

論文の内容の要旨

論文題目 T細胞受容体及びCD40リガンドの3遺伝子導入T細胞による
腫瘍の実験的治療

指導教官 山本一彦教授

東京大学大学院医学系研究科

平成12年4月入学

医学博士課程

内科学専攻

氏名 定形綾香

要旨

免疫系は、自己を認識し、非自己である異物を排除して生体を正常な状態に保っている。感染症、腫瘍、自己免疫疾患はこの免疫系が関わってくる疾患である。免疫系ではまず抗原提示細胞によって抗原が提示され、これをCD4陽性ヘルパーT細胞が認識する。このCD4陽性T細胞はCD8陽性の抗原特異的な細胞傷害性リンパ球 (cytotoxic T lymphocytes: CTLs) を誘導すると同時にB細胞に抗体産生を促す。腫瘍免疫においては当初直接腫瘍に作用する抗体による治療法の研究が行われていたが、効果は期待されるほどは得られなかった。このため腫瘍を破壊する活性のあるCTLsを中心としたT細胞に注目されるようになった。

ヒトの悪性黒色腫に Rosenberg らが腫瘍浸潤リンパ球 (tumor-infiltrating lymphocytes:TILs) を用いて治療効果がえられたと報告し、腫瘍特異的な T 細胞により認識される腫瘍抗原の同定が行われてきた。CTLs は腫瘍に発現している MHC class I 経由で直接腫瘍を傷害することができ、また多くの腫瘍が MHC class I は発現しているものの MHC class II を発現していないことから、CTLs の研究が進んできた。しかしながら、多くの腫瘍が CTLs からの認識から逃れるため T 細胞のヘルパー機能を活性化する他の手法も研究されてきた。CD4 陽性ヘルパー T 細胞は腫瘍特異的な CTLs のプライミングに重要な役割を果たしているということがわかってきており、腫瘍特異的なヘルパー T 細胞を養子移入することでマウスの腫瘍が拒絶できることが示されている。このように腫瘍特異的な T 細胞を用いる方法は腫瘍治療において有効な治療法の一つと考えられている。

しかしながら腫瘍特異的な T リンパ球を治療実験から治療に必要とされるほどの細胞数を培養するには熟練した技術と時間が必要であり一般に困難であった。よって抗原特異的な T 細胞を相当量得るために、末梢のポリクローナルな T 細胞を増殖させて抗原特異的な T 細胞受容体を導入する方法も有力な選択肢と考えられた。そしてこの T 細胞を生体内に移入することで抗原特異的な T 細胞

の腫瘍の治療への応用が可能と考えられた。我々はこれまでに class II 拘束性の T 細胞受容体の遺伝子をレトロウイルスを用いて T 細胞に導入することで、この T 細胞が抗原特異的な免疫応答を示し、機能的な T 細胞受容体の再構築が可能であったことを報告してきており、この方法により腫瘍特異的な T 細胞を再構築することを試みた。Kessels らは近年レトロウイルスを用いて抗原特異的な CD8 陽性 T 細胞を再構築し、この T 細胞が腫瘍を認識する機能をもつことを報告しているが、抗原特異的な CTLs の誘導にあたり CD4 陽性 T 細胞による CD8 陽性 T 細胞へのヘルプ作用を増強する手法も重要であると考えられ、CD4 陽性 T 細胞に注目した。

本研究では、我々は A20 B 細胞リンパ腫細胞にニワトリ卵白アルブミン (OVA) を腫瘍特異抗原として発現させ、これをターゲットの腫瘍として使用した。この OVA に特異的な T 細胞受容体 (TCR α 鎖と β 鎖) をレトロウイルスにより T 細胞に導入することで多量の腫瘍特異的な T 細胞を入手しえた。また同時に CD40 リガンド (CD40L) も導入することによる CD4 陽性 T 細胞の機能の増強を試みた。この 3 遺伝子導入 T 細胞と腫瘍細胞を共培養することにより A20 腫瘍細胞自体の B7.1 と MHC class I の発現は増強された。また同様に樹状細胞

上でも T 細胞と共培養することで B7.1 の発現の増強を確認できた。これらのことから、この遺伝子導入 T 細胞は腫瘍細胞そのものの抗原提示能を効果的に増強することでその免疫原性を高めるとともに、樹状細胞を刺激して抗原提示能を高めることが示された。さらに A20 B 細胞リンパ腫細胞を接種したマウスに 3 遺伝子導入 CD4 陽性 T 細胞を移入すると、腫瘍を拒絶することができた。またこの移入した 3 遺伝子導入 CD4 陽性 T 細胞は腫瘍に集積し、移入後 50 日後も腫瘍部位に残存していることが示された。

以上の結果より CD4 陽性 T 細胞の抗原特異性を再構築し、同時に CD40L のような免疫刺激分子を導入することで、増強された抗腫瘍効果を得ることができた。このような手法は、免疫反応をより特異的に強力に制御できる可能性があり、腫瘍の治療のみならず感染症、自己免疫疾患の治療にも応用できると考えられる。