

News Release

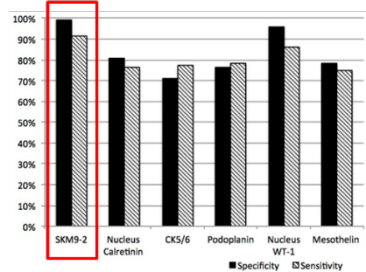
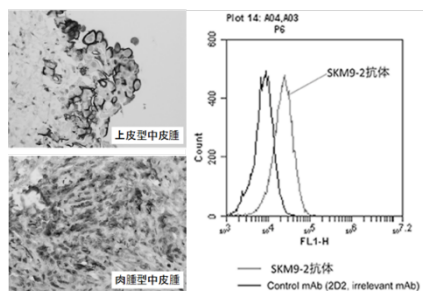
令和6年1月19日

悪性中皮腫に対する新しいキメラ抗原受容体T細胞療法の開発

発表のポイント

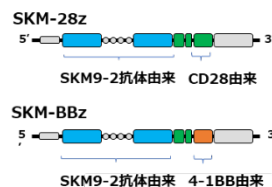
- 悪性中皮腫（注1）にのみ発現する糖たんぱく質を認識する新規抗体を利用して、悪性中皮腫細胞を攻撃するキメラ抗原受容体（CAR、注2）T細胞を作ることに成功しました。
- CAR遺伝子の細胞内シグナル伝達部位を改変することにより、生体内で悪性中皮腫細胞を効率よく攻撃できるT細胞を作成しました。
- 本研究の成果は、悪性中皮腫に対する新規細胞治療薬として臨床応用されることが期待されます。

SKM9-2抗体の樹立および評価

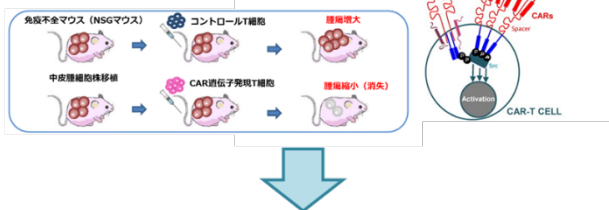


SKM9-2抗体の特異度と感度

キメラ抗原受容体（CAR）遺伝子の作成



細胞傷害活性の検証



悪性中皮腫に対する臨床応用

概要

白血病をはじめとする血液がんに対して CAR-T 細胞療法が実用化され高い治療効果を示していますが、固形がんに対する CAR-T 細胞療法ははるかに実用段階に至っていません。アスベスト吸入により起こる悪性中皮腫は難治性の高い固形がんの一つですが、本研究では、悪性中皮腫細胞を特異的に識別できるモノクローナル抗体を利用して CAR-T 細胞を作りました。特に、細胞内シグナル伝達部位を改変した CAR-T 細胞は疲弊（注3）せず、悪性中皮腫細胞を効率よく攻撃できることを明らかとしました。本研究の成果は、難治性の悪性中皮腫に対する新規細胞治療薬として臨床応用されることが期待されます。また、有効性の高い CAR 遺伝子を作成するためのデザイン戦略に新しい知見を与えるものと期待されます。なお、本研究は、国際科学誌「International Journal of Cancer」に、2024年1月11日（木）に公開されました。

本研究の背景

近年、がん細胞を特異的に識別する受容体を患者リンパ球に人為的に導入する CAR-T 細胞療法が、白血病などの血液がんへの新規治療法として実用化され高い治療効果を示しています。一方、固形がんに対する CAR-T

細胞療法はまだ実用段階に至っていません。固形がんの治療には CAR-T 細胞ががん組織内に入って働く必要があるため、CAR-T 細胞が効率良くがん細胞を識別でき、がん組織内の環境により阻害を受けないことが望まれます。

神奈川県立がんセンターでは、2017年に悪性中皮腫細胞を高感度かつ特異的に識別できるモノクローナル抗体を開発しています。今回、この抗体を CAR 遺伝子として活用することにより、効率よく悪性中皮腫細胞を攻撃する CAR-T 細胞ができるのではないかと考えました。具体的には、細胞活性化シグナルを発生させる部分のデザインを2種類設計し、(1)試験管内での活性、(2)マウスモデルによる生体内での活性、(3)発現遺伝子の網羅的特性、について比較・検討することで殺傷能力の高い CAR-T 細胞の作製を試みました。

本研究の成果

1) 悪性中皮腫を認識する CAR-T 細胞を2種類作成し、試験管内で比較 (図1)

神奈川県立がんセンターで作成した悪性中皮腫識別抗体 SKM9-2 を用いてキメラ受容体 SKM-CAR を作成しました。SKM-CAR の細胞内シグナル伝達部位を CD28 分子から取った SKM-28z CAR と、4-1BB 分子から取った SKM-BBz CAR の2種類を作成しました。それぞれをヒト T 細胞に遺伝子導入し、試験管内で中皮腫細胞と反応させたところ、両者ともに中皮腫細胞を殺傷しました。しかし、両者間で細胞表面分子の発現を比較したところ、SKM-28z CAR 発現 T 細胞では細胞疲労に関連する分子 (LAG3, Tim-3, PD-1) の発現量がより多いという違いが認められました。

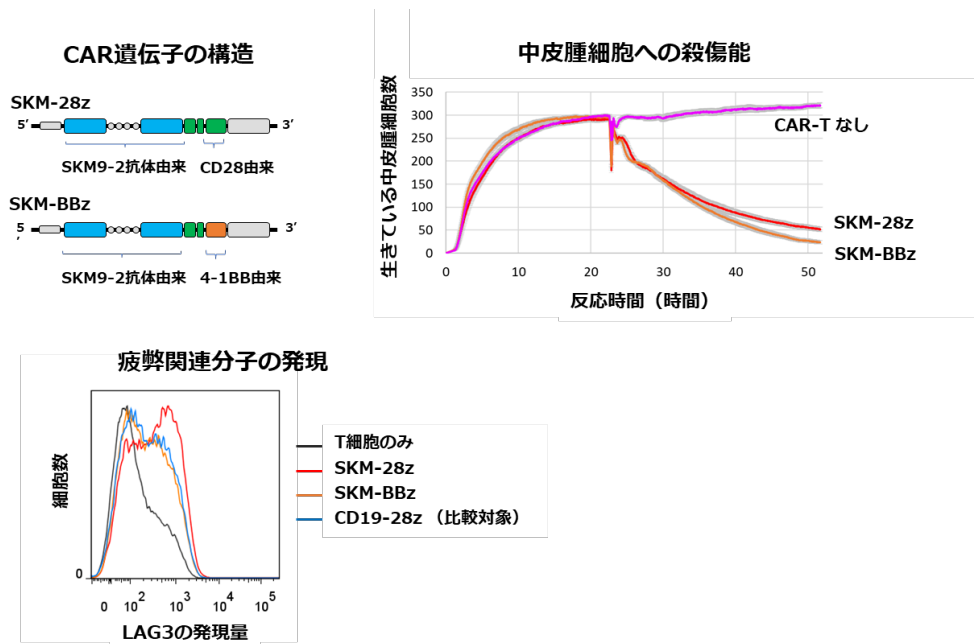


図1 CAR-T細胞の試験管内での比較

2) マウスモデルを用いた生体内での中皮腫抑制能の比較 (図2)

CAR-T 細胞が生体内での悪性中皮腫の増殖を抑えることができるかを検証するため、マウスモデルを作成しました。免疫不全マウスの皮下にヒト中皮腫細胞株 ACC-MES04 を接種したのち、SKM-28z CAR-T 細胞あるいは SKM-BBz CAR-T 細胞を血管内に投与したところ、SKM-BBz CAR-T 細胞を投与したマウスでは腫瘍の増大が起こらなかったのに対し、SKM-28z CAR-T 細胞を投与したマウスでは腫瘍増大が抑えられません

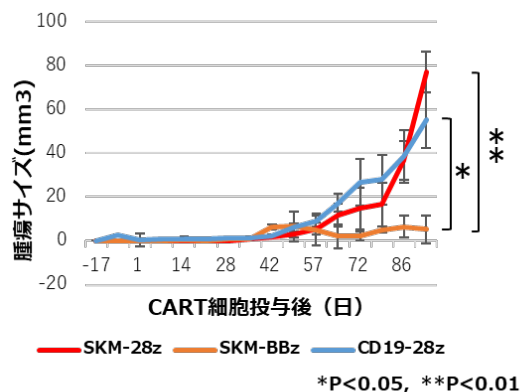


図2 マウスモデルでの中皮腫抑制能の比較

でした。つまり、試験管内では腫瘍細胞を攻撃できる2つのCAR-T細胞のうち、SKM-BBz CAR-T細胞のみが生体内で抗腫瘍活性を持つことがわかりました。

3) 2つのCAR-T細胞でのリンパ球活性化シグナルの比較 (図3)

SKM-BBz CAR-T細胞のみが生体内での活性を持つ原因を明らかにするため、SKM-28z CAR-T細胞およびSKM-BBz CAR-T細胞での細胞内シグナルを解析したところ、SKM-28z CAR-T細胞では強いNFATシグナルの活性化が見られたのに対し、SKM-BBz CAR-T細胞では認められませんでした。さらに、それぞれのCAR-T細胞での発現遺伝子を解析し比較検討したところ、SKM-BBz CAR-T細胞ではNFκBシグナルが活性化され、細胞死に関わる遺伝子 (BAK1, Bim) の発現が低く、疲弊状態で消失する遺伝子 (TCF7, CCR7) の発現が高いことがわかりました。



図3 遺伝子発現の比較

これらの結果から、SKM-BBz CAR-T細胞では疲弊状態が誘導されておらず、増殖能・生存能も高いことから、生体内で長期間に生存し中皮腫細胞の増殖を抑えているものと推測されました (図4)。

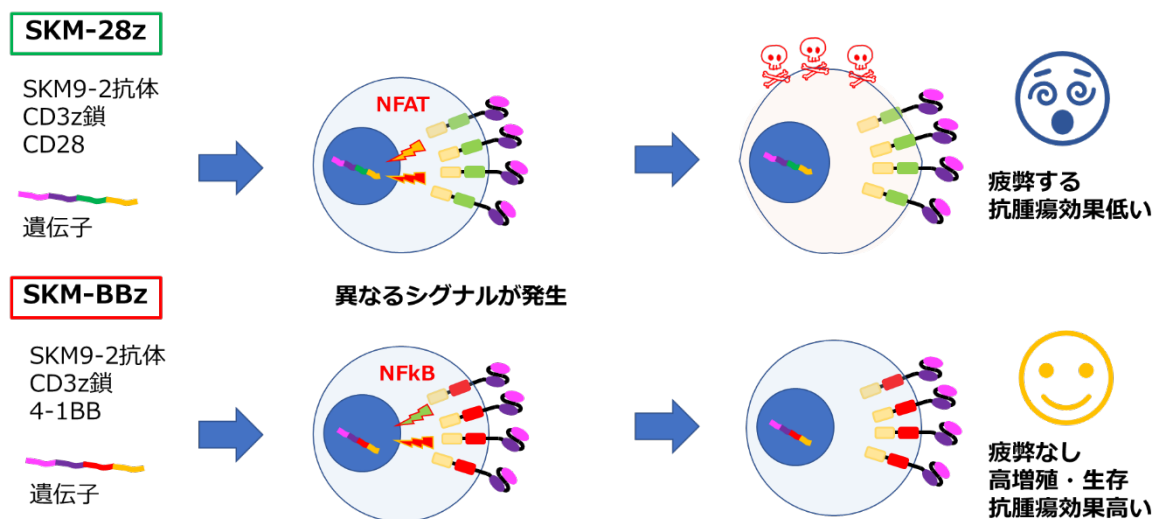


図4 遺伝子構造による細胞内シグナル伝達・抗腫瘍効果の違い

本研究の意義

本研究の成果として、悪性中皮腫を高感度かつ特異的に識別できるモノクローナル抗体を用いて作成した CAR-T 細胞が悪性中皮腫を攻撃できることが証明されました。特に、4-1BB 由来のシグナル伝達部位を使うことで、十分な抗腫瘍活性を持つ CAR-T 細胞が作れることがわかりました。今後、ヒトに投与できる形の CAR-T 細胞を開発し、悪性中皮腫患者に対する新規治療法として臨床応用されることが期待されます。また、シグナル伝達部位の違いと CAR-T 細胞の疲弊・生存との関連が明らかとなりましたので、中皮腫以外の固形がんに対する CAR 遺伝子の設計にも有用な情報が提供できるものと考えます。

発表雑誌と支援を受けた研究費

雑誌名

International Journal of Cancer

タイトル

Novel chimeric antigen receptor-expressing T cells targeting the malignant mesothelioma-specific antigen sialylated HEG1

著者名

Taku Kouro^{1,2}, Naoko Higashijima¹, Shun Horaguchi^{1,2,3}, Yasunobu Mano^{1,2}, Rika Kasajima⁴, Huihui Xiang⁴, Yuki Fujimoto¹, Hiroyuki Kishi⁵, Hiroshi Hamana⁵, Daisuke Hoshino⁶, Hidetomo Himuro^{1,2}, Rieko Matsuura⁷, Shoutaro Tsuji^{7,8}, Kohzoh Imai⁹, and Tetsuro Sasada^{1,2}

所属

1. 神奈川県立がんセンター 臨床研究所 がん免疫療法研究開発学部
2. 神奈川県立がんセンター がんワクチン・免疫センター
3. 日本大学医学部 小児外科学教室
4. 神奈川県立がんセンター 臨床研究所 がん分子病態学部
5. 富山大学学術研究部医学系 免疫学講座
6. 神奈川県立がんセンター 臨床研究所 がん生物学部
7. 神奈川県立がんセンター 臨床研究所 がん治療学部
8. 群馬医療福祉大学 医療技術学部
9. 神奈川県立がんセンター 臨床研究所

DOI 番号 <https://doi.org/10.1002/ijc.34843>

掲載日 2024 年 1 月 11 日 (オンライン掲載)

本研究は、主に国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 次世代がん医療創生研究事業 (P-CREATE) および内藤記念科学奨励金・研究助成の研究支援により実施されました。

用語説明

(注1) 悪性中皮腫

肺を包む膜 (胸膜) や、おなかの内側 (腹腔) を覆う腹膜などに存在する中皮細胞から発生する悪性腫瘍です。発症原因の 1 つとしてアスベスト (石綿) が知られおり、過去のアスベスト使用量の増加と並行して発症

件数が増加しています。手術、放射線療法、薬物療法（抗がん剤、免疫チェックポイント阻害薬）などによる治療が行われますが、難治性が高く新しい治療法の開発が望まれています。

（注2） キメラ抗原受容体（CAR）

人工的に作られた、T細胞を活性化させる受容体です。キメラ抗原受容体の細胞外領域は、抗体の抗原結合部位から出来ており、特定の抗原と結合することができます。細胞内領域は、T細胞を活性化させる受容体（CD3、CD28、4-1BB など）の活性化シグナルを伝達する領域から出来ています。この受容体は、細胞外領域を使って腫瘍細胞表面の抗原と結合し、細胞内領域を使ってT細胞を活性化させることにより、腫瘍細胞を殺傷することができます。

（注3） T細胞の疲弊

T細胞の疲弊は、多くの慢性感染やがんにおいて生じるT細胞の機能不全状態であり、細胞が増殖しにくくなったり、感染細胞や腫瘍細胞を殺傷する機能が低下します。T細胞が持続的に、過剰なシグナルを受けると、疲弊状態が誘導されると考えられています。

問い合わせ先

【研究に関すること】

神奈川県立がんセンター 臨床研究所

紅露 拓

笹田 哲朗

TEL : 045-520-2222

Email : kouro.3v70h[at]kanagawa-pho.jp

sasada.0980e[at]kanagawa-pho.jp

【報道に関すること】

神奈川県立がんセンター 総務企画課

TEL : 045-520-2222（内線 2106）

Email : mizushima.16057[at]kanagawa-pho.jp

※上記の[at]は@に置き換えてください。