

# 膵臓癌癌間質内制御性 T 細胞に対する 抗体療法併用温熱 CART 細胞療法の開発

堺市立総合医療センター外科 大阪大学消化器外科

小川久貴

## I 要 旨

前研究において膵臓癌に対する温熱 CART 細胞療法を開発した (unpublished data)。

現在進行中の固形癌に対する CART 細胞療法の中、いまだ満足のいく結果を示したものはない。

我々の開発した温熱 CART 細胞療法を臨床応用するためには、固形癌、特に膵臓癌癌間質および間質に存在する免疫抑制細胞への対策が必須であると仮説を立てた。現在マウスにおける CAR T 細胞を作製するため CAR construct を作製中であり、モデル構築中である。

## II 目 的

膵臓癌患者の予後はこの数十年改善を得られておらず、いまだ難治性癌の代表格である。

高率な転移／再発リスクを考慮すると手術、化学療法、放射線療法に続く新規全身治療法の開発が急務であることは明らかである。近年 CART 細胞が注目されている。CART 細胞は、特定の腫瘍抗原に特異的に反応するマウス抗体由来の scFv (single chain Fv) と、ヒト T 細胞受容体 (TCR) 由来の様々な副刺激分子のシグナル伝達ドメインを結合させて作成された CAR コンストラクトをヒト T 細胞に遺伝子導入することで作成される。生体内に投与された CAR T 細胞は、癌組織内で特定の腫瘍抗原を細胞表面に有する癌細胞を認識、結合することで腫瘍細胞の細胞死を誘導しながら、自らも活性化を受けて増殖する、いわゆる“living drug”であ

る<sup>1)</sup>。白血病における CD19 を標的抗原とした CAR T 細胞療法の目覚ましい抗腫瘍効果、予後延長効果が多数報告され、2017 年小児および若年成人の再発・難治性 B 細胞性急性芽球性白血病の治療として FDA に承認を受けた。固形癌においても現在米国、中国を中心に様々な抗原を標的とした CAR T 細胞療法の臨床試験が精力的に行われているが未だ良好な結果を示せた CAR T 細胞療法は存在しない。そこで我々は臨床試験における血液癌と固形癌における CAR T 細胞療法の有効性の違いは固形癌特有の癌間質に起因すると仮説を立てた。近年の癌研究から癌間質は腫瘍細胞への薬剤デリバリーを阻害するのみならず、腫瘍細胞に対する細胞性免疫に対する免疫寛容の場であることが報告されている。さらに、癌間質による免疫寛容は、癌間質内に誘導される Treg をはじめとする免疫抑制性細胞により引き起こされることも明らかとなった。実際、癌組織内の細胞障害性 T 細胞と Treg の比率が予後に相関すると報告がなされている<sup>2) 3)</sup>。しかしながら現在進行中の固形癌に対する臨床試験で使用されている CART 細胞は、ヒト癌細胞株を用いた免疫不全マウス皮下腫瘍／同所移植モデルにおける結果をもって臨床試験へと移っているため、検討が不十分である。正常免疫システムを有するヒト生体内で投与された CART 細胞が癌組織内で抗腫瘍効果を発揮するためには、癌間質内の Treg への対策が重要であると考え。今研究において、正常免疫システムを有する immunocompetent マウスにおける温熱

CART 細胞療法を開発、確立するため、マウス CART 細胞を作製することを目的とし、最終的には膵臓癌における癌間質に局在する制御性 T 細胞 (Treg) の役割を解明することにある。

### III 方 法

マウス CAR construct において、標的抗原は前研究で我々が開発した抗原 X を標的とすることとし、Rat の hybridoma から VH,VL の配列シートエンスを終了し、現在 scFv を含むレトロウイルスベクターの第 3 世代 CAR construct を合成中である (図 1)。標的細胞として抗原 X を発現している細胞株として、現在マウス膵臓癌細胞株 (Dr. Vikas Dudeja より提供) およびマウス甲状腺未分化癌株 (Dr. DG Mcfadden および Dr. Antonio Di Cristofano より提供) より Flow cytometry/Western blotting で抗原 X の発現を確認し、標的細胞株を選定中である。CAR construct 完成後、担癌マウス脾臓から T リンパ球を分離し CAR construct を導入し、mIL-2 や mCD3,CD28 による刺激により ex vivo で培養する。担癌マウスにおいて温熱 CART 細胞療法を施行し、皮下腫瘍における TIL 解析を行う。Treg による免疫寛容を確認し、TIL-Treg の免疫寛容作用の解除方法を検討する。方法としては、抗体療法ではなく標的タンパク Y に対する siRNA による核酸医療の併用を現在検討中である。

### IV 結 果

現在鋭意検討、実験中であり結果は未だである。

### V 考 察

当初 TIL-Treg に対する抗体療法を考慮していたが、癌組織内で活性化している TIL-Treg の細胞質内および核内分子を標的とする戦略を考えているため核酸へとシフトした。immunocompetent mouse における、癌間質内免疫細胞に注目した CART 細胞療法の検討はほとんど報告がなく、今研究により TIL-Treg に対する核酸併用温熱 CART 細胞療法が確立した際には、世界初の膵臓癌に対する有効な CART 細胞療法となる可能性がある。

また、免疫調整 siRNA として既存の免疫療法 (失敗に終わった固形癌に対する CART 細胞療法や効果の乏しい抗 PD-L1 抗体療法など) の抗腫瘍効果を底上げできる可能性がある。

### 参考文献

- 1) Di Stasi A, Tey SK, Dotti G, Fujita Y, Kennedy-Nasser A, Martinez C, et al. Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy. *N Engl J Med.* 2011;365 (18) :1673-83.
- 2) Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, et al. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Gastroenterology.* 2007;132 (7) :2328-39.
- 3) Liu L, Zhao G, Wu W, Rong Y, Jin D, Wang D,



図 1 CAR construct

et al. Low intratumoral regulatory T cells and high peritumoral CD8 (+) T cells relate to long-term survival in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma after pancreatectomy. *Cancer Immunol Immunother.* 2016;65 (1) :73-82.