

カニクイザルの腫瘍に浸潤した T 細胞から
腫瘍殺傷能力をもつ T 細胞受容体遺伝子の単離に成功
—iPS 細胞から再生した T 細胞を用いたがん免疫療法への応用に期待—

概要

滋賀医科大学 保年教授、伊藤 靖教授、平田多佳子教授、京都大学ウイルス再生研究所河本 宏教授らの共同研究により、カニクイザルの腫瘍移植モデルを用いて、腫瘍に浸潤し、PD-1 を発現する T 細胞から、T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子を単離し、ヒトの iPS 細胞から再生した T 細胞へ遺伝子導入したところ、腫瘍殺傷能力をもつ TCR を同定することに成功しました。この研究成果は 2021 年 12 月 23 日(日本時間 12 月 24 日)付で米国遺伝子細胞療法学会学術誌「Molecular Therapy - Oncolytics」電子版(URL <https://www.sciencedirect.com/journal/molecular-therapy-oncolytics>) に公表されました。

1. 背景

がん免疫療法の開発には、マウスのがんモデルが広く利用されていますが、マウスでは観察されなかった副作用が、ヒトではみとめられる例が知られています。そのため非ヒト霊長類を用いたがんモデルが必要であることから、カニクイザルの iPS 細胞に、複数のがん誘導遺伝子を導入して作製した腫瘍細胞を用いた研究が行われて来ました (*Cancer Res* 2017, 77, 6001)。腫瘍細胞をカニクイザルに移植すると 2 週ほどで腫瘍を形成しますが、腫瘍は 4 ~5 週で消失したため、移植 2 週間後に腫瘍に浸潤した T 細胞を解析したところ、細胞傷害活性に関わる分子を発現していることがわかりました (*Sci Rep* 2020, 10, 8414)。そこで本研究では、腫瘍に浸潤した T 細胞が細胞傷害活性を持ち、腫瘍の消失に関わる可能性を想定し、腫瘍浸潤 T 細胞から、T 細胞が腫瘍細胞を認識し殺傷するために重要な役割を果たす T 細胞受容体 (TCR) の遺伝子を単離し、その腫瘍殺傷能力を検討しました。

2. 研究手法・成果

腫瘍に浸潤する T 細胞のうち、ヒトの症例で腫瘍反応性を有すると報告されている、PD-1 を発現する T 細胞を分取し、TCR 遺伝子を単離しました (図 A)。次に、単離した TCR 遺伝子を、ヒトの iPS 細胞から再生した細胞傷害性 T 細胞 (再生 T 細胞) にレトロウイルスを用いて発現させ、腫瘍細胞に対する細胞傷害活性を検討しました (図 B)。その結果、出現頻度の高い TCR を発現させた再生 T 細胞は、高頻度で腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示したのに対して、出現頻度の低い TCR を発現させた再生 T 細胞は、腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示すものは少ないことがわかりました。さらに細胞傷害活性を示した TCR を発現させた再生 T 細胞は、免疫不全マウスを用いた動物実験でも抗腫瘍活性を示しました。これらの結果から、このカニクイザルの腫瘍移植モデルにおいて、腫瘍浸潤 T 細胞は腫瘍細胞を殺傷する能力を有し、腫瘍の消失に寄与する可能性が示唆されました。

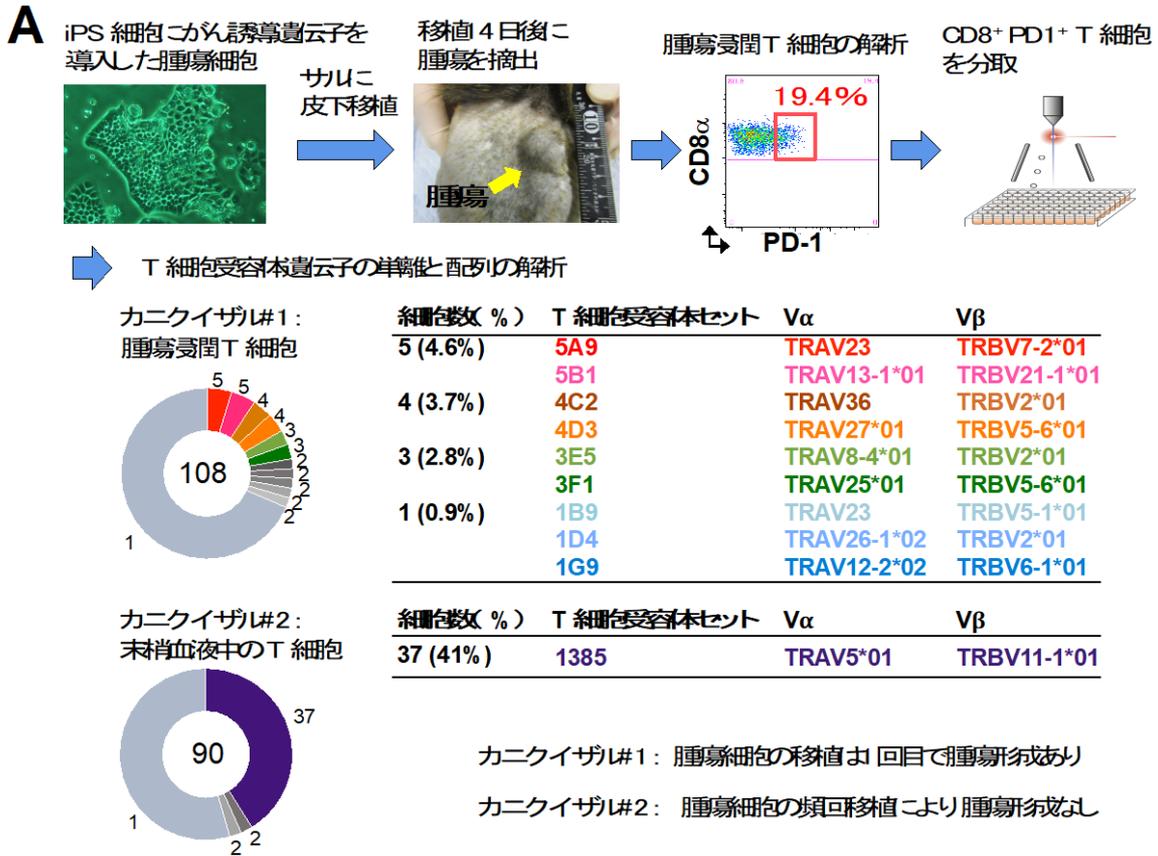


図 A. 腫瘍細胞をカニクイザル#1に移植し、2週間後に腫瘍に浸潤した T 細胞のうち、PD-1 を発現する CD8 陽性 T 細胞（細胞傷害性 T 細胞）を分取した後、TCR 遺伝子を単離し配列を解析したところ、108 個の細胞のうち複数の細胞でみとめられた TCR 遺伝子セットが存在しました。腫瘍細胞を頻回に移植したカニクイザル#2では、腫瘍の形成がみとめられなかったため、末梢血中の CD8⁺ PD-1⁺ T 細胞を 90 個解析したところ 37 個の細胞でみとめられた TCR 遺伝子セットがありました。

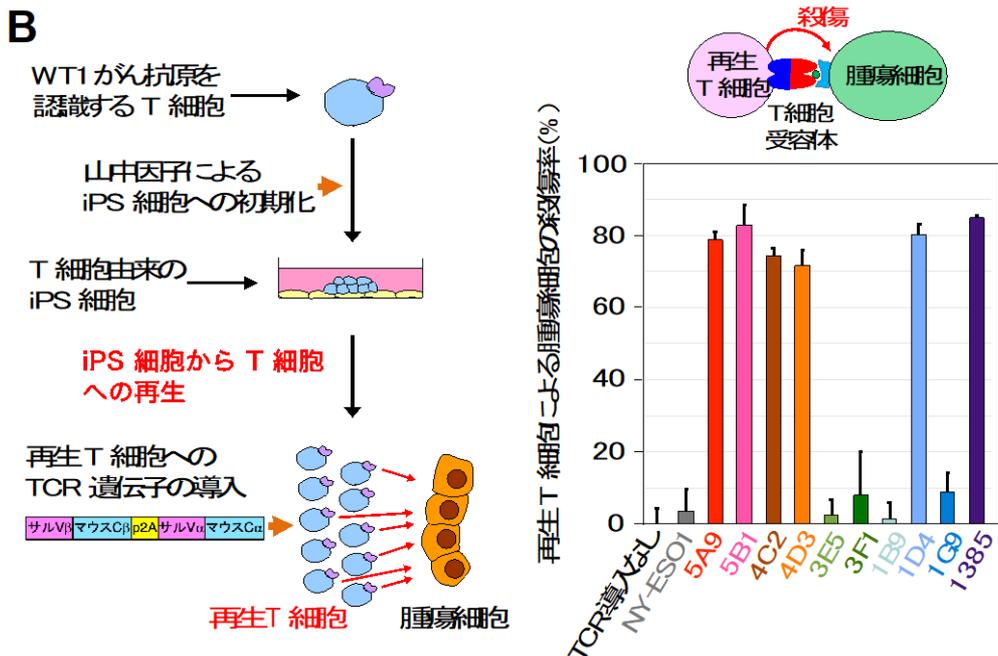


図 B. 単離した TCR 遺伝子を、ヒトの iPS 細胞から再生した細胞傷害性 T 細胞（再生 T 細胞）にレトロウイルスを用いて発現させたところ、出現頻度の高い TCR を発現させた再生 T 細胞は、高頻度で腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示したのに対して、出現頻度の低い TCR を発現させた再生 T 細胞は、腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示すものは少ないことがわかりました。

3. 波及効果・今後の予定

本研究により、非ヒト霊長類でも腫瘍に浸潤する PD-1 陽性 T 細胞が腫瘍殺傷能力を有することが、初めて明らかになるとともに、iPS 細胞から再生した T 細胞に TCR 遺伝子を導入することで、腫瘍殺傷能力をもつ T 細胞を迅速に作製できることが示されました。今後は、ヒトの腫瘍に浸潤する PD-1 陽性 T 細胞から、同様に TCR 遺伝子を単離し、出現頻度の高い TCR 遺伝子を再生 T 細胞に導入して、抗腫瘍活性を示すか検討していく予定です。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、科学研究費助成事業[基盤研究 C (18K07171)、基盤研究 C (19K07712)、研究活動スタート支援 (20K22840)、基盤研究 B (21H02784)]、滋賀医科大学学長裁量経費、京都大学ウイルス・再生医科学研究所再生医学・再生医療の先端融合的共同研究拠点、金沢大学がん進展制御研究所共同利用・共同研究拠点の支援を受けました。なお本研究は、滋賀医科大学の動物実験委員会により承認されています。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Isolation of TCR genes with tumor-killing activity from tumor-infiltrating and circulating lymphocytes in a tumor rejection cynomolgus macaque model

著者 : 寺田晃士、近藤健太、石垣宏仁、長嶋彩花、里岡大樹、永野誠治、増田喬子、川村晃久、平田多佳子、小笠原一誠、伊藤 靖、河本 宏、縣 保年

掲載誌 : Molecular Therapy – Oncolytics

<お問い合わせ先>

縣 保年 滋賀医科大学生化学・分子生物学講座分子生理化学部門

TEL: +81-77-548-2156

FAX: +81-77-548-2157

E-mail: yagata@belle.shiga-med.ac.jp