

論文内容の要旨

論文提出者氏名 神部 浩輔

論文題目

Development of Minimally Invasive Cancer Immunotherapy Using Anti-disialoganglioside GD2 Antibody-producing Mesenchymal Stem Cells for a Neuroblastoma Mouse Model

論文内容の要旨

【背景】

神経芽腫 (NB) は副腎や傍脊柱に発生する小児の頭蓋外悪性固形腫瘍で最も頻度の高い腫瘍であるが、現在の集学的治療をもってしても、高リスク患者の 5 年生存率は 30～40%のままであり、新規治療の開発が喫緊の課題である。

間葉系幹細胞 (Mesenchymal Stem Cell: MSC) は、特徴的な能力として、組織損傷部位あるいは腫瘍性病変への遊走能 (homing 効果) を有することが知られており、Drug delivery system として臨床試験が進められている。一方、抗 GD2 モノクローナル抗体を用いた免疫療法は、高リスク NB 患者の生存率を大幅に改善することに成功しており、COG における高リスク患者の標準治療に組み込まれている。GD2 は神経芽腫、メラノーマ・乳癌等に高率に発現し、抗腫瘍抗体の標的として理想的であるが、正常神経組織・皮膚・メラノサイトにもわずかに発現しており、抗 GD2 抗体療法は全身副作用として強い神経疼痛が出現する。これは治療効果を減弱させる主要な要因であり、依然として完全な解決策がない。このジレンマの抜本的解決として、我々は新規細胞性免疫療法である Anti-GD2-MS C の開発を行ってきた。これまで高リスク NB 自然発生モデルである MYCN トランスジェニックマウス (MYCN-TgM) を用いた MSC の腫瘍特異的な集積と、Anti-GD2-MS C (ヒト IgG) の in vitro での GD2 抗原親和性及び抗体依存性細胞障害 (ADCC) 活性による抗腫瘍効果を示した。しかし Anti-GD2-MS C により MYCN-TgM においてその生存率を有意に延長させることはできなかった。

本研究では、マウス IgG を導入した Anti-GD2-MS C を開発し、NB マウスモデルにおいて in vivo での抗腫瘍効果を検証した。

【方法】

GD2 に対する単鎖可変領域フラグメント (scFv) とヒトからマウスに変更した IgG1Fc 領域をリンカー配列で結合し、GFP を組み込んだ抗 GD2 抗体コンストラクト (14.G2a-Fcx2-FLAG) を作製し、これを MSC に導入した。抗 GD2 抗体の分泌はウエスタンプロ

ットティングで検出し、GD2 陽性 NB 細胞株に対する抗原結合能力をフローサイトメトリーで検証した。また MYCN-TgM から腫瘍組織片を同系 wild マウスに皮下移植して syngeneic マウスモデルを開発し、Anti-GD2-MS C の in vivo Homing 効果を IVIS にて検証した。本マウスモデルを、Anti-GD2-MS C+IL-2、IL-2、PBS 投与群に分けて局注を行い、皮下腫瘍の大きさを経時的に測定した後、腫瘍を摘出し、腫瘍内の NK 細胞数を測定した。

【結果】

Anti-GD2-MS C は腹腔内投与にて、syngeneic マウスの皮下腫瘍に 7 日間の Homing 効果を示した。皮下腫瘍の増大速度は、Anti-GD2-MS C+IL-2 群で有意に抑制された ($p < 0.05$)。治療後の皮下腫瘍を免疫染色したところ、Anti-GD2-MS C+IL-2 群において NK 細胞の浸潤が有意に増加した ($p < 0.01$)。

【考察】

マウス IgG Anti-GD2-MS C は、syngeneic マウスモデルにおいて Homing 効果と腫瘍増殖抑制効果を示した。Anti-GD2-MS C を用いた細胞療法は低侵襲がん免疫細胞療法として転移巣を含む難治性神経芽腫の新しい治療戦略になる可能性がある。