

令和 5 年 6 月 20 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K16277

研究課題名(和文) T前駆細胞を利用するCAR-T細胞療法の基盤構築

研究課題名(英文) Establishment of CAR-T cell therapy utilizing precursor T cell

研究代表者

重廣 司 (Shigehiro, Tsukasa)

東京理科大学・研究推進機構生命医科学研究所・助教

研究者番号：30876058

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：がん特異的受容体遺伝子を導入したT細胞による免疫療法は優れたがん治療法である。一方、現状の患者の末梢血中のT細胞から作製される遺伝子改変T細胞は極度に疲弊化している。このため、造血幹前駆細胞から“若い”T細胞を作製する方法が提案されているが、十分量の遺伝子改変T細胞を作製することは困難である。本研究では、T前駆細胞の自己複製能に着目し、多量の遺伝子改変T細胞を作製することを目的とした。がん特異的受容体遺伝子を導入したT前駆細胞は生体外で顕著に増幅し、抗がん活性を有する遺伝子改変T細胞へと分化させることに成功した。したがって、T前駆細胞は遺伝子改変T細胞の供給源として有望であると結論づけられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、T前駆細胞の自己複製能を利用することによって、遺伝子改変T細胞を大量に作製する技術を開発することに成功した。これまで、造血幹前駆細胞から遺伝子改変T細胞を作製する方法が考案されているが、その増幅は難しく、得られる遺伝子改変細胞の数は大きく制限されていた。本研究で作製した遺伝子改変T前駆細胞は容易に増幅することができ、また、効率的に成熟T細胞へと分化させることが可能である。従って、安価に大量の遺伝子改変細胞を作製できることが期待されるため、がん免疫治療薬として社会に大きく還元できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Genetically engineered T cells using cancer-reactive receptor have made great strides in cancer therapy. However, the engineered T cells generated from T cells in peripheral blood are often exhausted. Although hematopoietic stem/progenitor cells (HSPCs) have been proposed to generate "young" engineered T cells, the number of the T cells from HSPCs are highly limited. In this study, progenitor T cells that have self-renewal capacity were applied to generate a large number of stem-derived engineered T cells. Cancer-reactive receptor engineered progenitor T cells were successfully established and greatly expanded ex vivo. The progenitor T cells were efficiently differentiated into CD8+ T cells that had antigen-specific anticancer activity. Therefore, progenitor T cells are a promising source of the engineered T cells for cancer immunotherapy.

研究分野：がん免疫学

キーワード：T細胞免疫療法 キメラ抗原受容体 T細胞受容体 T前駆細胞

### 1. 研究開始当初の背景

がん特異的なキメラ抗原受容体 (CAR) や T 細胞受容体 (TCR) を遺伝子導入した CAR-T 細胞および TCR-T 細胞を患者へ輸注する免疫細胞療法は新たながん治療法として有望である。例えば、CD19 特異的 CAR を用いた CAR-T 細胞療法は、B 細胞性白血病に優れた治療効果が報告されている (Maude et al., *Blood*, 2015)。しかし、従来の患者の末梢血由来の T 細胞から作製されるがん CAR-T 細胞や TCR-T 細胞の長期増殖にともなう老化・疲弊化による治療効果の低減が課題となっている。このために、HSPC から“若く”活発な CAR-T 細胞を作製する方法が考案されているが (Gschwend et al., *Immunol Rev*, 2014)、HSPC は患者から極微量しか得られず、その維持と増殖も困難である。一方、申請者の所属する研究室では、HSPC から成熟 T 細胞への分化途上である T 前駆細胞が、IL-7 刺激によって生体外で自己複製により増幅し、かつ、T 細胞分化条件下で速やかに成熟 T 細胞へ分化することを示した (Ikawa et al., *Science*, 2010)。すなわち、T 前駆細胞を利用することによって、HSPC 由来のがん免疫治療用 CAR-T 細胞や TCR-T 細胞を多量に製造できると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、T 前駆細胞を利用する新規 TCR-T 細胞および CAR-T 細胞療法を構築するため、がん特異的受容体遺伝子を導入した T 前駆細胞の作製、T 前駆細胞由来の TCR-T 細胞また CAR-T 細胞の生成、そして、それらの T 細胞の特性を明らかにすることを目的とした (図 1)。

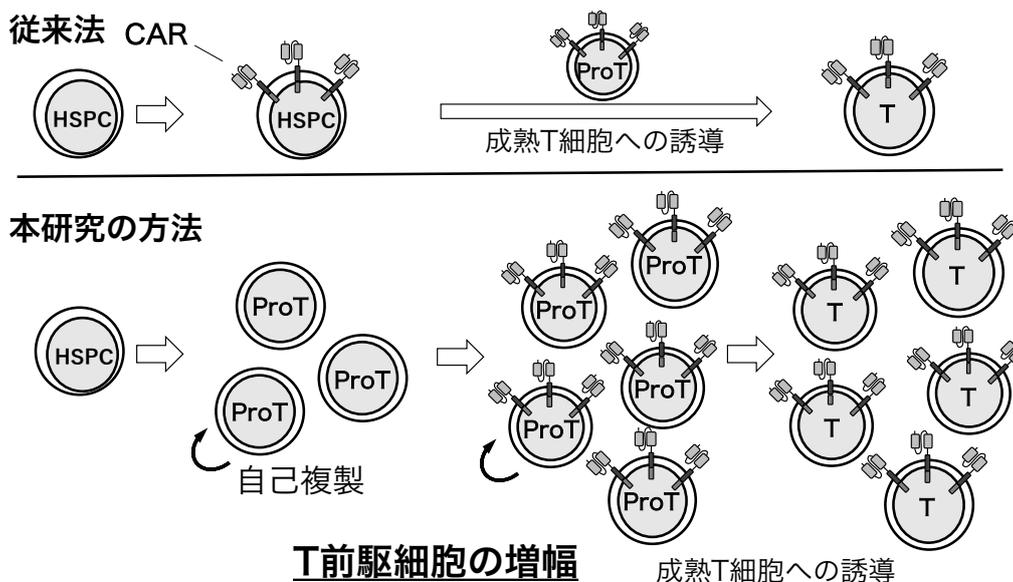


図 1. T 前駆細胞を利用するがん免疫治療用細胞の大量生産

### 3. 研究の方法

HSPC から誘導した T 前駆細胞に対してがん特異的な TCR および CAR を遺伝子導入しがん特異的受容体遺伝子改変 T 前駆細胞を作製した。TCR および CAR 遺伝子を導入した T 前駆細胞が、培養系において、自己複製しつつ増幅するかどうかを評価した。そして、この T 前駆細胞から成熟 T 細胞への誘導を行い、TCR-T 細胞および CAR-T 細胞の生成を試みた。生成した TCR-T 細胞および CAR-T 細胞のメモリーフェノタイプ、in vitro 抗がん活性、および in vivo 抗腫瘍活性を評価し、T 前駆細胞から作製する TCR-T 細胞および CAR-T 細胞の有用性を評価した。

### 4. 研究成果

まず、がん特異的受容体遺伝子改変 T 前駆細胞を作製するため、T 前駆細胞に対してがん特異的な TCR および CAR の遺伝子導入を試み、遺伝子導入が可能であることが明らかとなった。次に、培養系において、作製した遺伝子改変 T 前駆細胞が自己複製させながら増幅するかどうかを評価した。遺伝子改変 T 前駆細胞は TCR または CAR の発現を安定に維持しつつ、自己複製させながら多量の増幅が可能であることが明らかとなった。そして、これらの遺伝子改変 T 前駆細胞から CD8 陽性 T 細胞への分化誘導を試み、効率的に CD8 陽性 T 細胞を産生させることに成功した。

作製した T 前駆細胞由来の TCR-T 細胞や CAR-T 細胞ががん免疫治療用の細胞医薬として有用であるかどうかを評価した。まず、TCR-T 細胞および CAR-T 細胞の抗原特異的な抗がん活性を in vitro において評価した結果、標的がん細胞特異的に細胞傷害活性を示すことが明らかとなった。さらに、T 前駆細胞から作製した TCR-T 細胞は、従来の成熟 T 細胞から作製する TCR-T 細胞よりも、セントラルメモリー T 細胞が多く含まれる“若い” T 細胞であることが明らかとなった。そして、この TCR-T 細胞の抗腫瘍活性効果をメラノーマモデルマウスに対して評価した結果、T 前駆細胞由来の TCR-T 細胞は、従来の成熟 T 細胞由来の TCR-T 細胞よりも高い腫瘍増殖抑制を示し、マウスの生存日数を顕著に延長させた。これらのことから、T 前駆細胞を用いた TCR-T 細胞および CAR-T 細胞は新たな免疫治療用細胞の作製方法とした優れた方法であることが示唆された。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3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 1件）

1. 著者名 Shigehiro Tsukasa	4. 巻 34
2. 論文標題 FUT8-mediated Aberrant N-glycosylation of B7H3 Suppresses Antitumor Immunity in Triple-negative Breast Cancer	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology	6. 最初と最後の頁 E39 ~ E40
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4052/tigg.2202.6E	査読の有無 無
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 Shigehiro Tsukasa	4. 巻 35
2. 論文標題 Cancer-targeting Antibody-sialidase Conjugate Reverses Polarization of Tumor-associated Macrophage and Improves Immune Checkpoint Blockade Therapy	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Trends in Glycoscience and Glycotechnology	6. 最初と最後の頁 E28 ~ E28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4052/tigg.2302.6E	査読の有無 無
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 Shigehiro Tsukasa, Ueno Maho, Kijihira Mayumi, Takahashi Ryotaro, Umemura Chiho, Taha Eman A., Kurosaka Chisaki, Asayama Megumi, Murakami Hiroshi, Satoh Ayano, Nakamura Yoshimasa, Futami Junichiro, Masuda Junko	4. 巻 23
2. 論文標題 Immune State Conversion of the Mesenteric Lymph Node in a Mouse Breast Cancer Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 11035 ~ 11035
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms231911035	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 重廣司、鈴木藍彩、Gu Fangbing、平川真弓、高木正稔、犬飼岳史、伊川友活
2. 発表標題 人工白血球幹 (iLS) 細胞を用いたTCF3融合遺伝子陽性B-ALL発症モデルの確立
3. 学会等名 第83回日本血液学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木藍彩、重廣司、伊川友活
2. 発表標題 人工白血球幹 (iLS) 細胞を用いた、TCF3融合型B細胞性急性リンパ性白血病の発症機序の解明
3. 学会等名 Kyoto T Cell Conference 第30回学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 重廣 司、伊川 友活
2. 発表標題 人工白血球細胞から作製するがん免疫治療用TCR-T細胞
3. 学会等名 Kyoto T Cell Conference 第31回学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 重廣 司、伊川 友活
2. 発表標題 人工白血球幹細胞からTCR遺伝子改変T細胞の作製
3. 学会等名 第84回日本血液学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 重廣 司、伊川 友活
2. 発表標題 Generation of genetically engineered TCR-T cells from self-renewing multipotent progenitor cells
3. 学会等名 第51回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 キメラタンパク質、核酸、ベクター、T細胞又はNK細胞、医薬組成物、組み合わせ物、及び組み合わせ医薬	発明者 伊川友活、重廣司	権利者 大学法人 東京理科大学
産業財産権の種類、番号 特許、特願2023-62411	出願年 2023年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------