

HPV 特異的 T 細胞受容体の相補性決定領域 3 改変による高親和性化の検討

愛知県がんセンター研究所
腫瘍免疫制御 TR 分野 研究員 小笠原仁子
愛知県がんセンター研究所
腫瘍免疫制御 TR 分野 分野長 松下博和

1. 研究の背景・目的

女性生殖がんの中で、子宮頸がんは子宮体がんについて 2 番目に多いがんである。国内では毎年約 1 万人以上が子宮頸がん罹患し、約 3000 人が死亡している。また 2000 年以降、患者数も死亡率も増加している

(<https://www.jsog.or.jp/>)。日本では、子宮頸がんの予防ワクチンの普及が滞っているため、今後も患者数の減少は見込めない。したがって、特に日本において子宮頸がん患者に対する新たな治療法の開発が喫緊の課題である。

子宮頸がんの発症の主な危険因子は、高リスク型 HPV の持続感染であり、特に HPV-16 型は子宮頸がん症例の半数以上を占める (Kukimoto et al. J Infect Dis 2015)(1)。腫瘍細胞で発現する HPV-16 オンコプロテイン E6 及び E7 は、腫瘍形成及び悪性形質の維持に不可欠であるため、抗原消失が起こりにくい。さらに、これらのオンコプロテインは、非自己成分であることから免疫系の理想的な標的となりうる。また、HPV-16 陽性患者のほとんどすべてが、強くはないが HPV に特異的な応答を有することが報告されていることから、E6 及び E7 に対する特異的 T 細胞及び T 細胞受容体 (TCR) を得ることが可能と考えられる。

がん・精巢抗原である NY-ESO-1 に特異的な T 細胞は、担がん患者より単離しても、中-低親和性の TCR を持つものしか得られない。そこで、担がん患者から得られた NY-ESO-1 特異的 TCR を高親和性 TCR に改変し、その TCR を遺伝子導入した T 細胞治療を行うことで治療効果が得られたことが報告されている (2)(Rapoport et al, Nat Medicine 2015)。したがって、強い TCR を誘導できない HPV-16 E6 及び E7 に特異的な T 細胞についても、NY-ESO-1 に対する T 細胞と同じことが言える可能性がある。本研究の目的は、HPV 陽性子宮頸がん患者に対する有効な免疫療法を開発するために、HPV-16 E6 及び E7 に特異的

な T 細胞及び TCR を取得し、その TCR の親和性を高めることである。最近、TCR の相補性決定領域 3 (complementarity determining region 3: CDR3) のアミノ酸を置換することで高親和性の TCR が得られたことが報告されている(3) (Sidhom et al, Nat commune 2021)。したがって、HPV-16 に特異的な高親和性の TCR が取得できれば、将来、その TCR を導入した T 細胞移入治療が HPV-16 陽性子宮頸がん患者に実施可能であり、予後を改善できる可能性がある。また、当分野では子宮頸がん検体以外にも、当センター頭頸部外科部と共同で HPV-16 陽性中咽頭がんの検体を収集している。したがって同じ HPV-16 を発現する中咽頭がん患者に対しても同様のアプローチが可能になる。さらに他の HPV-16 陽性がん（肛門がん等）に対する TCR 遺伝子導入 T 細胞移入治療への道も拓ける。

2. 研究の対象ならびに方法

本研究では、次の三つの研究実施計画を遂行する。①子宮頸がん患者の検体より HPV-16 特異的 T 細胞 (TCR) を取得する。②その TCR の相補性決定領域 3 (complementarity determining region 3: CDR3) のアミノ酸を置換して高親和性の TCR を取得する。③改変型 TCR 遺伝子を導入した T 細胞の細胞傷害活性を、改変前の TCR 遺伝子を導入した T 細胞と比較検討する。最終的には臨床に応用可能な T 細胞移入治療用の高親和性 TCR を取得することを目指す。

子宮頸がん患者検体からの HPV-16 特異的 T 細胞 (TCR) の同定

まずは、当センターで過去に同定された HLA-A24:02 拘束性の HPV-16 E6 エピトープ (E649-57) (4)(Morishima et al, Int J Cancer 2007) に焦点をあてて、この HLA-A24/E649-57 に特異的な T 細胞の同定を行う。これまでに、埼玉医科大学国際医療センター婦人科腫瘍科との共同研究で、子宮頸がん 116 例の血液検体を保存しており、これらの患者の末梢血単核細胞 (PBMC) を、HPV-16 E649-57 ペプチドを導入した自己 B 細胞由来抗原提示細胞 (B-APC) で数回刺激し、HLA-A24/E649-57 テトラマーで染色して、フローサイトメーターで陽性細胞をソートして抗原特異的 T 細胞集団を単離する。テトラマー陽性細胞の中には複数の TCR を持つ T 細胞が存在すると考えられるため、それぞれの TCR 遺伝子を導入した T 細胞を作製し親和性を比較する。

高親和性 TCR への改変

強い親和性を持つ TCR を得るため、①で比較的強かった TCR を用いて、TCR の CDR3 アミノ酸配列の中央部分 (3-4 番目) のそれぞれのポジション

のアミノ酸を他の 19 種類のアミノ酸に置換した TCR を順次合成し親和性を比較検討する。TCR の CDR3 の中央部分の疎水性が高いほど変異抗原に対する固有 TCR が多いことが報告されていることから(5) (Li et al, Nat Genet 2016)、この部分のアミノ酸を、疎水性アミノ酸に置換した際に強い親和性がみられるかどうか等を検討しながら、最終的に高親和性の TCR を取得する。

3. 研究結果

4. 考察

本年度は本研究助成のもと、HPV 陽性子宮頸癌の抗原提示細胞誘導を行うことができた。

さらに研究費の獲得につながり、今後の研究を進めるはずみとなった。

最後になりますが、本助成により貴重な研究の機会をいただき、ご評価いただきました審査員の先生方、またサポートいただきました事務局の方々に、深く感謝申し上げます。

5. 文献

1. Kukimoto I, Muramatsu M. Genetic variations of human papillomavirus type 16: Implications for cervical carcinogenesis. Vol. 68, Japanese Journal of Infectious Diseases. National Institute of Health; 2015. p. 169–75.
2. Rapoport AP, Stadtmauer EA, Binder-Scholl GK, Goloubeva O, Vogl DT, Lacey SF, et al. NY-ESO-1-specific TCR-engineered T cells mediate sustained antigen-specific antitumor effects in myeloma. Nat Med. 2015 Aug 8;21(8):914–21.
3. Sidhom JW, Larman HB, Pardoll DM, Baras AS. DeepTCR is a deep learning framework for revealing sequence concepts within T-cell repertoires. Nat Commun. 2021 Dec 1;12(1).
4. Morishima S, Akatsuka Y, Nawa A, Kondo E, Kiyono T, Torikai H, et al. Identification of an HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope from human papillomavirus type-16 E6: The combined effects of bortezomib and interferon- γ on the presentation of a cryptic epitope. Int J Cancer. 2007 Feb 1;120(3):594–604.
5. Li B, Li T, Pignon JC, Wang B, Wang J, Shukla SA, et al. Landscape of tumor-infiltrating T cell repertoire of human cancers. Nat Genet. 2016 Jul 1;48(7):725–32.

6. 論文発表
未