

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 久保裕

主論文 1編

Development of non-viral ligand-dependent EPHB4-specific chimeric antigen receptor T cells for treatment of rhabdomyosarcoma.

Molecular Therapy-Oncolytics 20;646-658,2021

審査結果の要旨

キメラ抗原受容体 T 細胞(CAR-T 細胞)療法は、従来の医療では治癒しえなかった再発・難治性腫瘍に対しても有効な新規治療法として期待されているが、造血器腫瘍と比較すると固形腫瘍に対する CAR-T 細胞療法の効果は未だ限局的である。受容型チロシンキナーゼである EPHB4 は受容体型チロシンキナーゼの Eph ファミリーの 1 つであり、一部の臓器を除いて成熟正常組織にほとんど発現が見られないが、横紋筋肉腫(RMS)を含む多くの腫瘍で高発現していることから、理想的ながん抗原として、免疫療法の治療標的になりうると言われている。

申請者は、piggyBac transposon(PB)法を用いて、EPHB4 を特異的に認識する CAR-T 細胞を作成し、難治性小児がんを代表する横紋筋肉腫において、その細胞特性、抗腫瘍効果、安全性を評価することを目的とした。ヒト末梢血単核球に、EPHB4 を特異的に認識する第 2 世代 CAR 遺伝子を PB 法で導入し、EPHB4-CAR-T 細胞を作成した。この EPHB4-CAR-T 細胞は良好な細胞増加と CAR 発現率を示し、免疫逃避マーカーの *PD-1* 発現は僅かであった。横紋筋肉腫細胞株 Rh30 との共培養試験、連続共培養において EPHB4-CAR-T 細胞の持続する高い抗腫瘍効果と EPHB4-CAR-T 細胞の細胞増殖を示した。また、横紋筋肉腫の悪性度や免疫逃避機構との関連が報告されている PAX3-FOXO1 融合遺伝子(P3F)発現は、EPHB4-CAR-T 細胞の抗腫瘍効果や免疫逃避に影響しないことを確認した。さらに、EPHB4-CAR-T 細胞は横紋筋肉腫細胞株以外に、骨肉腫細胞株、乳がん細胞株に対しても強力な抗腫瘍効果を認めた。担がんマウスを用いた検討では、EPHB4-CAR-T 細胞は腫瘍増殖を強力に抑制した。ヒト EPHB4-CAR-T 細胞はマウスの EPHB4 受容体にも交差反応することを示したが、マウスの全身状態の悪化や体重減少など、Off-tumor 毒性は認めなかった。これらの結果から、PB 法で作成された EPHB4-CAR-T 細胞は免疫疲弊による治療効果の減弱を起こすことなく、強く持続的な抗腫瘍効果を示し、機能的に優れていること、さらに、正常組織への Off-tumor 毒性が少なく、安全性が高いことが証明された。

以上が本論文の要旨であるが、申請者の作成した EPHB4-CAR-T 細胞は *In vitro*, *in vivo* において免疫疲弊による治療効果の減弱を起こすことなく、強く持続的な横紋筋肉腫に対する抗腫瘍効果を示し、機能的に優れていることを示した点、様々ながん種に対する新規治療法として発展性がある点で、医学上価値ある研究と認める。

令和 3 年 12 月 16 日

審査委員 教授 武藤倫弘 印
審査委員 教授 橋本直哉 印
審査委員 教授 井上匡美 印