

## 最新研究の紹介

カニクイザルの腫瘍拒絶モデルにおいて腫瘍に浸潤したT細胞や末梢血中のT細胞から腫瘍殺傷能力をもつT細胞受容体遺伝子の単離

### 論文タイトル

Isolation of TCR genes with tumor-killing activity from tumor-infiltrating and circulating lymphocytes in a tumor rejection cynomolgus macaque model

### 掲載誌

Molecular Therapy - Oncolytics

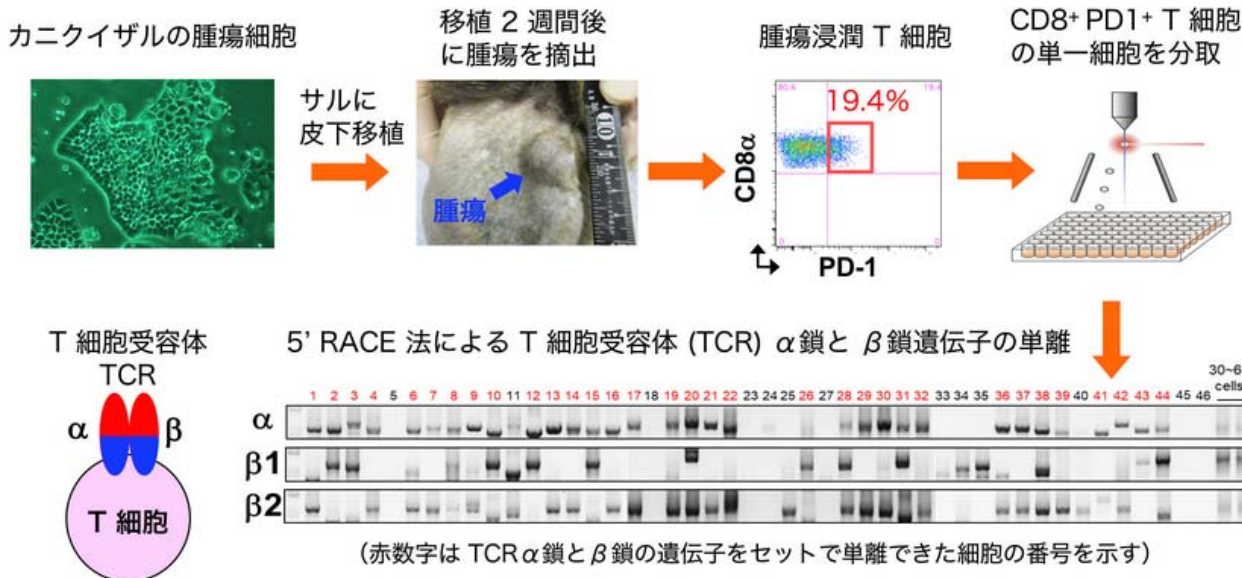
[10.1016/j.omto.2021.12.003](https://doi.org/10.1016/j.omto.2021.12.003)

### 執筆者

寺田晃士、近藤健太、石垣宏仁、長嶋彩花、里岡大樹、永野誠治、増田喬子、川村晃久、平田多佳子、小笠原一雅、伊藤 靖、河本 宏、縣 保年  
(太字は本学の関係者)

### 論文概要

ヒトのがん免疫療法では、マウスで観察されなかった副作用がみとめられる例があることから、非ヒト霊長類を用いた研究が必要です。そこでカニクイザルの腫瘍細胞を移植する実験系を用いて、腫瘍細胞をサルに移植すると2週ほどで腫瘍が形成されますが、腫瘍は4~5週で消失することがわかりました。これまでにヒトの症例では、PD-1を発現するT細胞が腫瘍反応性を有することが報告されています。そこで本研究では、移植2週間後に腫瘍に浸潤したT細胞のうち、PD-1を発現するT細胞を分取し、T細胞が腫瘍細胞を認識し殺傷するために重要な役割を果たすT細胞受容体 (TCR) の遺伝子を単離しました (図1、2)。次に、単離したTCR遺伝子を、ヒトのiPS細胞から再生した細胞傷害性T細胞 (再生T細胞) に発現させ、腫瘍細胞に対する細胞傷害活性を検討しました。その結果、出現頻度の高いTCRは腫瘍細胞に対して高い細胞傷害活性を示したのに対して、出現頻度の低いTCRは細胞傷害活性を示すものは少ないことがわかりました (図3)。さらに細胞傷害活性を示したTCRを発現させた再生T細胞は、免疫不全マウスを用いた動物実験でも抗腫瘍活性を示しました (図4)。これらの結果から、このサルの腫瘍移植モデルにおいて、腫瘍浸潤T細胞は腫瘍細胞を殺傷する能力を有し、腫瘍の消失に寄与することが示唆されるとともに、この方法をヒトの治療に応用できる可能性が示されました。



**図1** カニクイザルの腫瘍に浸潤した PD-1 陽性 CD8 T 細胞からの T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子の単離  
 カニクイザルの iPS 細胞に、複数のがん誘導遺伝子を導入して作製した腫瘍細胞を、別のカニクイザルに移植すると 2 週ほどで腫瘍が形成されますが、腫瘍は 4~5 週で消失しました。これまでにヒトの症例では、PD-1 を発現する T 細胞が腫瘍反応性を有することが報告されています。そこで、移植 2 週間後に腫瘍に浸潤した T 細胞のうち、PD-1 を発現する CD8 陽性 (細胞傷害性) T 細胞の単細胞を分取し、T 細胞が腫瘍細胞を認識し殺傷するために重要な役割を果たす T 細胞受容体 (TCR) α 鎖と β 鎖の遺伝子をセットで単離しました。

**A** カニクイザル#1：腫瘍細胞の移植は1回で腫瘍形成あり

腫瘍浸潤 T 細胞	細胞数 (%)	TCR セット	Vα 遺伝子	CDR3	Vβ 遺伝子	CDR3
5 (4.6%)	5	5A9	TRAV23	AAVSAQGAQKLV	TRBV7-2*01	ASRPGGYDYT
		5B1	TRAV13-1*01	AASIEGGGNKLT	TRBV21-1*01	ASSKGPQGTYDYT
4 (3.7%)	4	4C2	TRAV36	AVLNSGNRALV	TRBV2*01	ASSELRNTEAF
		4D3	TRAV27*01	AGAGGAGYGKL	TRBV5-6*01	ASSLVRGLSDPQY
3 (2.8%)	3	3E5	TRAV8-4*01	AVNDRDNNARVI	TRBV2*01	ASSEAGTPLGETQY
		3F1	TRAV25*01	AGEAYNNYKLS	TRBV5-6*01	ASSLAYRETYQPQY
1 (0.9%)	1	1B9	TRAV23	AASEASSNTGKLI	TRBV5-1*01	ASSIRDRGEDPQY
		1D4	TRAV26-1*02	IVRPPDTGRRALT	TRBV2*01	ASSDLSNQPQY
		1G9	TRAV12-2*02	AVYPDSGWQLT	TRBV6-1*01	ASSETGDQETQ

**B** カニクイザル#2：腫瘍細胞の頻回移植により腫瘍形成なし

末梢血中の T 細胞

細胞数 (%)	TCR セット	Vα 遺伝子	CDR3	Vβ 遺伝子	CDR3
37 (41%)	1385	TRAV5*01	AEKEDTGRRALT	TRBV11-1*01	ASSPKHYGTAYEQY

**図2** 腫瘍浸潤 T 細胞から単離した T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子とアミノ酸配列の解析

(A) 腫瘍細胞をカニクイザル#1に移植し、2週間後に腫瘍に浸潤した T 細胞のうち、PD-1 を発現する CD8 陽性 T 細胞を分取した後、TCR 遺伝子を単離しアミノ酸配列を解析したところ、108個の細胞のうち複数の細胞でみとめられた TCR α と β 遺伝子セットが存在しました。(B) 腫瘍細胞を頻回に移植した別のカニクイザル#2では、腫瘍の形成がみられなかったため、末梢血中の CD8<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> T 細胞を90個解析したところ37個の細胞でみとめられた TCR 遺伝子セットがありました。



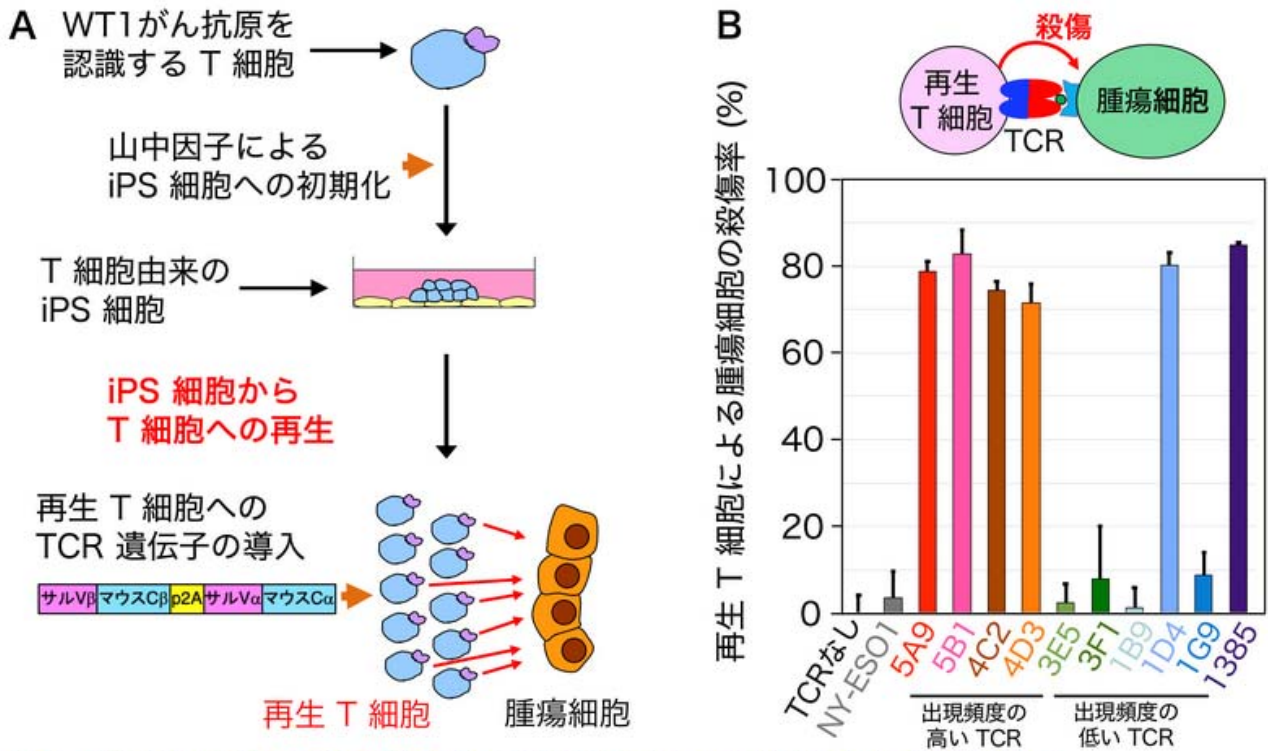


図3 出現頻度の高い TCR は高頻度で腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示しました。

(A) 単離した TCR 遺伝子を、ヒトの iPS 細胞から再生した細胞傷害性 T 細胞（再生 T 細胞）にレトロウイルスを用いて発現させ、腫瘍細胞に対する細胞傷害活性を検討しました。(B) その結果、出現頻度の高い TCR は高頻度で腫瘍細胞に対して細胞傷害活性を示したのに対して、出現頻度の低い TCR は細胞傷害活性を示すものは少ないことがわかりました。

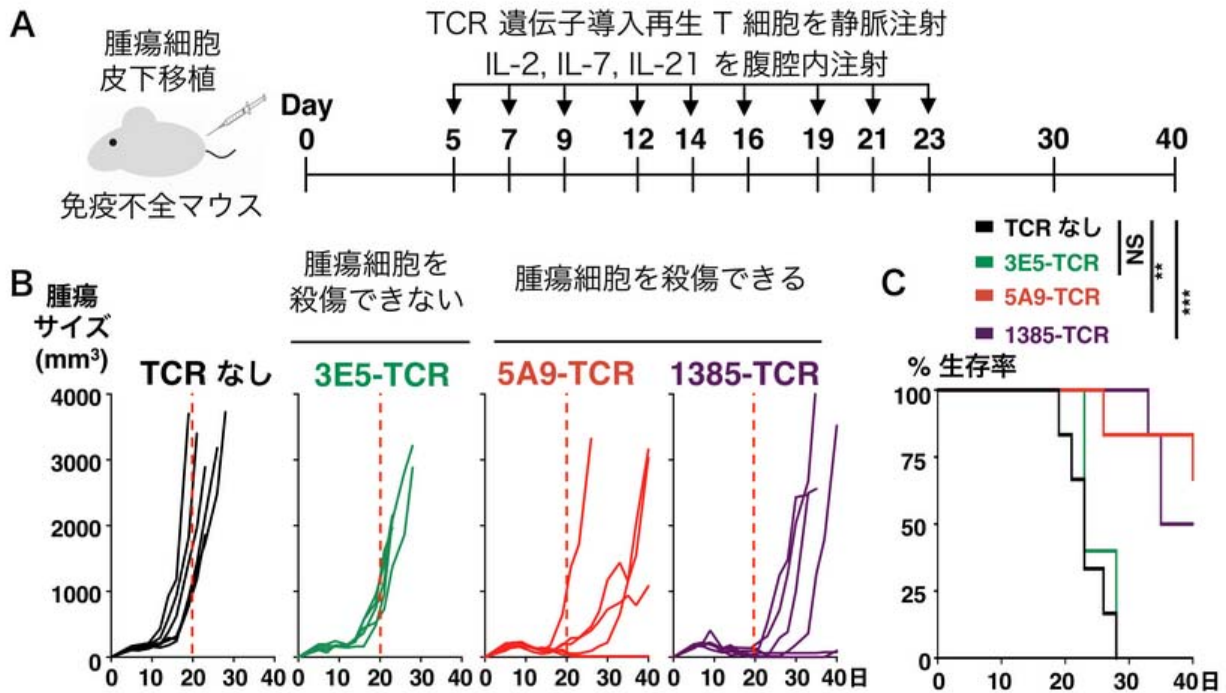


図4 細胞傷害活性をもつ TCR を発現させた再生 T 細胞は免疫不全マウスでも抗腫瘍活性を示しました。

(A) 腫瘍細胞を皮下移植した免疫不全マウスに、TCR 遺伝子を発現させた再生 T 細胞を移植しました。その結果、細胞傷害活性を示した TCR は、細胞傷害活性を示さない TCR に比べて、有意に腫瘍の成長を抑制し (B)、マウスの生存を延長させました (C)。

