

個別化 CAR-T 細胞療法の開発

井上 聡

慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 がん免疫研究部門

【研究の背景】

キメラ抗原受容体(chimeric antigen receptor, CAR) T 細胞に代表されるように、特定のがん抗原を認識する T 細胞を体外で準備して輸注する免疫細胞療法が難治がんに対する治療法として注目されている。しかし大半の悪性腫瘍に対しては持続的な治療効果が得られていないのが現状である。現在、主に T 細胞の質や免疫抑制環境に着目して抵抗性を克服する手法の開発が進められている。CAR-T 細胞などの免疫細胞療法による治療が奏功しない原因として、CAR-T 細胞の長期生存能の欠如、腫瘍細胞表面上の標的抗原の消失、腫瘍微小環境による細胞傷害活性の抑制などが知られており、これらを改善するための改良が試みられている。一方、がん細胞固有の性質として T 細胞の細胞傷害活性に対する抵抗性を獲得している可能性もあり、実際、T 細胞が産生する Granzyme B に対する腫瘍細胞型の抵抗性機序、TRAIL 誘導性細胞死シグナルの欠如、PI3K-Akt シグナルの恒常的活性化による抵抗性獲得などが報告されている。しかし、これらの抵抗性機序は殆ど不明である。

【目 的】

キメラ抗原受容体(chimeric antigen receptor, CAR) T 細胞を始めとする免疫細胞療法が難治性腫瘍に対する治療法として注目されているが、大半の悪性腫瘍に対しては持続的な治療効果が得られていない。申請者は、抗腫瘍 T 細胞に対して抵抗性を示す腫瘍細胞が、固有の抵抗性機序・因子を有するという仮説を立てた。CAR-T 細胞に対する腫瘍細胞株感受性データベースを構築し、遺伝子発現様式との相関性解析により複数の抵抗性因子を同定する。本研究は抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性型 CAR-T 細胞を併用することで治療成績の改善を目指すものである。

【方 法】

本研究では腫瘍細胞ごとの細胞内の固有の性質として、抗腫瘍 T 細胞に対する感受性が異なり、このことが CAR-T 細胞などの免疫細胞療法の治療効果に関わっているという仮説を立て、以下の研究を遂行した。

1. CAR-T 細胞に対する感受性データベースの作製
2. 腫瘍細胞側の抵抗性因子の同定
3. 抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性 CAR-T 細胞の併用療法の有用性の検証

【結 果】

1. CAR-T 細胞に対する感受性データベースの作製

抗癌剤や分子標的薬に対する腫瘍細胞株の感受性データは網羅的に取得・公開され、新規治療法の選択や開拓に活用されている。申請者は CAR-T 細胞を「生きた医薬品」として捉え、CAR-T 細胞感受性データベースを作成している。腫瘍細胞株に CD19 抗原を安定導入した上で、CD19 に対する CAR-T 細胞による細胞傷害効果を定量化した。これにより抗原や T 細胞の質、周囲環境の影響を排除して、純粹に腫瘍細胞自体の CAR-T 細胞による攻撃に対する感受性を評価した。127

種類の腫瘍細胞株で感受性データを比較解析した結果、腫瘍細胞ごとに感受性が異なり、臓器別に一定の傾向はないことから、個々の細胞の性質に依存し得ることが示唆された。

2. 腫瘍細胞側の抵抗性因子の同定

腫瘍細胞株の CAR-T 細胞感受性データと遺伝子発現・変異データの相関性解析を行った。複数の遺伝子群が抵抗性細胞株で高発現していた。このように感受性データと遺伝子プロファイルを組み合わせることで、抵抗性因子を抽出できるという proof-of-concept を取得した。

3. 抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性 CAR-T 細胞の併用療法の有用性の検証

抵抗性因子の阻害により CAR-T 細胞に対する感受性が高まるか否かを検証する。実際の治療局面では遺伝子破壊よりも阻害剤が現実的な選択肢となるが、T 細胞へも薬効が及ぶことになり、有効な抗腫瘍効果を誘導出来ないことが予想される。そこで薬剤耐性遺伝子を CAR 遺伝子とともに共導入することにより、薬剤耐性型 CAR-T 細胞を作製した。例えば抗細胞死因子 BCL2 は阻害薬として Navitoclax、耐性変異として *Bcl2* p.G101V が報告されている。薬剤耐性変異 (*Bcl2* p.G101V) を遺伝子導入した CAR-T 細胞と BCL2 阻害薬を抵抗性細胞株に対して併用したところ、抵抗性の克服が認められた。この結果は本研究戦略の妥当性・有効性を示唆する結果といえる。同様の結果が、複数の抵抗性因子についても併用治療効果が認められた。今後、PDX モデルに対しても同様の併用治療効果改善がみられるかを検証することで、臨床への応用性を検証する。

【考 察】

CAR-T 細胞などの免疫細胞治療効果改善のための研究は、T 細胞の質(長期生存能付与、疲弊の抑制)、抗原認識受容体の改変、免疫抑制性微小環境の解析が多く、腫瘍細胞に内在する抵抗性に焦点を当てた研究は少ない。本研究では、腫瘍細胞自体の特性として、抵抗性因子を網羅的に抽出することに成功し、これらの抵抗性因子に対する阻害剤を併用することによって、治療抵抗性の克服が可能であることを示せたことは、CAR-T 細胞に対して治療抵抗性を示す多くの腫瘍に対する新たな治療戦略を提示したという点において、意義深いと思われる。一方で本研究は、細胞株を対象とした結果に留まっており、今後、患者由来の初代培養細胞を用いた解析が重要となってくると思われる。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

本研究成果により、がん遺伝子パネル検査結果に基づいた個別化至適医療の選択肢が、現行の分子モダリティに加え、細胞モダリティ(CAR-T 細胞)にも波及する可能性がある。また本研究成果は CAR-T 細胞治療のみならず養子免疫療法全般(例:TCR 導入による抗腫瘍 T 細胞)や T 細胞による細胞傷害活性を利用した他のがん免疫療法にも応用可能である。