアジュバントを投与した。細胞輸注療法とワクチンの 2 つのみでは、標的抗原発現腫瘍モデルでは腫瘍退縮が導かれるのに対し (図 1A 左)、標的抗原欠損バリエーション腫瘍含有モデルでは、そのような治療効果は観察されなかった (図 1A 右)。次にアジュバントの輸注細胞に対する作用について検討する為、腫瘍およびリンパ節における輸注細胞の機能評価を行った。その結果、アジュバントを投与することで、腫瘍への輸注細胞の浸潤が促進されると共に、エフェクター機能が增强することが明らかになった (図 1B)。

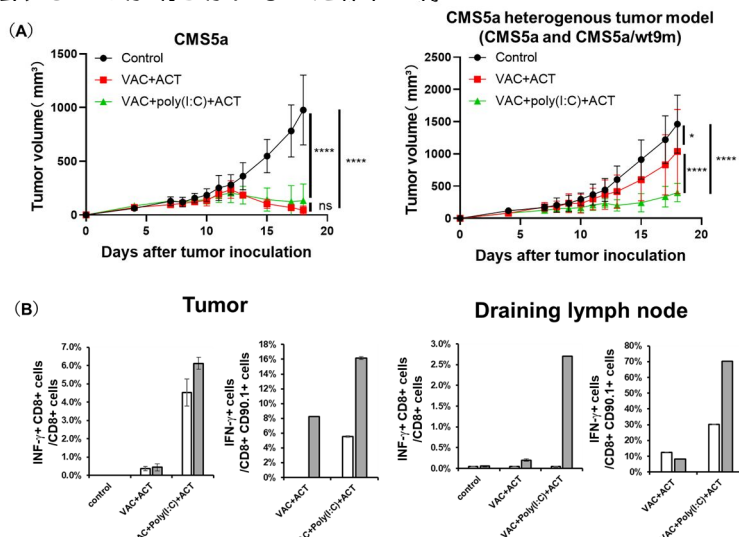


図 1. 細胞輸注療法とワクチンにアジュバント併用することで治療効果が得ら

次に、抗原非依存的腫瘍殺傷におけるエフェクター分子の同定を試みた。培養刺激した DCU18 由来 CD8 陽性 T 細胞と CMS5a/wt9m を共培養し、細胞傷害性活性を評価した。その結果、ノーマルウェルで観察される細胞傷害性活性が、トランスウェルを使用した際でも同様に観察されることが分かった。そこで、我々は細胞分泌因子に注目し、抗 TNF- $\alpha$  抗体を用いて当分子の抗原非依存的腫瘍殺傷への関与について検討した。T 細胞と腫瘍細胞の接触がある場合、抗 TNF- $\alpha$  抗体の投与は細胞傷害性活性に影響はないものの（図 2 左）、トランスウェルでは、抗 TNF- $\alpha$  抗体により抗原非依存的腫瘍殺傷が優位に阻害された（図 2 右）。

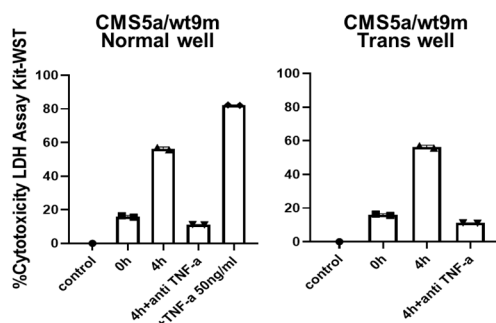


図 2. 抗原非依存的腫瘍殺傷は TNF- $\alpha$  を介す

次に、*In vivo* における TNF- $\alpha$  の作用を、抗原欠損バリエーション含有腫瘍モデルを用いて検証した。標的抗原欠損バリエーション含有腫瘍モデルに、DUC18 由来 CD8 陽性 T 細胞の輸注およびワクチンとアジュバントの投与を施す際に、抗 TNF- $\alpha$  抗体を投与し、治療効果を評価した。その結果、抗 TNF- $\alpha$  抗体の投与により、当抗原非依存的腫瘍殺傷を介したヘテロ性腫瘍への治療効果が消失した。

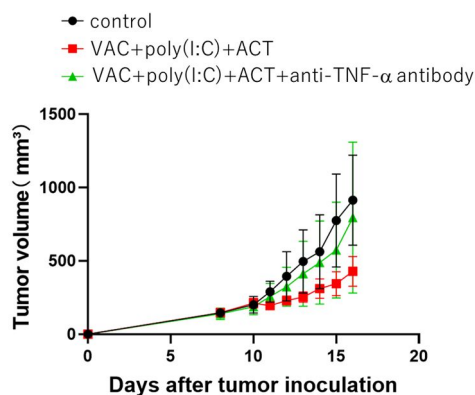


図 3. ヘテロ性腫瘍モデルは TNF- $\alpha$  を介して縮小する

本研究により、細胞輸注療法とワクチンの併用により TNF- $\alpha$  を介して抗原非依存的に腫瘍が殺傷されることが明らかになった。当殺傷に感受性の高い腫瘍は、例え標的抗原欠損バリエーションを含んでいたとしても、細胞輸注療法が高い有効性を示した。今後、腫瘍の当殺傷に対する感受性を高める方法を確立することで、標的抗原欠損バリエーションを含む腫瘍に対しても効果的な細胞輸注療法の創製が可能になると考える。

5. 主な発表論文等

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

1. 著者名 Muraoka Daisuke, Harada Naozumi, Shiku Hiroshi, Akiyoshi Kazunari	4. 巻 347
2. 論文標題 Self-assembled polysaccharide nanogel delivery system for overcoming tumor immune resistance	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Controlled Release	6. 最初と最後の頁 175 ~ 182
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jconrel.2022.05.004	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 -

〔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 中司交明、村岡大輔、安井潔、原田直純、澤田晋一、秋吉一成、永安武、池田裕明
2. 発表標題 Exploring the molecules involving in the drug delivery targeted to tumor-associated macrophages by CHP nanogels
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Situo Deng, Daisuke Muraoka, Hiroaki Ikeda
2. 発表標題 Development of novel adoptive cell therapy for the heterogeneous tumor via antigen-independent tumor-killing
3. 学会等名 第80回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021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
研究分担者	池田 裕明  (Ikeda Hiroaki)  (40374673)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授    (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究分担者	安井 潔  (Yasui Kiyoshi)  (50372777)	長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・助教    (17301)	
研究分担者	浅井 章良  (Asai Akira)  (60381737)	静岡県立大学・薬学研究院・教授    (23803)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関