

# 論文内容要旨

Generation of GM-CSF-producing  
antigen-presenting cells that induce a cytotoxic T  
cell-mediated antitumor response

(細胞傷害性 T 細胞による抗腫瘍免疫応答を誘導する iPS  
細胞由来 GM-CSF 産生抗原提示細胞の開発)

Oncoimmunology, 9(1):1814620,2020.

主指導教員：大段 秀樹教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

副指導教員：安達 伸生教授

(医系科学研究科 整形外科学)

副指導教員：小林 剛准教授

(医系科学研究科 消化器・移植外科学)

真島 宏聡

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 【研究の背景】

樹状細胞 (dendritic cell : DC) は生体内で最も強力な T 細胞刺激活性を有した抗原提示細胞であり、がん免疫においてはがんを排除する T 細胞応答の誘導に中心的な役割を担っている。この DC に「がん抗原」を負荷して生体に投与することで体内のがん反応性 T 細胞を活性化する「DC ワクチン」は、有力ながん免疫療法の 1 つとしてその効果が期待されている。しかし、現在実施されている DC ワクチンにはがん患者の末梢血中の前駆細胞から誘導した DC が用いられているが、この方法は誘導効率が悪く、誘導した DC の機能が不安定であり、期待された臨床効果を安定して得ることが難しい。また、治療に十分な量の DC を調達するためには大量・頻回の採血やアフエレーシスが必要であることや、個別化医療の高額な費用が治療普及の妨げとなっている。

以前、我々はマウス iPS 細胞から誘導したミエロイド細胞に増殖因子 c-Myc を遺伝子導入することで、GM-CSF 依存性に増殖するミエロイド細胞 (iPS cell-derived proliferating myeloid cell : iPSC-pMC) を構築し、がんワクチン治療に応用可能なミエロイド細胞の安定・大量供給を可能にする技術を開発した (Zhang R, et al. Cancer Immunol. Res. 2015)。本研究では、iPSC-pMC の遺伝子改変により機能修飾を行った抗原提示細胞を作成し、その細胞を用いたがんワクチン治療法の効果について報告する。

## 【方法/結果】

抗腫瘍効果の増強ならびに操作性の向上を期待し、レンチウイルスベクターを用いて GM-CSF 遺伝子を導入した iPSC-pMC を作製した (GM-CSF 産生 iPSC-pMC : GM-pMC)。遺伝子導入前後で表面形質や形態に変化はなく、T 細胞刺激に重要な役割を担う抗原提示分子 (MHC class I/II)、および共刺激分子 (CD40、CD80、CD86) の発現を認めた。GM-pMC は自身が産生する GM-CSF により、培地に GM-CSF などのサイトカインを添加せずとも安定して増殖するため、より簡便に培養可能となり操作性が向上した。遺伝子導入前の iPSC-pMC に比べ生体内投与後の生存能に優れており、さらに GM-pMC が産生する GM-CSF が T 細胞の増殖を誘導することが明らかになった。その結果、H-2K<sup>b</sup> 拘束性オボアルブミン (OVA) ペプチドを負荷した GM-pMC を同系マウスに腹腔内投与すると生体内で効率よく OVA 特異的 CD8<sup>+</sup> T 細胞応答を誘導し、皮下移植した OVA 発現マウスメラノーマ細胞株 (MO4) の生着を抑制することで生存期間を延長した。この効果は骨髄由来 DC (BM-DC) を用いた場合と同等であった。

GM-pMC は iPS 細胞由来であるため、投与後に奇形腫などの造腫瘍性のリスクが懸念される。そこで、GM-pMC の生体内増殖を抑制することを目的に、放射線照射 (85Gy) した OVA 負荷 GM-pMC を投与して MO4 腫瘍対する生着抑制効果を評価したところ、未照射の GM-pMC と遜色ない OVA 特異的 CD8<sup>+</sup> T 細胞応答を惹起して、BM-DC を用いた場合と同等の抗腫瘍効果が認められた。したがって、投与前放射線照射による GM-pMC の安全性の向上が可能と考えられた。

次に、MO4 担癌マウスに対して、OVA 負荷 GM-pMC を投与する治療の効果を検証した。GM-pMC ワクチンは、免疫チェックポイント阻害剤 (抗 CTLA-4 抗体+抗 PD-L1 抗体、以下

ICI)より抗腫瘍効果に優れており、両者を併用することで最も強い効果を発揮した。治療後のがん組織内の免疫細胞をフローサイトメトリーで解析したところ、GM-pMC ワクチンにより細胞傷害分子(パーフォリンまたはグランザイム B)を発現する CD8<sup>+</sup>T 細胞と NK 細胞が著明に増加しており、ICI)を併用すると CD8<sup>+</sup>T 細胞や NK 細胞をさらに増加させるだけでなく、骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)を減少させることも観察され、これらが抗腫瘍効果に寄与していると考えられた。GM-pMC ワクチン投与による末梢血中の炎症性サイトカインの上昇や、全身の各臓器への炎症細胞の浸潤などを認めず、明らかな有害事象は観察されなかった。

#### 【本研究の意義と今後の展望】

本研究では、マウス iPS 細胞由来のミエロイド細胞に GM-CSF 産生能を賦与することで、優れたがんワクチン効果を発揮する抗原提示細胞を作製した。この細胞を HLA ホモ iPS 細胞ストックから作製してバンク化することで、細胞調達のための頻回の採血や煩雑な誘導作業を必要とせず、安定した抗腫瘍効果を発揮するがん治療用抗原提示細胞を簡便に提供することが可能になると期待される。