

平成 30 年 4 月 24 日

T 細胞の機能を改善する新しい人工アダプター分子を開発 ～TCR 遺伝子導入 T 細胞によるがん免疫療法の向上へ～

名古屋大学大学院医学系研究科（研究科長：門松 健治）血液・腫瘍内科学講座の宮尾 康太郎（みやお こうたろう）大学院生、寺倉 精太郎（てらくら せいたろう）助教、清井 仁（きよい ひとし）教授らの研究グループは、富山大学大学院医学薬学研究部（医学）免疫学講座の岸 裕幸 准教授、先進がん免疫治療学講座の浜名 洋 客員准教授との共同研究で、がん免疫療法の一つである T 細胞レセプター遺伝子導入 T 細胞（TCR-T）療法を改良するために、人工的に作成し、本来、人体には存在しない分子として、ATAM^{※1}（人工 T 細胞活性化分子、artificial T cell activating adapter molecule）を新たに開発しました。

がん免疫療法は、従来の抗がん剤治療で治療困難な悪性腫瘍に対する新たな治療選択肢となりつつあります。免疫細胞の一種である T 細胞が、がん細胞を攻撃する性質を応用したがん免疫療法が次々に実用化されていますが、TCR-T 療法^{※2}の効果は限定的でした。また、治療の効果をあげるために T 細胞受容体を改変すると、予期しない副作用を引き起こす危険がありました。そこで、T 細胞受容体を改変せず TCR-T 療法の効果を向上させるために 2 種類の人工アダプター分子である CD3 ζ /CD28 と CD3 ζ /4-1BB 分子を開発しました。これらは T 細胞が敵を認識した際に刺激を伝える CD3 ζ 分子に、おなじく T 細胞が完全に活性化するのに必要な共刺激分子である CD28 や 4-1BB という分子を融合させた新しい分子です。作成した ATAM を T 細胞に導入すると、T 細胞受容体が特異的に認識できる相手を認識した時のみ T 細胞内へのシグナルが強化され、その後 T 細胞が増えるにあたって、その増殖能が向上して長期間維持できるようになり、TCR-T 療法にとって望ましい機能変化を示しました。特に CD3 ζ /4-1BB を導入した TCR-T は、導入していない場合と比べてより強く、より長くマウス体内の腫瘍を抑制しました。本発明は、T 細胞受容体を改変しないため安全性が高い点と、様々な T 細胞受容体と組み合わせて使えるため汎用性が高い点が画期的です。この研究成果は、2018 年 4 月 13 日付（米国東部時間）米国科学雑誌「Cancer Immunology Research」オンライン版に掲載されました。

T細胞の機能を改善する新しい人工アダプター分子を開発 ～TCR 遺伝子導入 T細胞によるがん免疫療法の向上へ～

ポイント

- 2種類の人工アダプター分子、CD3 ζ /CD28 と CD3 ζ /4-1BB を新しく作成し、それらを人工 T細胞活性化分子 (Artificial T cell activating adapter molecule, ATAM) と名付けました。
- 特に CD3 ζ /4-1BB を導入すると、刺激を受けた T細胞は増えやすく長生きするようになり、がん細胞と戦う力が強くなりました。
- ATAM は様々な種類の TCR-T 療法と組み合わせることが可能です。
- ATAM を導入した T細胞は T細胞受容体の標的認識部位が変化しないので、予想外の標的を攻撃せず、安全に TCR-T 療法の効果を向上させます。

1. 背景

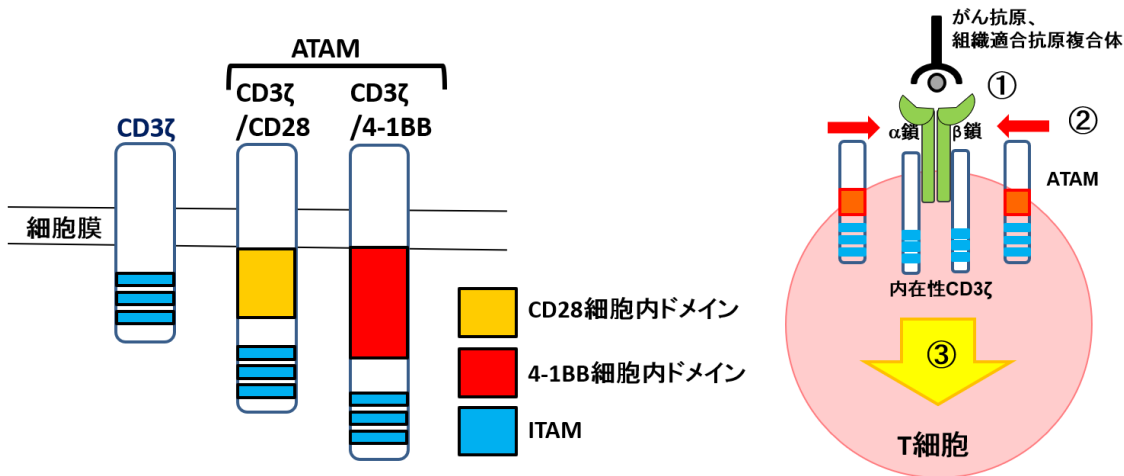
免疫チェックポイント阻害薬や CAR-T 療法、TCR-T 療法など、T細胞ががん細胞を攻撃する性質を応用したがん免疫療法が次々に実用化され、従来の抗がん剤治療で治癒困難な悪性腫瘍に対する新たな治療選択肢となりつつあります。様々ながん抗原を標的とした TCR-T 療法は臨床試験も実施されていますが、限られた症例への短期間の効果にとどまっています。効果を向上するために T細胞が敵を認識する際に使う T細胞受容体の標的認識部位を変化させたところ、心臓や脳などヒトの正常な組織を攻撃してしまい、生命を脅かす重篤な副作用も報告されています。そのような状況の中、TCR-T 療法の効果を安全に向上させることが強く求められています。

2. 研究成果

本研究チームは、人工 T細胞活性化アダプター分子(ATAM)を開発しました。これは T細胞が標的を認識すると T細胞受容体に CD3 ζ 分子が集合して、細胞の内部に刺激を伝達する性質を応用しています。我々は、T細胞の共刺激分子である CD28 や 4-1BB を組み込んだ分子として、それぞれ CD3 ζ /CD28、CD3 ζ /4-1BB を作成し(図 1)、ATAM を導入した細胞の表面に分布しました(図 2)。ATAM を T細胞にウイルスを用いて送り込む(遺伝子導入)と、特に CD3 ζ /4-1BB を導入したサイトメガロウイルスを特異的に認識する T細胞や、がん抗原 NY-ESO-1 を特異的に認識する T細胞は、刺激後の増殖が良好となり、長く増殖が続くという TCR-T 療法にとって望ましい機能変化を示しました(図 3)。続いて、ATAM を導入した T細胞の悪性腫瘍に対する腫瘍抑制効果の変化を検証しました。多発性骨髄腫という血液悪性腫瘍の細胞株である U266 は、がん抗原 NY-ESO-1 を発現しています。免疫不全マウスに U266 細胞を移植し、多発性骨髄腫モデルマウスを作成しました。そして、治療として、がん抗原である NY-ESO-1 を特異的に認識する TCR を遺伝子導入した T細胞をモデルマウスに静脈注射しました。NY-ESO-1 を認識できない T細胞を静脈注射しても U266 はマウス体内で増殖を続けました。一方、NY-ESO-1 特異的 TCR を遺伝子導入した T細胞を静脈注射すると U266 は減少しましたが、なかでも CD3 ζ /4-1BB を併せて導入した NY-ESO-1 特異的 T細胞を静脈注射すると、CD3 ζ /4-1BB を導入していない場合と比べて、U266 細胞を大きく減らし、効果は長期間持続しました(図 4)。つまり、CD3 ζ /4-1BB は腫瘍特異的 TCR-T 療法の治療効果を改善したことが明らかになりました。一連の実験で、ATAM を導入した T細胞は増殖しやすく長生きするようになりましたが、過剰な反応を起こさず、本来の標的以外には反応せず、併

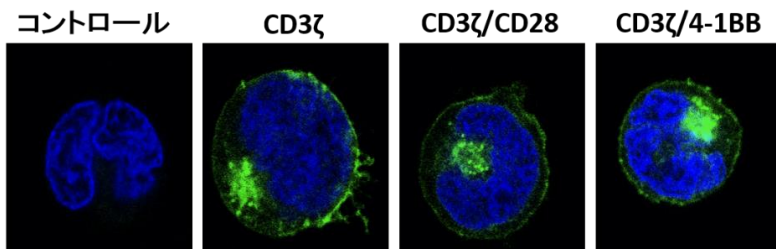
せて安全性も確認されました。

図 1 : ATAM の構造と、それによる T 細胞機能改善のメカニズム



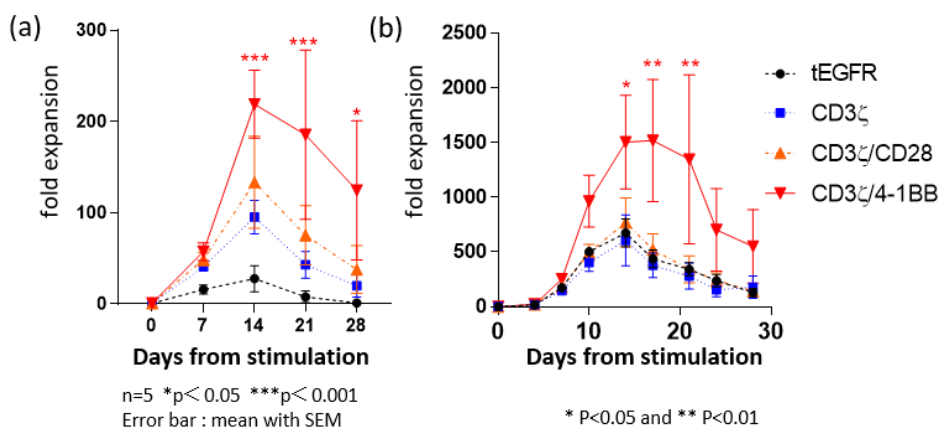
左の図のように ATAM は、CD3 ζ 分子と類似した構造をしています。CD3 ζ 分子は T 細胞受容体の α 鎖、 β 鎖複合体が抗原刺激を受けると、T 細胞受容体複合体に集合する性質があります。すなわち、ATAM 分子は T 細胞受容体が抗原と結合すると、細胞に元から存在する CD3 ζ 分子とともに ATAM が T 細胞受容体複合体に集まり、ATAM からの刺激が追加されて T 細胞内に伝わり、T 細胞の機能を向上させるものと考えられています。

図 2 : 細胞内での ATAM の発現



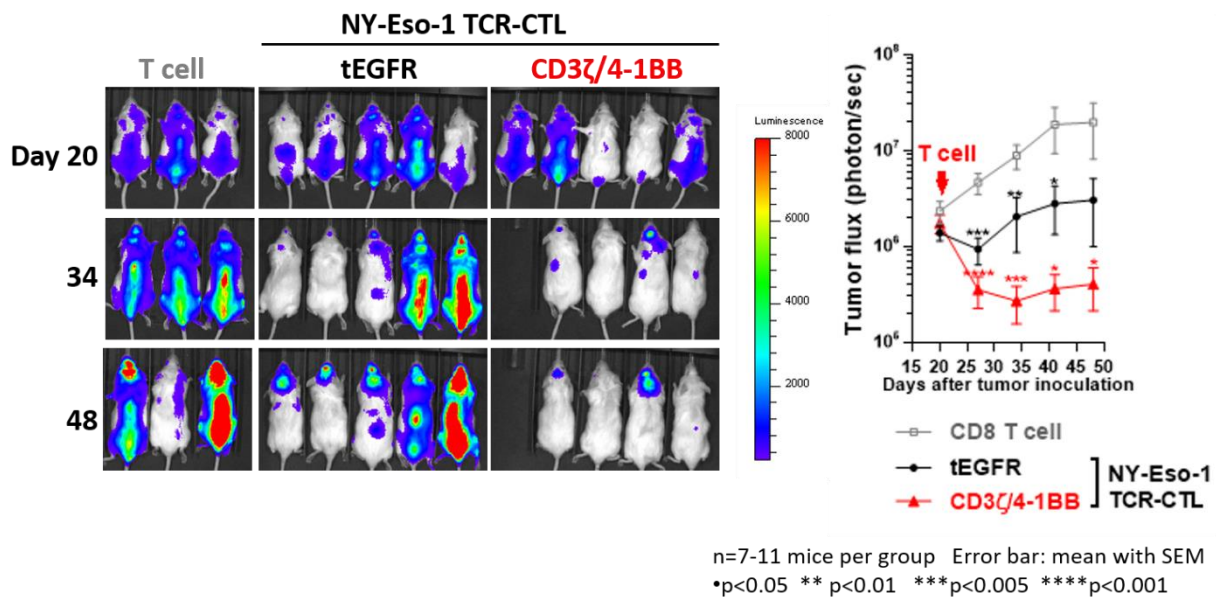
CD3 ζ や ATAM に緑色発光物質を融合し細胞株に遺伝子導入し、ATAM が細胞の表面に分布する様子を顕微鏡でとらえました。

図 3 : ATAM を導入した T 細胞の増殖



ATAM を導入した細胞を TCR に対する特異的な標的で刺激したときの T 細胞の増殖です。(a) サイトメガロウイルス特異的 T 細胞 (b)がん抗原 NY-ESO-1 特異的 T 細胞に ATAM を導入すると、tEGFR(コントロール)を導入した場合と比べて、刺激を受けた T 細胞が増えやすくなりました。特に、CD3 ζ /4-1BB を導入すると、より大きく、より長く増殖を続けることが観察されました。

図 4；多発性骨髄腫マウスの治療



多発性骨髄腫細胞株 U266 細胞に発光物質と反応し発光させる遺伝子を導入し、免疫不全マウスに移植しました。マウスの発光は、マウスの体内にある U266 細胞の量を反映しています。マウスに U266 細胞を移植してから 21 日目に T 細胞を静脈注射しました。正常の T 細胞(=T cell)を注射しても U266 は減少しませんが、NY-ESO-1 特異的 T 細胞(NY-ESO-1 TCR-CTL)を注射した場合、U266 細胞は攻撃を受けて減少しました。特に、CD3 ζ /4-1BB を導入した場合は、より大きく、より長く U266 を抑えこみ、つまり抗腫瘍効果を増強しました。

3. 今後の展開

ATAM は T 細胞が生体内で長期生存しにくいという現在の TCR-T 療法の課題を安全に解決し、さまざまな TCR-T と組み合わせることができる点で、非常に汎用性が高い発明と考えています。今後は様々な TCR と組み合わせて効果を検証し、臨床応用を目指していきます。TCR-T 細胞によるがん免疫療法がますます発展し、多くの患者さんの治療に役立つことになりうることを期待されます。

4. 用語説明

1. ATAM (artificial T-cell activating adapter molecule)：今回私たちが発明した T 細胞の人工アダプター分子。T 細胞受容体複合体の重要な構成因子である CD3 ζ 分子に CD28 を組み込んだ CD3 ζ /CD28 と、4-1BB を組み込んだ CD3 ζ /4-1BB の 2 種類を作成した。

2. TCR-T 療法: がん細胞の目印、つまり腫瘍抗原と HLA の複合体を認識する T 細胞受容体(TCR) を T 細胞に遺伝子導入し、がん細胞を攻撃する T 細胞を作成する。それを体内に注入して悪性腫瘍を治療する方法である。WT1 や MAGE-A3 などの抗原を標的に臨床研究がすすめられている。

5. 発表雑誌

Kotaro Miyao¹, Seitaro Terakura¹, Shingo Okuno¹, Jakrawadee Julamanee^{1,2}, Keisuke Watanabe¹, Hiroshi Hamana³, Hiroyuki Kishi⁴, Reona Sakemura¹, Daisuke Koyama¹, Tatsunori Goto¹, Tetsuya Nishida¹, Makoto Murata¹ and Hitoshi Kiyoi¹

1.Department of Hematology and Oncology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

2.Division of Clinical Hematology, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

3.Department of Innovative Cancer Immunotherapy, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Toyama, Japan

4.Department of Immunology, Graduate School of Medicine and Pharmaceutical Sciences, University of Toyama, Toyama, Japan

“Introduction of Genetically-Modified CD33ζImproves Proliferation and Persistence of Antigen-specific CTLs”

Cancer Immunology Research (米国東部時間 2018 年 4 月 13 日付けの電子版に掲載)

DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-17-0538

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Cancer_I_20180424en.pdf