



Title	WT1ペプチド特異的T細胞受容体遺伝子を活用した新規 癌免疫療法の基盤的研究
Author(s)	勝原, 晶子
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51983
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認した ため、全文に代えてその内容の要約を公開していま す。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文につい てをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

〔 題 名 〕

WT1ペプチド特異的T細胞受容体遺伝子を活用した新規癌免疫療法の基盤的研究

学位申請者

勝原 晶子

【背景・目的】

癌抗原であるWT1は造血器悪性腫瘍のみならず多くの固形癌に高発現しており、WT1を標的とした癌免疫療法が世界中で行われている。WT1ペプチドワクチンとはWT1特異的なCD8⁺ T細胞（CTL）を誘導することのできるCTLエピトープ（WT1₂₃₅）を癌患者に投与することにより、その体内でWT1特異的CTLを誘導し腫瘍の縮小・根治を目指すものである。現在行われているペプチドワクチン療法の多くが、癌抗原特異的CTLの誘導に焦点を当てているが、理想的な抗腫瘍免疫応答の惹起には、癌抗原特異的CD8⁺ CTLのみならず癌抗原特異的CD4⁺ T細胞を誘導することが望ましいと考えられる。この考えに基づいて、我々は、多数のHLA class II分子に結合し特異的なCD4⁺ T細胞を誘導することの出来るWT1由来ヘルパーペプチドであるWT1₃₃₂を用いて、抗腫瘍免疫応答におけるWT1₃₃₂特異的CD4⁺ T細胞の重要性を明らかにしてきた。しかしながら、WT1特異的CD8⁺ T細胞とWT1特異的CD4⁺ T細胞がどのように協調的に相互作用して強い抗腫瘍免疫応答を誘導するかは不明であり、そのメカニズムの解明には、均一な反応性を持つ癌抗原特異的CD8⁺ T細胞および癌抗原特異的CD4⁺ T細胞を効率的に誘導する実験系の確立が必要である。そこで本研究では、WT1特異的CD8⁺ T細胞およびWT1特異的CD4⁺ T細胞由来のTCR遺伝子を単離し、そのTCR遺伝子の導入により作製される均一な反応性を持つWT1特異的CD8⁺ T細胞およびWT1特異的CD4⁺ T細胞の抗腫瘍免疫応答における機能を詳細に解析することで、新規癌免疫療法の確立を目指す基盤的研究を行うことを目的とした。

【研究内容】

我々がこれまでに樹立してきた多数のWT1₂₃₅特異的CD8⁺ T細胞およびWT1₃₃₂特異的CD4⁺ T細胞クローンよりTCR遺伝子を単離し同定した。このうち、HLA-A*24:02拘束性WT1₂₃₅特異的TCR遺伝子、HLA-DPB1*05:01拘束性WT1₃₃₂特異的TCR遺伝子およびHLA-DRB1*04:05拘束性WT1₃₃₂特異的TCR遺伝子をレンチウイルスベクターを用いてヒトCD8⁺ T細胞もしくはヒトCD4⁺ T細胞に遺伝子導入し、その機能解析を行った。期待した通りに、いずれのTCRを導入されたCD8⁺ T細胞およびCD4⁺ T細胞は、一致するHLA拘束性とWT1ペプチド特異的な免疫反応を示した。興味深いことに、HLA-A*24:02拘束性WT1₂₃₅特異的TCR遺伝子は、腫瘍細胞が発現しない改変型WT1₂₃₅を用いて誘導したT細胞から単離されたにも関わらず、このTCR遺伝子を導入されたCD8⁺ T細胞は、腫瘍細胞

が発現する野生型WT1₂₃₅を認識することができ、実際に白血病細胞を傷害することが可能であった。HLA class II拘束性WT1₃₃₂特異的TCR遺伝子を導入したCD4⁺ T細胞の解析では、CD4⁺ T細胞のよく知られる機能であるが詳細なメカニズムは十分理解されていないヘルパー活性を確認することができた。さらに、新たな知見として、HLA class II拘束性WT1₃₃₂特異的TCR遺伝子を導入したCD4⁺ T細胞は、CD8⁺ T細胞と同様のパーフォリン/グランザイムB経路を用いる細胞傷害活性を持ち、白血病細胞をWT1特異的かつHLA class II拘束性に傷害することが明らかとなった。

【結論】

我々が単離したTCR遺伝子を導入することで、均一な反応性を持つWT1特異的CD8⁺ T細胞およびWT1特異的CD4⁺ T細胞を作製することに成功した。この成果は、現在世界中で進行しているTCR遺伝子導入T細胞療法に応用することができる。また、均一な反応性を持つWT1特異的CD8⁺ T細胞およびWT1特異的CD4⁺ T細胞をプラットフォーム細胞として用いることで、TCRによるHLA/がん抗原ペプチド複合体の認識機構やCD8⁺ T細胞とCD4⁺ T細胞の相互作用などの未だ解明されていない問題を詳細に解析することを可能にする。このように本研究の成果は、抗腫瘍免疫応答の詳細な解析を通して腫瘍免疫学の発展、そして新規癌免疫療法の開発に大きく貢献すると期待される。

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 (勝 原 晶 子)		
論文審査担当者	(職) 氏 名 主 査 教 授 杉 山 治 夫 副 査 教 授 岩 谷 良 則 副 査 教 授 三 善 英 知	
	論文審査の結果の要旨	
	理想的な抗腫瘍免疫応答を惹起するには、その詳細なメカニズムを、均一な反応性を持つ癌抗原特異的CD8⁺ T細胞ならびに癌抗原特異的CD4⁺ T細胞を用いて解明する必要がある。しかし、そのようなT細胞を誘導・作製することは非常に困難であった。 本論文は、癌免疫療法の有望な標的癌抗原であるWT1に注目し、均一な反応性を持つWT1特異的CD8⁺ T細胞およびCD4⁺ T細胞をT細胞受容体 (TCR) 遺伝子導入法により効率的かつ簡便に作製できることを示した。実験手法として、本邦で高頻度に認められるHLA class I分子であるHLA-A*24:02およびHLA class II分子であるHLA-DRB1*04:05もしくはHLA-DPB1*05:01拘束性のWT1特異的TCR遺伝子を単離し、次いで、これらのTCR遺伝子をレンチウイルスベクターを用いてCD8⁺ T細胞もしくはCD4⁺ T細胞に導入した。作製されたWT1特異的CD8⁺ T細胞は、WT1とHLA-A*24:02を共に発現する白血病細胞を傷害することが証明された。また、作製されたWT1特異的CD4⁺ T細胞の詳細な解析により、癌抗原特異的CD4⁺ T細胞の一般的によく知られる機能であるが詳細なメカニズムが未だ明らかでないヘルパー活性を再現することに成功している。さらに、癌抗原特異的CD4⁺ T細胞の新たな機能として、TCRを介した細胞傷害活性をはじめて明らかにした。 本研究で示された均一な反応性を有するWT1特異的CD8⁺ T細胞およびCD4⁺ T細胞の作製に基づく実験システムは、抗腫瘍免疫応答の詳細なメカニズムの解明に寄与し、新規癌免疫療法の開発に貢献するものであり、博士（保健学）の学位授与に値するものである。	