

【目的】腫瘍抗原を特異的に認識する T 細胞を体外で準備し、患者に輸注することで腫瘍細胞を攻撃させる養子免疫療法は、CD19 に対するキメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor : CAR) 導入 T 細胞 (CAR-T 細胞) 療法が B 細胞性腫瘍に著効したことから注目されているが、固形腫瘍に対する CAR-T 細胞療法では十分な臨床効果が得られていないのが現状である。これまでの臨床試験データの解析から、輸注した抗腫瘍 T 細胞が体内で長期間生存することが持続的な治療効果と深く関わることがわかっている。本研究では、T 細胞性リンパ腫関連遺伝子に着目して、これらの変異遺伝子を抗腫瘍 T 細胞に導入することにより、優れた長期生存能、抗腫瘍効果を誘導することを目的とした。

【方法】T 細胞性リンパ腫で見られる遺伝子変異はレトロウイルスプラスミドに組み込み、ヒト T 細胞に導入した。またリンパ腫で欠失・機能喪失などが見られる遺伝子は、CRISPR/Cas9 によるノックアウトを電気穿孔法により行った。ヒト T 細胞のソースは、健康人由来の末梢血単核球を用いた。CD19 に対する CAR 遺伝子として、クローン FMC63 由来の単鎖可変領域フラグメントに CD28、CD3z の細胞内ドメインを連結した第二世代 CAR を使用した。In vivo における T 細胞の生存能評価は、NSG マウスにヒト T 細胞を輸注することにより行った。遺伝子発現プロファイルは RNA シークエンスにより解析した。

【結果】T 細胞性リンパ腫で見られる変異遺伝子・欠失遺伝子をヒト末梢血 T 細胞に個別に導入して、in vitro における長期培養下における生存能への影響を評価したところ、変異遺伝子では CD28 T195P、TP53 R248Q、欠失遺伝子については PRDM1 が T 細胞の長期生存能を高める有望な標的遺伝子として同定された。特に PRDM1 をノックアウトした T 細胞では、長期生存能の指標となるメモリー形質が有意に維持されていた。PRDM1 ノックアウト T 細胞の性質についてさらに解析を進めた。同遺伝子をノックアウトした CAR-T 細胞を NSG マウスに輸注したところ、コントロール T 細胞と比較して in vivo において生存能が優れていることを確認できた。また PRDM1 ノックアウト T 細胞は移植マウスに xenogeneic GVHD による体重減少を引き起こし、in vitro の解析で未分化なメモリー分画を維持していたことと合致する結果であった。次に、PRDM1 のノックアウトにより起こる遺伝子発現プロファイル変化を、RNA シークエンスにより網羅的に解析した。未分化な T 細胞で発現が亢進している既知の遺伝子群 (例えば表面抗原 CCR7、IL7R、転写因子 TCF7、LEF1、BACH2 など) を用いて gene set enrichment analysis (GSEA) を行ったところ、表面抗原解析結果と合致して、PRDM1 ノックアウト T 細胞で有意な発現上昇が見られた。これらのことから PRDM1 ノックアウトはゲノムワイドに T 細胞の遺伝子発現変化を起こすことで、T 細胞の機能変容を誘導できることがわかり、抗腫瘍 T 細胞における修飾標的として有望であると考えられた。

寄生虫による腸内細菌依存的な 1 型糖尿病抑制メカニズム

