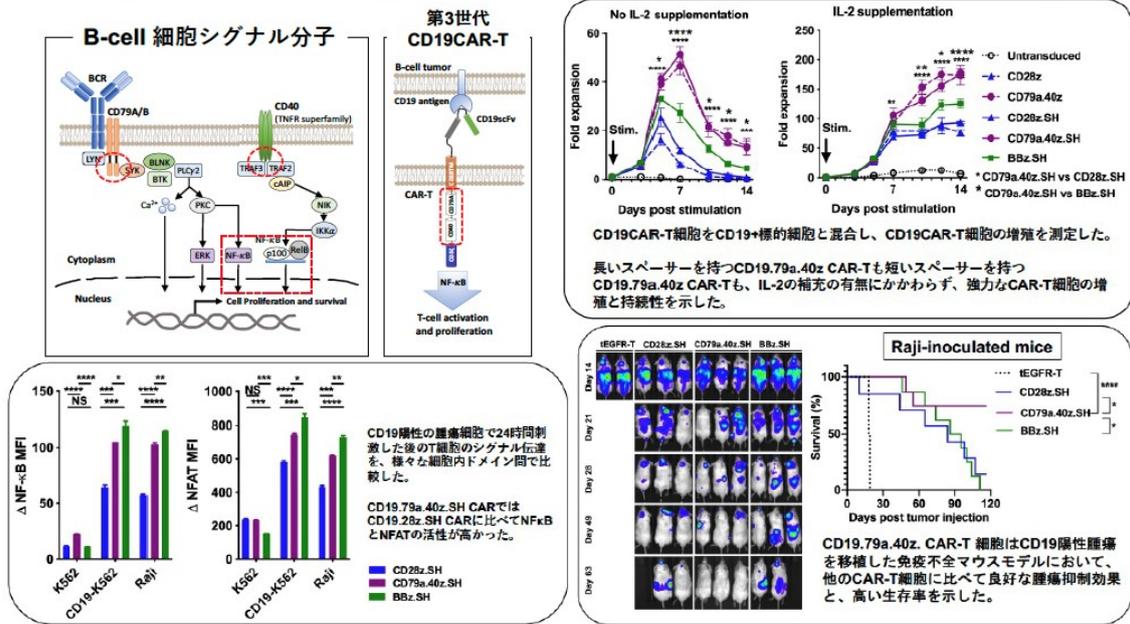


新規細胞内ドメイン, CD79A/CD40は CD19CAR-T細胞機能を高める



従来の細胞内ドメインよりも強力に細胞内シグナルを伝える新規の細胞内ドメインを用いた CAR-T 細胞を開発！ ～CAR-T 細胞療法の効果増強を期待～

名古屋大学大学院医学系研究科血液・腫瘍内科学分野の Jakrawadee Julamanee 大学院生（筆頭著者）、寺倉精太郎講師（責任著者）、清井仁教授らのグループは、B 細胞シグナル誘導を担う、CD79A^{*1} および CD40^{*2} の細胞内ドメイン^{*3} を用いた新規複合細胞内ドメインを開発しました。この細胞内ドメインは抗原刺激後に核内移行シグナルである NF-κB^{*4} をより強く誘導することで、キメラ抗原受容体（CAR）T 細胞^{*5} の機能を向上させることに成功しました。

昨今 CD19^{*6} を標的とした CD19CAR を発現するように遺伝子を改変した CD19CAR-T 細胞が、再発・難治 B 細胞性悪性腫瘍で有望な結果を示すことが明らかとなり、臨床応用されました。現在用いられている CAR-T 細胞では 4-1BB^{*7} または CD28^{*8} の細胞内ドメインを組み込んだ第 2 世代の CD19CAR-T 細胞を用いて、画期的な臨床的な奏功がみられ、米国食品医薬品局 (FDA) は CD19CAR-T 細胞を再発/難治性の B-ALL^{*9} および B-NHL^{*10} 患者の治療に承認しています。しかし、高い初期奏効率にも関わらず、多くの患者が最終的には再発しており、CAR-T 細胞の増殖性や生体内での長期持続性が低いことが、不完全な奏効や早期再発と関連していると考えられます。CAR-T 細胞の増殖と持続性を高めるために、研究グループは、CD79A/CD40 シグナル伝達ドメインを組み込んだ新しい第 3 世代の CD19CAR (CD19.79a.40z CAR) を作成しました。CD19.79a.40z CAR-T 細胞は強力な CAR-T 細胞の刺激後増殖を示し、in vitro^{*11} および in vivo^{*12} の B 細胞リンパ腫モデルの両方でがん細胞の増殖を抑制することができました。このグループは、B 細胞シグナル伝達部位を CAR 構造に組み込むことで、CAR-T 細胞の増殖と持続性が高まることを確認しました。CD79A/CD40 細胞内ドメインは、B 細胞リンパ腫の寛解を持続させ、最終的には治療成績を向上させる可能性があります。本研究結果は、国際科学雑誌「Molecular Therapy」（電子版）に 2021 年 5 月 1 日に掲載されました。

ポイント

OCD79A/CD40 の新規細胞内ドメインは、核内移行シグナルである NF- κ B を従来の細胞内ドメインよりも強力に誘導し、CD19CAR-T 細胞の機能を向上させました。

OCD79A/CD40 細胞内ドメインを組み込んだ CD19CAR-T は、強力な CAR-T 細胞の刺激後増殖を示し、Raji（リンパ腫）を接種したマウスにおいて抗腫瘍効果を向上させました。

OCD79A/CD40 エンドドメインは、現在使用されている CD28 や 4-1BB エンドドメインよりも優れた生存率を示す可能性があります。

1. 背景

NF- κ B はこれまで CD19CAR-T 細胞に臨床応用されている 4-1BB 細胞内ドメインのシグナル伝達に重要なシグナル経路であり、CD28 と比較して CAR-T 細胞の増殖と持続性の向上に寄与していることが明らかになりました。そこで研究グループは、第 3 世代の CD19CAR-T 細胞を作るために、B 細胞受容体 (BCR) レセプターのシグナル伝達を担う、CD79A、CD40 のシグナルドメインを導入することで、CAR-T 細胞の NF- κ B シグナルを増やすことを試みました。彼らは、CD79A/CD40 エンドドメインが協力して、主に NF- κ B が関与する重要な細胞内シグナルを発揮し、T 細胞のシグナルと相乗効果を発揮して CAR-T 細胞の機能を向上させるという仮説を立てました。

2. 研究成果

研究グループは、CD79A と CD40 の細胞内ドメインを組み合わせた複合型細胞内ドメイン (CD19.79a.40z) をオリジナルの CD19CAR バックボーンに組み込み、これまで臨床応用されている CD28 および 4-1BB 細胞内ドメインと比較しました。CD19.79a.40z CAR は、CD19 刺激によって NF- κ B と p38 によるシグナルが増加しました。注目すべきは、サイトカイン^{※13}の補充の有無に関わらず、2 週間の培養期間において CAR-T 細胞が大きく増殖し維持されることです。CD19.79a.40z CAR-T 細胞は、標的細胞が多数であっても T 細胞の増殖が顕著であることから、長期間の腫瘍細胞との共培養においても腫瘍細胞の増殖を継続的に抑制しました。さらに、CD19.79a.40z CAR-T 細胞は、NALM-6^{※14} および Raji^{※15} を接種したマウスのいずれにおいても腫瘍細胞の増殖を徹底的に抑制し、CD19.28z CAR-T 細胞や CD19.BBz CAR-T 細胞と比較して、長期に渡り効果的な腫瘍抑制と全生存期間の延長をもたらしました。

本研究では、CD79A/CD40 細胞内ドメインによる NF- κ B および NFAT^{※16} シグナルの増強が、CAR-T 細胞の増殖および持続性の向上に寄与しているとしています。更に、CD19.79a.40z CAR-T 細胞は、比較的ゆっくりとした起動ではあるが、長期に渡る反応を示し、NALM-6 白血病モデルと比較して、Raji 接種リンパ腫モデルではより多くの生存率が得られたという、腫瘍撲滅のための明確な動態が観察されました。一方、他の従来の CD19CAR-T 細胞を投与したマウスでは、CAR-T 細胞の拡張性が低かったため、完全な腫瘍反応を得ることができず、早期に腫瘍が再発し、生存率が低下しました。

3. 今後の展開

革新的な CD79A/CD40 コスティミュレーションドメインが開発され、CD19CAR-T 細胞の増殖と持続性を高めることが証明されました。CD19.79a.40z CAR-T 細胞は、B 細胞リンパ腫患者の寛解を持続させ、生存期間を延長させる可能性があります。CD79A/CD40 細胞内ドメインは、現在特許申請中です。現在、研究グループでは、T 細胞内のデュアルドメインを最適化し、臨床応用可能な CD19CAR-T 細胞を開発しています。更には他の標的抗原に対する CAR-T 細胞にも応用するため、研究開発を継続しています。

4. 用語説明

- ※1 CD79A: B リンパ球全般に発現する細胞表面タンパクであり、B 細胞レセプター(BCR) 複合体の一部を形成している。
- ※2 CD40: CD40 は B 細胞に加えて各種抗原提示細胞に発現しており、CD40 リガンドと結合して B 細胞に活性化シグナルを伝達する。
- ※3 細胞内ドメイン: 細胞表面レセプターの細胞内部分。細胞内蛋白をリン酸化するなどの反応を起こすことによって、細胞内にシグナルを伝達する。
- ※4 NF- κ B: 細胞内シグナルタンパクの一つで、多くの細胞種において細胞の生存および細胞増殖を高める。
- ※5 キメラ抗原受容体(CAR) T 細胞: 抗体等の細胞外ドメインとシグナル伝達のための細胞内ドメインからなる人工受容体をキメラ抗原受容体と呼び、これを T リンパ球等の免疫細胞に遺伝子導入して臨床応用されている。CAR-T を遺伝子導入して作成した T リンパ球を CAR-T 細胞と呼び、近年臨床応用されている。
- ※6 CD19: B リンパ球全般に発現する細胞表面タンパクであり、CD19 を標的とした CAR-T 細胞はすでに臨床応用されています。
- ※7 4-1BB: 活性化した T リンパ球に発現する分子であり、この細胞内ドメインはすでに臨床応用されている CAR-T 細胞に組み込まれている。
- ※8 CD28: T 細胞が完全に活性化するために必要なシグナルの一つを伝える分子であり、この細胞内ドメインはすでに臨床応用されている CAR-T 細胞に組み込まれている。
- ※9 B-ALL: B 細胞性急性リンパ性白血病。
- ※10 B-NHL: B 細胞性非ホジキンリンパ腫。
- ※11 In vitro: 試験管内で行う(実験) のこと。
- ※12 In vivo: 生体内で行う(実験)(主としてマウスを用いる) のこと。
- ※13 サイトカイン: 免疫細胞等に情報を伝達するタンパクのこと。ここでは T リンパ球に増殖シグナルを伝える、インターロイキン 2 と呼ばれるタンパクを用いています。
- ※14 NALM-6: B 細胞性急性リンパ性白血病の腫瘍細胞株。
- ※15 Raji: B 細胞性非ホジキンリンパ腫の腫瘍細胞株。
- ※16 NFAT: 免疫細胞に発現している転写因子であり、活性化シグナルを伝える。

5. 発表雑誌

掲雑誌名 : Molecular Therapy

論文タイトル : Composite CD79A/CD40 costimulatory endodomain enhances CD19CAR-T cell proliferation and survival

著者 : Jakrawadee Julamanee^{1,2}, Seitaro Terakura¹, Koji Umemura¹, Yoshitaka Adachi¹, Kotaro Miyao¹, Shingo Okuno¹, Erina Takagi¹, Toshiyasu Sakai¹, Daisuke Koyama¹, Tatsunori Goto¹, Ryo Hanajiri¹, Michael Hudecek³, Peter Steinberger⁴, Judith Leitner⁴, Tetsuya Nishida¹, Makoto Murata¹, and Hitoshi Kiyoi¹

所属 : Department of Hematology and Oncology, Nagoya University Graduate School of Medicine, Nagoya, Japan

² Hematology Unit, Division of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkhla, Thailand

³ Medizinische Klinik und Poliklinik II, Universitätsklinikum Würzburg, Würzburg, Germany

⁴ Division for Immune Receptors and T Cell Activation, Institute of Immunology, Medical University of Vienna, Vienna, Austria

DOI : 10.1016/j.ymthe.2021.04.038

English ver.

https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/mol_the_210501en.pdf