

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K16460

研究課題名(和文) T細胞性腫瘍に対するキメラ抗原受容体T細胞療法の開発

研究課題名(英文) Chimeric antigen receptor T cell therapy for T cell malignancies

研究代表者

渡邊 慶介 (Watanabe, Keisuke)

国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・主任研究員

研究者番号：60847466

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：成人T細胞性白血病・リンパ腫(ATLL)や皮膚T細胞性リンパ腫(CTCL)等のT細胞性腫瘍は、従来の化学療法に耐性で予後不良である。我々はこれまでにT細胞性腫瘍に発現するCCR4を認識するCART細胞(CCR4CART細胞)を樹立した。本研究課題では、そのCART細胞の詳細評価を行い、ATLL細胞株ゼノグラフトモデルでの効果やモガムリズマブ療法耐性モデルでの高い効果を証明した。また、腫瘍細胞の混入する患者由来細胞を用いたCART細胞試験製造にも成功、かつ、製剤内腫瘍細胞の消失を確認し、本CART細胞製剤の臨床応用の可能性を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本邦は先進国で唯一のHTLV-1感染流行国で、ATLL等の関連疾患の研究や治療法開発にて世界をリードしてきた。成果としてモガムリズマブをはじめ多くの日本発の製剤が開発されたが、未だ治癒をもたらす治療法は確立していない。我々の開発したCART細胞は、従来法にない患者の治癒をもたらすもので、多くのATLL患者が恩恵を得られるとともに、本邦の国策ともいえるATLL研究に大きな影響を与えるものである。また、これまで、B細胞性血液腫瘍に対し効果が示されてきたCART細胞療法の対象を、T細胞性腫瘍に拡大するもので、免疫細胞療法開発の面でも意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：Adult T-cell leukemia/lymphoma (ATLL) is a highly resistant disease and cure is rarely achieved by standard chemotherapies. To achieve cure of ATLL by replacing allo-SCT, we developed CCR4-directed chimeric antigen receptor T cells (CART cells) by overcoming technical challenges including failure of CART cell expansion due to mutual killing of CART cells (fratricide) related with the shared antigen expression between normal T cells and tumor cells. The concept has been proven in preclinical models; CCR4CART cells were successfully established both from healthy donor and patient derived PBMCs, and administration of the CCR4CART cells induced 100% cure of xenograft mice including a mogamulizumab resistant model. These data suggested its feasibility of our CCR4CART cells to clinic.

研究分野：免疫療法

キーワード：ATLL CTCL PTCL CCR4 CART細胞療法 モガムリズマブ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

成人 T 細胞性白血病・リンパ腫 (ATLL) や皮膚 T 細胞性リンパ腫 (CTCL) 等の T 細胞性腫瘍は、従来の化学療法に耐性で予後不良である。CCR4 を標的としたモノクローナル抗体であるモガムリズマブは無病生存率を改善したが、ほぼ全例で再発を認め (Lancet Oncol. 2018)、治療法の改善が必要である。CART 細胞は、B 細胞性腫瘍に対し非常に高い効果を示す事が明らかとなっており (N Engl J Med. 2013)、本邦でも 2019 年 3 月、CD19 に対する CART 細胞 (tisagenlecleucel) が承認された。この技術を T 細胞性腫瘍治療へ応用する事で高い抗腫瘍効果を得られる事が前臨床モデルで示唆されており、実際、申請者も CCR4CART 細胞を樹立し、マウスモデルにて治療を含めた高い有効性を確認した。この CCR4CART 細胞の臨床への応用にあたり、CCR4CART 細胞特有の作用として、CCR4 陽性である内在性抑制性 T 細胞 (Treg) が消失する事による抗腫瘍効果の増強が期待される一方、自己免疫疾患、標的外臓器傷害などが懸念される。しかし、これらの事象は、新規治療開発に一般的に用いられる免疫不全マウスを用いた CDX モデル内では再現されない事から、実際に患者へ投与した際の発生の予測や、機序の解明は不可能である。また、T 細胞抗原を標的とする CART 細胞が患者に投与された実績は過去になく、患者由来の T 細胞から CD19CART 細胞と同様の効率と質で CCR4CART 細胞が製造可能かは明らかでない。

2. 研究の目的

上記 CART 細胞関し、作用機序の解明と将来の臨床応用に向け以下 3 点を目的とした。

- (1) CCR4CART 細胞の効果を成人 T 細胞白血病由来細胞株生着モデルにて明らかにする。
- (2) 同系移植モデルにてその効果を明らかにする。
- (3) 患者由来末梢血単核球 (PBMC) を用いて、GMP 製造を模した CART 細胞を製造し、その機能を明らかにする。

3. 研究の方法

CCR4CART 細胞の効果評価にはヒト腫瘍細胞株ゼノグラフトモデルを使用した。Luciferase 発現ヒト T 細胞リンパ腫・白血病由来細胞 (ATN-1-luc) 1×10^6 細胞を NSG マウスに尾静脈注射しヒト腫瘍ゼノグラフトモデルを得た。ATN-1 細胞移植後 7 日目に、 0.5×10^6 細胞の CART 細胞を投与し、生体発光イメージング (BLI) と生存期間にて治療効果を評価した。

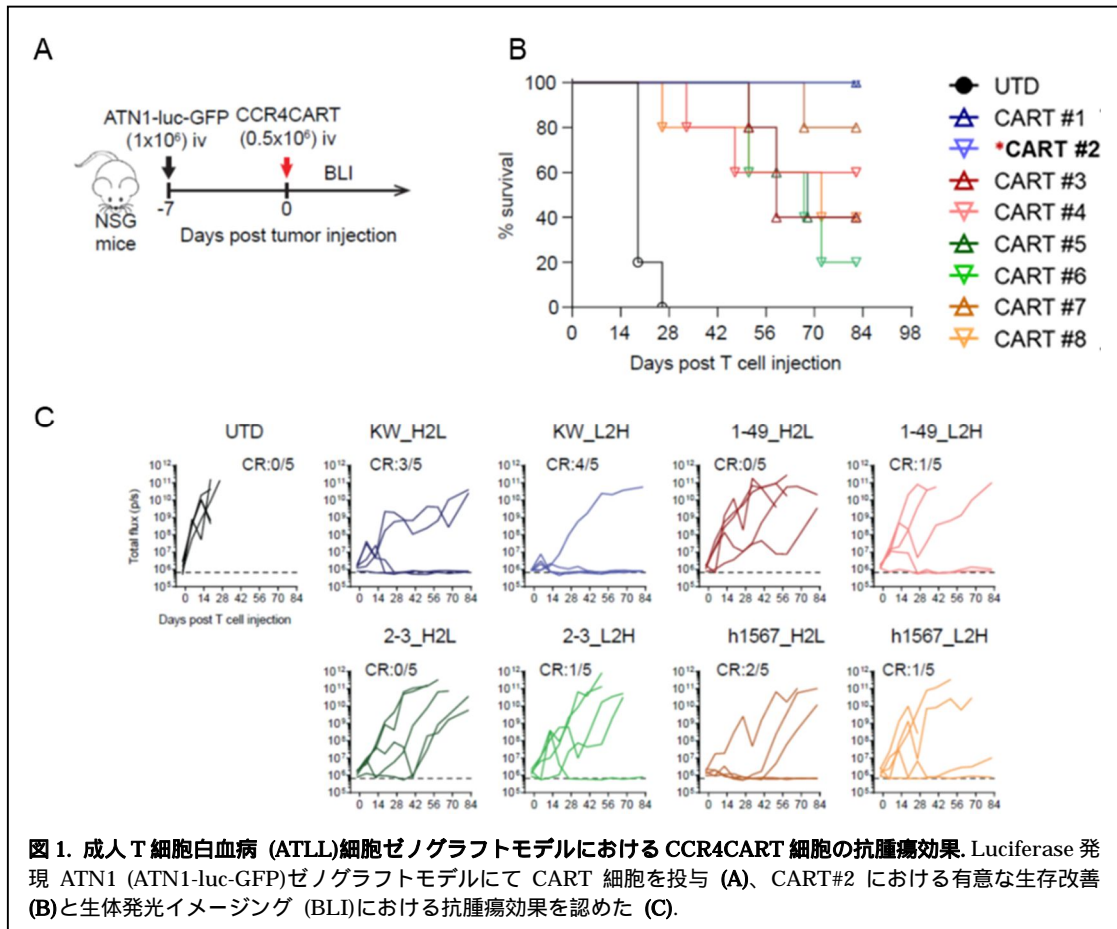
モガムリズマブ耐性腫瘍モデルは、CTCL 由来ゼノグラフトモデルを、モガムリズマブおよび PBMC 投与にて治療したのち耐性となった腫瘍を用いた。同マウスに CART 細胞を投与し、BLI にて治療効果を判定した。

国立がん研究センター倫理倫理審査委員会承認された研究計画書のもと、ATLL 患者より末梢血を採取した。腫瘍を含む末梢血 5×10^6 細胞を NSG マウスへ尾静脈より移植し、2-4 週ごとに肝脾腫、および、末梢血にて腫瘍の生着を評価した。また、CART 細胞の試験樹立においては、PBMC を抗 CD3/28 ピーズにて刺激後、CCR4CAR および対照としての CD19CAR をレンチウイルスベクターを用いて遺伝子導入した。CAR はそれぞれ抗ヒト Fab 抗体、抗 CD19CAR (FMC63) イディオタイプ抗体にて、腫瘍細胞は、CD4, CD7, CD25, CCR4, CADM1 発現を基に同定した。

4. 研究成果

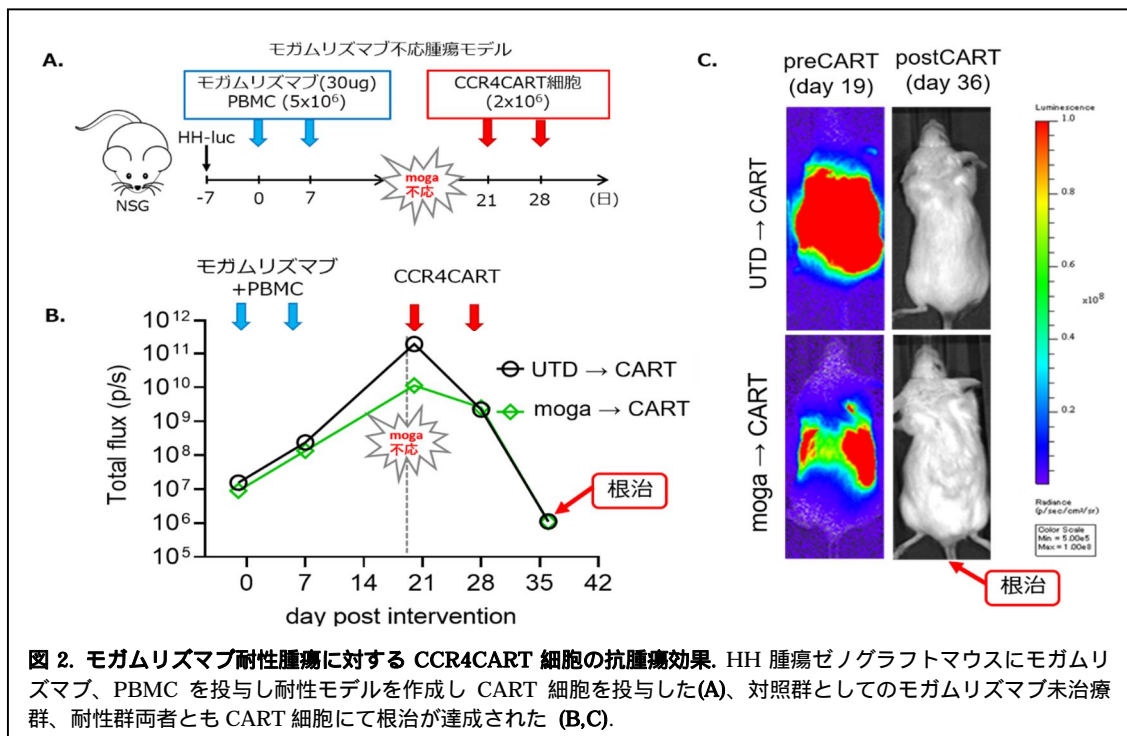
成人 T 細胞白血病・リンパ腫由来細胞株生着モデルでの抗腫瘍効果評価

ATLL 患者 2 名より腫瘍細胞を単離、NSG マウスに注射 PDX モデル樹立を試みた。しかしながら、いずれも、6 カ月の時点で生着は認められず適切な PDX モデルを得ることはできなかった。このため、当初実験に用いていた皮膚 T 細胞リンパ腫由来腫瘍株生着モデルに加え、ATLL 由来細胞株生着モデルを樹立し (図 1A)、CCR4CART 細胞の抗腫瘍効果を評価した。良好な生存改善 (図 1B) と抗腫瘍活性 (図 1C) が得られ、再現性高く、CCR4CAR コンストラクト #2 の強い効果が確認された。



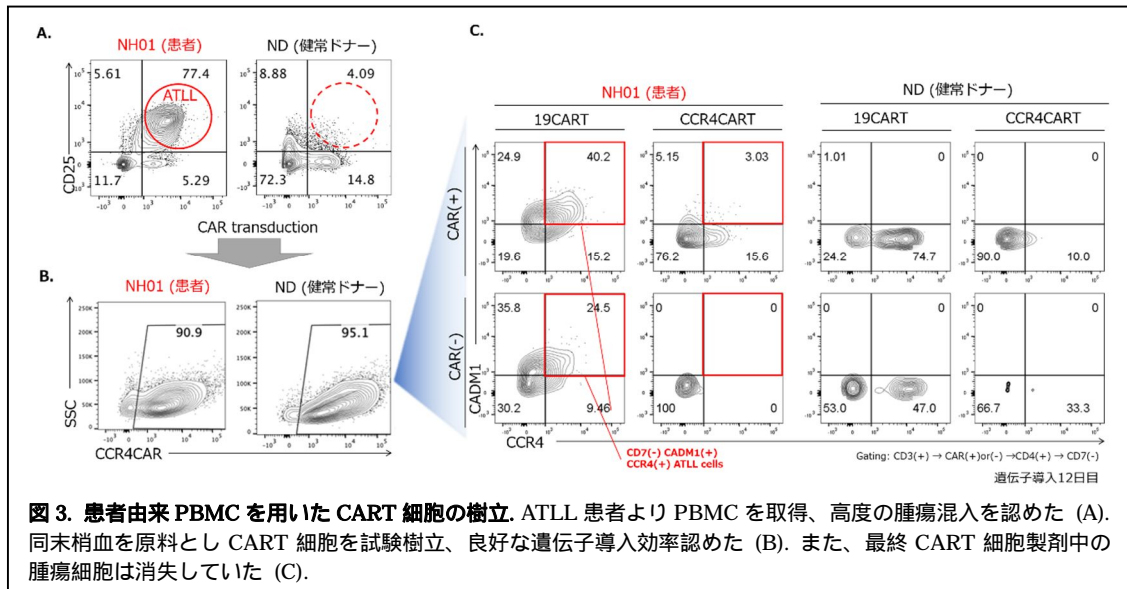
モガムリズマブ耐性腫瘍に対する CART 細胞の機能評価

ATLL に対する承認製剤であるモガムリズマブ耐性腫瘍に対して本 CART 細胞が有効であるかを確認するため、ゼノグラフトにおける耐性モデルを用いて評価した。HH 腫瘍ゼノグラフトマウスをモガムリズマブおよび PBMC にて治療を行ったところ、一次的な抗腫瘍効果を認めたものの、腫瘍の増大を認めた (図 2A,B)。これをモガムリズマブ耐性モデルとし、CART 細胞を投与したところ、対照群のモガムリズマブ未治療群、モガムリズマブ耐性群とも、CART 細胞にて根治が得られた (図 2C)。



患者由来末梢血から CCR4CART 細胞樹立

本 CART 細胞療法の臨床応用の可能性を検討するため、末梢血に高度の腫瘍細胞混入のある ATLL 患者、および、健常ドナーから CART 細胞の GMP 製造を模した試験樹立を行った(図 3A)。ATLL 患者由来細胞においても、健常ドナー由来 T 細胞と遜色ない細胞増殖と CAR 導入効率を認めた (図 3B)。また、最終 CCR4CART 細胞製剤において、ATLL 腫瘍細胞の消失を認めた (図 3C)。以上より、最悪条件の ATLL 混入 PBMC からでも、効率的、かつ、安全に CCR4CART 細胞が樹立できることが示された。



以上より、最も効果の高い CCR4CAR 構造 (CCR4CAR#2) を同定し、複数の T 細胞性腫瘍ゼノグラフトモデルでの抗腫瘍効果と生存改善を確認した。また、構造による差は、自己 CCR4 の認識による標的細胞非依存性の持続シグナリングとそれにともなう T 細胞疲弊の差にあることが示唆された。また、患者 PBMC での CART 細胞樹立が可能であり、さらに、混入腫瘍細胞が根絶されることを確認した。これらの成果を基に、今後、本 CART 細胞の臨床応用を目指した開発を進める。

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 0件）

1. 著者名 Watanabe K, Nishikawa H.	4. 巻 33(11)
2. 論文標題 Engineering strategies for broad application of TCR-T- and CAR-T-cell therapies.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International immunology.	6. 最初と最後の頁 551-62
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab052.	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 Good CR, Aznar MA, Kuramitsu S, Samareh P, Agarwal S, Donahue G...Watanabe K, June CH et al.	4. 巻 184(25)
2. 論文標題 An NK-like CAR T cell transition in CAR T cell dysfunction.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell.	6. 最初と最後の頁 6081-6100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.cell.2021.11.016.	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5件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 渡邊 慶介
2. 発表標題 CCR4を標的としたキメラ抗原受容体遺伝子改変T細胞療法の非臨床試験
3. 学会等名 令和3年度HTLV-1関連疾患研究領域研究班合同発表会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 慶介
2. 発表標題 T細胞性腫瘍を標的としたCART細胞療法の開発」
3. 学会等名 第14回日本血液疾患免疫療法学会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 慶介
2. 発表標題 T細胞性腫瘍に対するCART細胞療法の開発
3. 学会等名 第81回日本癌学会学術総会（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 慶介
2. 発表標題 腫瘍代謝環境を介した免疫細胞制御機構の解明と細胞療法への展開
3. 学会等名 鶴岡カンファレンス2022（招待講演）
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 渡邊 慶介
2. 発表標題 今後の免疫細胞療法2 CAR-T細胞療法を例にとって
3. 学会等名 21世紀 先端医療コンソーシアム
4. 発表年 2022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
---------------------------	-----------------------	----

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