

令和元年6月6日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07176

研究課題名(和文) 免疫チェックポイント機構の制御能力を有する新規CAR-T細胞療法の開発

研究課題名(英文) Engineering CAR T cells for improved function against solid tumors

研究代表者

佐古田 幸美 (SAKODA, Yukimi)

山口大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：30629754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではキメラ抗原受容体を発現させた遺伝子改変T細胞を利用したCAR-T細胞療法の抗腫瘍効果の増強を目的とし、がん局所においてがんに対する免疫を抑制作用を有する免疫チェックポイント分子を阻害する「scFv産生CAR-T細胞」を作製した。がん抗原としてヒトCD20を標的とする「scFv産生CAR-T細胞」を作製したところ「通常のCAR-T細胞」と比較しin vitroにおいてがんに対する傷害活性を増強した。また、in vivoマウスモデルにおいても抗腫瘍効果の増強を誘導し、がん局所における免疫抑制の阻害を介してCAR-T細胞療法の抗腫瘍効果を増強することを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫チェックポイント阻害機能を有するCAR-T細胞を用いることで、固形がんにおけるCAR-T細胞療法の有効性を阻むがん局所の免疫抑制システムを打開しより効果的な抗腫瘍効果を誘導することができる。また、免疫チェックポイント阻害剤の全身投与が不要でがん局所においてのみ免疫チェックポイント阻害機能が発揮されることから副作用やコスト的にも有用である。

研究成果の概要(英文)：Chimeric antigen receptor regenerated T (CAR-T) cell therapy holds promise for the treatment of hematological malignancies; however, its clinical use against solid tumors has been limited by several problems, such as immune checkpoint molecules to benefit tumor growth. To overcome this problem, we developed novel CAR-T therapy, wherein the CAR T cells secrete the scFv to be able to block the immune checkpoint molecules. We demonstrated that this scFv-secreting CAR-T cells induced enhanced anti-tumor effect in vitro as well as in vivo.

研究分野：がん免疫

キーワード：キメラ抗原受容体

1. 研究開始当初の背景

がんに対する免疫療法は古くから実施されており、その一つに養子免疫療法がある。養子免疫療法とはがん患者から活性化 T 細胞を採取し、体外でさらに活性化・増殖させたのち患者へ移入するという治療法である。しかしながら、これまでの養子免疫療法では期待された程の治療効果は認められず、外科療法、化学療法、放射線療法といった三大療法に並ぶがんの標準治療として確立するには至らなかった。ところが近年の T 細胞活性化メカニズムの解明や遺伝子改変技術の進歩等により、養子免疫療法などの従来の免疫療法に比べ、極めて強力ながん傷害活性を誘導できるキメラ抗原受容体 (CAR: Chimeric Antigen Receptor) が開発された。

CAR とはがん細胞を認識する一本鎖抗体と T 細胞の活性化を誘導する細胞内シグナル伝達領域を融合させたキメラ蛋白である (図 1)。遺伝子改変技術を用いて患者の末梢血から採取した T 細胞に CAR を発現させた「CAR-T 細胞」は、通常の T 細胞と異なり一本鎖抗体によりがん細胞を特異的に認識し、一方で細胞内に有する活性化シグナルを介し、より強力な殺傷効果を発揮できる (図 2)。CAR-T 細胞をがん患者に投与する CAR-T 細胞療法は白血病やリンパ腫といった造血器悪性腫瘍には優れた治療効果を認め 2018 年に米国で承認されたが、固形がんに対してはまだその効果を十分に発揮できていない。

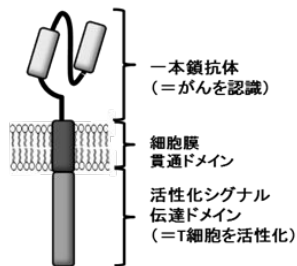


図1. CARの構造

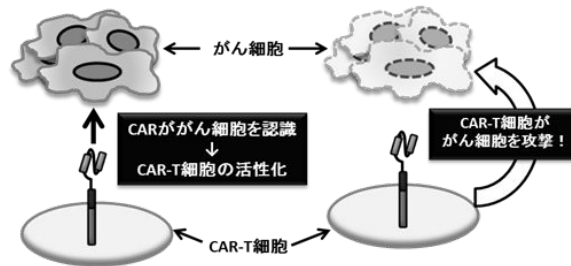


図2. CAR-T細胞による抗腫瘍効果

その要因の一つとして、固形がんにおいてはがん組織に免疫細胞を抑制する免疫抑制システムが存在することが挙げられる。がんの免疫抑制システムを構成する代表的なものが免疫チェックポイント分子であり、本来は自己に対する過剰な免疫反応を制御する働きを担っているが、一方でがんに対する免疫応答も抑制していることが近年明らかとなってきた。このように免疫チェックポイント分子はCAR-T細胞療法においても投与したCAR-T細胞の抗腫瘍反応にブレーキをかける役割を担っていることが強く示唆される。

そこで本研究計画では免疫チェックポイント分子を阻害する一本鎖抗体を産生する CAR-T 細胞を作製し、これを投与することによりがん局所における免疫チェックポイント機構を阻害し、より強力な抗腫瘍効果を誘導することを目標とする。

2. 研究の目的

本研究課題では固形がんに対する CAR-T 細胞療法の効果を増強することを目的とし、がんに対する免疫応答を抑制する免疫チェックポイント機構に着目し、がん局所において免疫チェックポイント分子を制御することで免疫応答を増強させる能力を有する CAR-T 細胞の技術開発をおこなう。

3. 研究の方法

(1) 免疫チェックポイント分子阻害 CAR-T 細胞の in vitro における機能解析

遺伝子改変により免疫チェックポイント分子を阻害する一本鎖抗体を産生する CAR-T 細胞を作製し、がんに対する傷害活性が増強することを in vitro での機能アッセイにて証明する。具体的には、ヒト CD20 を標的とした通常の CAR(=hCD20 CAR) を作製し、さらに遺伝子改変を加え免疫チェックポイント分子を阻害する一本鎖抗体(=scFv)を組み込んだ「scFv 産生 hCD20 CAR」を作製し、各 CAR-T 細胞を hCD20 を発現するがん細胞と共培養することでがん治療効果の増強を検討する。

(2) 免疫チェックポイント分子阻害 CAR-T 細胞の in vivo における抗腫瘍効果

がん細胞を接種したマウスに免疫チェックポイント分子を阻害する能力を有する CAR-T 細胞を投与し、がんに対する治療効果を in vivo にて実証する。具体的には、標的抗原である hCD20 を発現するがん細胞株をマウスに皮下接種したのち「hCD20 CAR-T 細胞」または「scFv 産生 hCD20 CAR 細胞」をそれぞれ担癌マウスに投与し「scFv 産生 hCD20 CAR 細胞」投与マウスでより優れたがん縮小効果を示すことを検証する。

4. 研究成果

(1) 免疫チェックポイント分子阻害 CAR-T 細胞の in vitro における機能解析

「hCD20CAR」および「scFv 産生 hCD20 CAR」をそれぞれマウス T 細胞に発現させ CAR-T 細胞を作製したところ、両者とも同程度の hCD20 認識 CAR を発現していた(図 3)。また CAR-T 細胞培養上清の ELISA にて、「scFv 産生 hCD20 CAR-T 細胞」のみ scFv を産生していることも確認できた(図 4)。

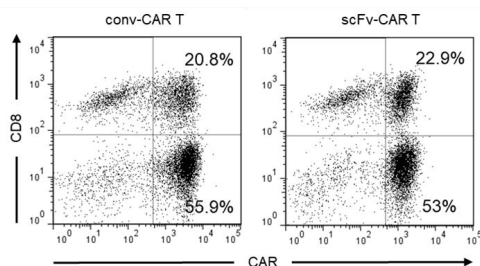


図3 hCD20認識CARの発現

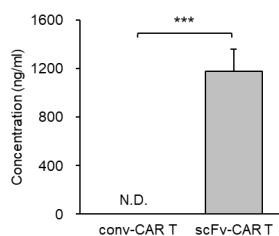


図4 培養上清中のscFvの産生

次に各 CAR-T 細胞を hCD20 を発現するがん細胞株と数日間共培養したところ、通常の「hCD20 CAR-T 細胞」に比べ「scFv 産生 hCD20 CAR-T 細胞」はがん細胞をより多く殺傷しており、培養上清中の IFN- γ サイトカインもより多く産生していた。これより「scFv 産生 hCD20 CAR-T 細胞」は in vitro において scFv による免疫抑制を解除する機能を介してがん殺傷効果を増強することが示された。

(2) 免疫チェックポイント分子阻害 CAR-T 細胞の in vivo における抗腫瘍効果

hCD20 を発現するがん細胞株を接種した担癌マウスに、「hCD20 CAR-T 細胞」または「scFv 産生 hCD20 CAR-T 細胞」をそれぞれ投与したところ、「hCD20 CAR-T 細胞」投与群と比べ「scFv 産生 hCD20 CAR-T 細胞」投与群において優位な生存期間の延長を認めた。また、がんを拒絶し長期生存した「scFv 産生 hCD20 CAR-T 細胞」投与マウスに同じがん細胞を接種したところ全てのマウスが腫瘍を拒絶したことから、「scFv 産生 CAR-T 細胞」は in vivo においてもがん縮小効果の増強を誘導するとともに再発を予防する長期のメモリー反応を有することが示された。

以上より、我々の開発した免疫チェックポイント分子阻害 CAR-T 細胞は通常の CAR-T 細胞よりも in vitro および in vivo の両方においてより強い抗腫瘍効果を誘導することが明らかとなった。また、in vivo において再発を予防する長期のメモリー反応を有することも示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計3件)

佐古田 幸美 他、医学書院、がん抗原の新しい概念、2017、94 (24-29)

佐古田 幸美 他、日本臨牀社、キメラ抗原受容体発現 T 細胞 (CAR-T) 療法、2017、350 (281-287)

佐古田 幸美 他、ライフメディコム、Adaptive immune resistance、2017、94 (83-83)

〔産業財産権〕

出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年:

国内外の別:

取得状況（計0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：玉田 耕治

ローマ字氏名： TAMADA, Koji

所属研究機関名：山口大学

部局名：大学院医学系研究科

職名：教授

研究者番号（8桁）：00615841

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。