

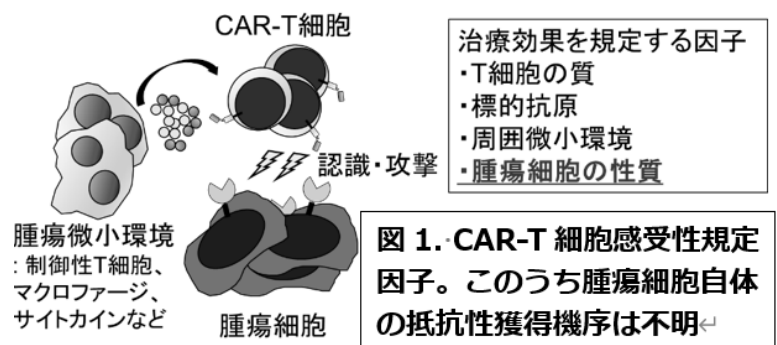
# 新規 CAR-T 細胞治療法の開発基盤の構築

愛知県がんセンター研究所

腫瘍免疫応答研究分野・ユニット長 井上 聡

## 1. 研究の背景・目的

(背景) キメラ抗原受容体(chimeric antigen receptor, CAR) T 細胞は体外で特定のがん抗原に対する T 細胞を調整して輸注することで、難治がんに対する根治を目指す細胞免疫療法である。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、抵抗性を克服する手法の開発が進められている。現在、主に焦点があたっているのは T 細胞の質、免疫抑制環境といった側面である (Fraiotta et al. *Nat Med* 2018; Martinez et al. *Front Immunol* 2019)。一方、T 細胞の機能低下や周辺環境とは独立して、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、一部のがん細胞で見られる 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 (Jia *Nature* 2018; Zaretsky JM *NEJM* 2016)。しかし、これらの抵抗性獲得につながる詳細な機序(固有のゲノム・エピゲノム異常、遺伝子発現プロファイルなど)については不明の点が多く、CAR-T 細胞治療抵抗性の克服や個別化至適治療法の実現の目処すら立っていないのが現状である (図 1)。



このような状況を打破すべく申請者は、がん細胞そのものの性質として、CAR-T 細胞に対する感受性が異なる可能性を考え、CAR-T 細胞に対する抵抗性を示すがん細胞は、固有の抵抗性因子・機序を有しており、このことが CAR-T 細胞療法に対する治療効果に大きく関わっているという仮説を立て、本研究計画を立案した。本研究では、T 細胞による細胞傷害活性に対する抵抗性に関わる、がん細胞固有の分子機序を明らかにし、この分子標的を阻害することで CAR-T 細胞療法の治療効果を高めるとい、がん種横断的な治療効果が期待出来る新しい個別化至適 CAR-T 細胞治療戦略の開発を目指すことを目的とした。

## 2. 研究の対象並びに方法

上述の仮説を検証するために、以下の計画に基づいて研究を行った。

### ①がん細胞株 CAR-T 細胞感受性データベースの作製

CCLC (Cancer Cell Line Encyclopaedia)において遺伝子発現やゲノム・エピゲノム異常、薬剤感受性などの情報が公開されているがん細胞株を臓器横断的に86種類収集した。レトロウイルスによりCD19-P2A-EGFPを安定導入したがん細胞株とCD19に対するCAR-T細胞の共培養を行うことで、個々の細胞株のCAR-T細胞感受性（細胞傷害活性）を評価する。

②がん細胞側のCAR-T細胞抵抗性因子の同定

がん細胞株におけるCAR-T細胞感受性データと遺伝子発現・変異データ照合により、CAR-T細胞感受性因子の同定を試みる。

③CAR-T細胞抵抗性因子の阻害が免疫細胞療法の治療効果を高められること証明

抽出した抵抗性因子について、薬剤や遺伝子レベルでのノックアウト等の手法を用いて阻害した際に、CAR-T細胞への感受性が高まるかどうかを*in vitro*での評価する。実際の治療局面では阻害剤の使用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る。標的とする経路がT細胞の機能・生存にとっても重要である場合、がん細胞の細胞傷害活性への感受性を高められたとしても有効な抗腫瘍効果の誘導につながらないことが予想される。そこで特異性の高い阻害剤においては標的とする分子の薬剤結合部位などに変異を有する遺伝子をCAR遺伝子とともに共導入することで、野生型の分子が阻害された場合でも機能低下を来さない、薬剤耐性CAR-T細胞を作製する（図3右モデル図）。

3. 研究結果

①がん細胞株CAR-T細胞感受性データベースの作製

86種類の細胞株とCD19-CAR-T細胞を共培養することによりCAR-T細胞感受性（細胞傷害活性）を評価したところ、がん細胞ごとに感受性が異なっていた（図表2）。これは、がん細胞そのものに内在する抵抗性機序という仮説を支持する結果といえる。今後、200種類の細胞株まで拡大させ、がん細胞におけるCAR-T細胞感受性因子（遺伝子変異、発現変化）を網羅的に同定可能となる世界初のデータベースを完成させる。

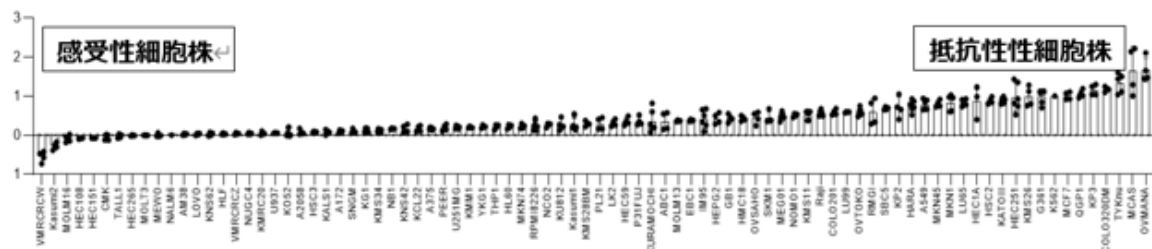


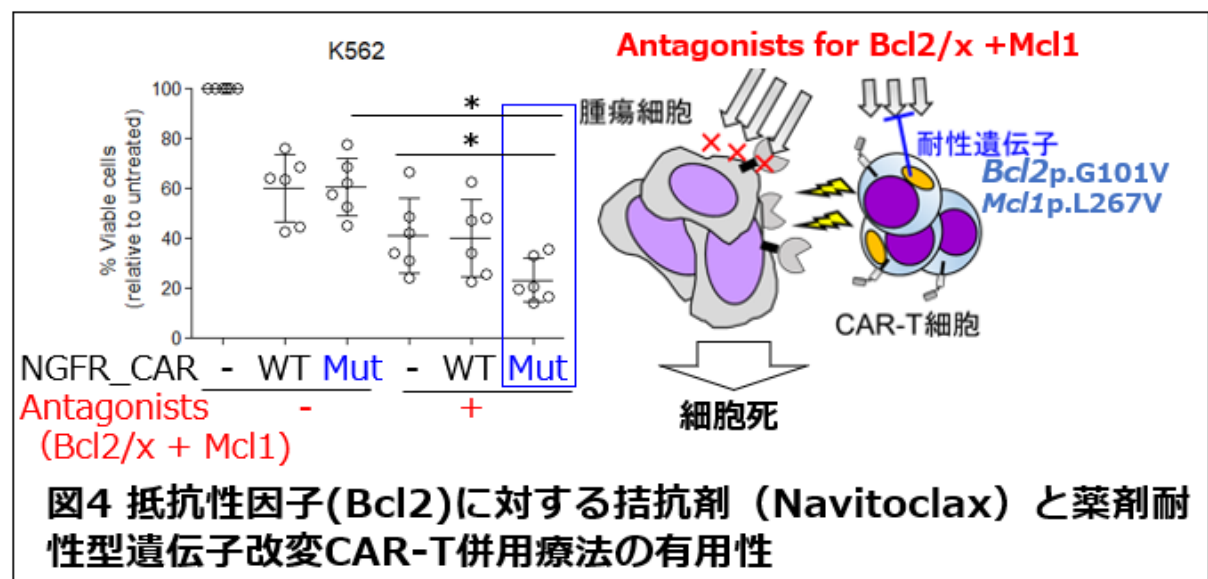
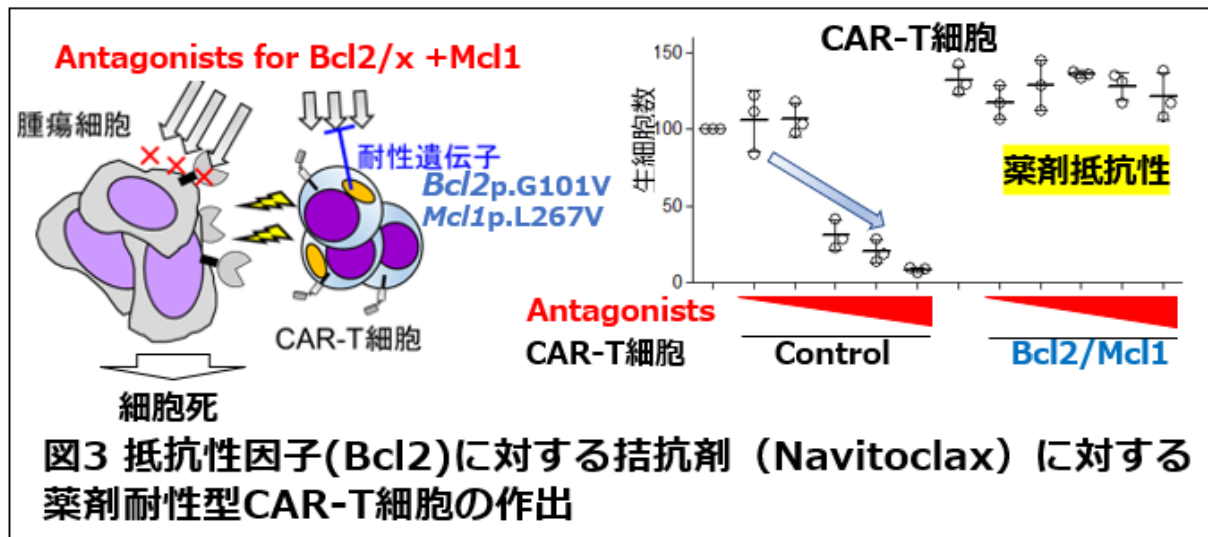
図 2. CD19 遺伝子導入がん細胞株の CAR-T 細胞に対する均一条件下での感受性定量結果。縦軸は相対値で、数値が大きいほど抵抗性を示す。既に 86 種類の細胞株のデータ取得済。

②がん細胞側のCAR-T細胞抵抗性因子の同定

図表2のCAR-T細胞感受性データと個々の細胞株の遺伝子発現プロファイルをGene set enrichment analyses (GSEA)により同定を試みた。その結果、抵抗性がん細胞株に有意に多く見られる遺伝子群として抗細胞死などの複数の遺伝子群の同定に成功した。

③CAR-T細胞抵抗性因子の阻害が免疫細胞療法の治療効果を高められること証明

抵抗性因子候補として抽出された抗細胞死因子である Bcl2 は、既に拮抗剤と耐性変異が報告されている。そこで、薬剤耐性変異遺伝子 (*Bcl2* p.G101V) 導入した薬剤耐性型 CAR-T細胞を作出し、Bcl2拮抗剤(Navitoclax)と併用したところ、遺伝子改変型 CAR-T細胞は薬剤耐性を獲得し、その結果、CAR-T細胞抵抗性細胞株の感受性が顕著に上昇した(図4)。



4. 考察

がん遺伝子パネル検査を活用することで、個々のゲノム・エピゲノム異常に対応した至適治療薬の選択が可能となり、「個別化がんゲノム医療」の時代に突入している。分子標的薬の開発や新規個別化治療法の開拓研究では、データベースにおいて公開されているがん細胞株や臨床検体における個々の遺伝子変異・発現プロファイルと薬剤感受性データとの相関性を解析することで、多くの薬剤感受性因子の同定に成功している。本研究において大

規模 CAR-T 細胞感受性データベースを作成し、がん細胞における抵抗性因子を網羅的に同定し、個々の抵抗性因子に対する阻害剤と併用することで、「がんゲノム医療」の治療選択肢が、既存の分子モダリティに加え、細胞モダリティ（CAR-T 細胞）にも波及することを可能にする意義深い研究と思われる。

## 5. 文献

1. Yoshikawa T, Wu Z, Inoue S, Kasuya H, Matsushita H, Takahashi Y, Kuroda H, Hosoda W, Suzuki S, Kagoya Y. Genetic ablation of PRDM1 in antitumor T cells enhances therapeutic efficacy of adoptive immunotherapy. *Blood* 2022;139: 2156- 2172.

## 6. 論文発表

本研究に関連した知財申請を行うため、現段階では論文発表を行っていない。