

博士論文審査結果の要旨

学位申請者 末松正也

主論文 1編

PiggyBac Transposon-mediated CD19 Chimeric Antigen Receptor-T Cells Derived from CD45RA-positive Peripheral Blood Mononuclear Cells Possess Potent and Sustained Antileukemic Function.

Frontiers in Immunology 13;770132, 2022

審査結果の要旨

近年、難治性腫瘍の新規細胞免疫療法として遺伝子改変キメラ抗原受容体 T 細胞 (CAR-T 細胞) 療法が開発されており、本邦でも CD19 CAR-T 細胞療法が実施可能となっている。しかし、実臨床で使用されているウイルス遺伝子改変 CAR-T 細胞では、その製造過程で CD3/CD28 抗体による刺激を要するため、CAR-T 細胞完成時には分化が進み疲弊してしまう問題点がある。一方、PiggyBac transposon (PB) 法では、製造過程で CD3/CD28 抗体による刺激を必要としないため、疲弊が少なく未分化な Naïve T 細胞優位の CAR-T 細胞の作成が可能である。また、CAR-T 細胞作成において、最初の末梢血単核球 (PBMC) の分画が最終的な CAR-T 細胞の特徴や機能に影響を与えることが知られている。

申請者は、より質の高い PB 法による CAR-T 細胞を作成すべく、T 細胞分化マーカーの一つである CD45RA に着目をして検討を行った。PBMC を CD45RA ビーズを用いて CD45RA 陽性と陰性 PBMC に選別し、PB 法で各々の CD19 CAR-T 細胞を作成した (RA⁺CAR-T 細胞, RA⁻CAR-T 細胞)。RA⁺CAR-T 細胞と比較して、RA⁺CAR-T 細胞は、CAR 遺伝子の導入効率が良く、細胞増殖が良好で、CD8 発現優位で、疲弊マーカーである PD-1 発現が低く、Naïve/stem cell memory 分画が非常に多かった。両者の遺伝子発現をトランスクリプトーム解析で比較した結果、RA⁺CAR-T 細胞は RA⁻CAR-T 細胞より Naïve/memory 発現が優位で、PD-1 を含む疲弊マーカーの発現が低く、これらの特徴は腫瘍抗原刺激を受けた後の CAR-T 細胞でも同様に保たれていた。B 細胞性急性リンパ性白血病腫瘍株である REH と RA⁺CAR-T 細胞、RA⁻CAR-T 細胞各々の連続共培養試験で、RA⁺CAR-T 細胞、RA⁻CAR-T 細胞ともに REH を完全に殺傷したが、PD-1 発現は RA⁺CAR-T 細胞の方が抑えられており、さらに殺細胞サイトカインである IFN- γ の分泌は RA⁺CAR-T 細胞の方が RA⁻CAR-T 細胞よりも優れていた。また、担がんマウスを用いた検討でも RA⁺CAR-T 細胞投与群は、RA⁻CAR-T 細胞投与群と比較し腫瘍の拡がりを有意に抑えられており、有意な生存曲線の延長を認めた。さらに、長期生存の得られた RA⁺CAR-T 細胞投与群の骨髄検査において、長期間にわたる CAR-T 細胞の増殖と抗腫瘍効果を示した。

以上が本論文の要旨であるが、最初に PMBC を CD45RA で選別し、CD45RA 陽性 PBMC から CD19 CAR-T 細胞を作成する方法は、PB 法における優れた CAR-T 細胞製造法であり、将来的に臨床応用につながる可能性がある点で、医学的価値ある研究と認める。

令和 4 年 2 月 17 日

審査委員 教授 武藤倫弘 ㊞

審査委員 教授 奥田司 ㊞

審査委員 教授 黒田純也 ㊞