

(様式3号)

## 学位論文の要旨

氏名 中島正夫

## 〔題名〕

PD-1に対する一本鎖抗体を分泌するCAR-T細胞はCAR-T細胞のみならず、内因性の腫瘍抗原特異的リンパ球のアポトーシスを抑制し固形がんに対して高い治療効果を有する

## 〔要旨〕

目的：キメラ抗原受容体 (Chimeric antigen receptor: CAR) 発現T細胞 (CAR-T細胞) 療法は固形がんに対して依然として治療効果に乏しい。その理由として、腫瘍局所でのCAR-T細胞の疲弊と、腫瘍抗原のheterogeneityが挙げられる。今回我々は、免疫チェックポイント分子の一つであるPD-1に対して阻害活性を有する一本鎖抗体 (single chain variable fragment: scFv) を産生するCAR-T細胞を作製し、その抗腫瘍効果とメカニズムを検討した。

方法：通常第二世代CAR-T (conventional CAR-T: conv. CAR-T) 細胞を元に抗PD-1 scFv産生型CAR-T (scFv CAR-T) 細胞を作製し、in vitroでの抗腫瘍効果およびアポトーシスに関して検討した。また、マウス腫瘍モデルを用いてin vivoでの抗腫瘍効果、腫瘍浸潤リンパ球の機能、抗PD-1 scFvの体内動態に関して検討した。

結果：scFv CAR-T細胞はconv. CAR-T細胞と比較して優れた抗腫瘍活性を認めた。また、抗アポトーシス蛋白であるBcl-xLを高発現し、腫瘍細胞との共培養で誘導されるアポトーシスは有意に抑制されていた。腫瘍浸潤リンパ球の解析ではCAR-T細胞のみならず内因性の腫瘍抗原特異的T細胞のアポトーシスも抑制されていた。また、抗PD-1 scFvは腫瘍局所でのみ検出され、血清では検出されなかった。

結語：抗PD-1 scFvを産生する新規CAR-T細胞は、腫瘍局所で抗PD-1 scFv濃度を高めることでCAR-T細胞のみならず内因性の腫瘍抗原特異的T細胞へのPD-1シグナルを阻害し、固形がんに対して優れた抗腫瘍効果を発揮した。本治療技術は免疫チェックポイント阻害剤の投与で問題となる免疫関連合併症の軽減に繋がる新規がん免疫療法になるものと考えられた。

## 作成要領

1. 要旨は、日本語で800字以内、1枚でまとめること。
2. 題名は、和訳を括弧書きで記載すること。

学位論文審査の結果の要旨

医学系研究科応用分子生命科学系 (医学系)

報告番号	甲 第 1575 号	氏 名	中島 正夫
論文審査担当者	主査教授	山崎 隆弘	
	副査教授	玉田 耕治	
	副査教授	永野 浩弘	
学位論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) PD-1 に対する一本鎖抗体を分泌する CAR-T 細胞は CAR-T 細胞のみならず、内因性の腫瘍抗原特異的リンパ球のアポトーシスを抑制し固形がんに対して高い治療効果を有する			
学位論文の関連論文題目名 (題目名が英文の場合は、行を変えて和訳を括弧書きで記載する。) Improved survival of chimeric antigen receptor-engineered T (CAR-T) and tumor-specific T cells caused by anti-programmed cell death protein 1 single-chain variable fragment-producing CAR-T cells (PD-1 に対する一本鎖抗体を分泌する CAR-T 細胞は CAR-T 細胞のみならず、内因性の腫瘍抗原特異的リンパ球のアポトーシスを抑制し固形がんに対して高い治療効果を有する)			
掲載雑誌名 第 110 巻 第 10 号 P.3079~3088 (2019 年 8 月 掲載)			
(論文審査の要旨)			
目的: キメラ抗原受容体 (Chimeric antigen receptor: CAR) 発現 T 細胞 (CAR-T 細胞) 療法は固形がんに対して依然として治療効果に乏しい。その理由として、腫瘍局所での CAR-T 細胞の疲弊と、腫瘍抗原の heterogeneity が挙げられる。今回我々は、免疫チェックポイント分子の一つである PD-1 に対して阻害活性を有する一本鎖抗体 (single chain variable fragment: scFv) を産生する CAR-T 細胞を作製し、その抗腫瘍効果とメカニズムを検討した。 方法: 通常第二世代 CAR-T (conventional CAR-T: conv. CAR-T) 細胞を元に抗 PD-1 scFv 産生型 CAR-T (scFv CAR-T) 細胞を作製し、in vitro での抗腫瘍効果およびアポトーシスに関して検討した。また、マウス腫瘍モデルを用いて in vivo での抗腫瘍効果、腫瘍浸潤リンパ球の機能、抗 PD-1 scFv の体内動態に関して検討した。 結果: scFv CAR-T 細胞は conv. CAR-T 細胞と比較して優れた抗腫瘍活性を認めた。また、抗アポトーシス蛋白である Bcl-xL を高発現し、腫瘍細胞との共培養で誘導されるアポトーシスは有意に抑制されていた。腫瘍浸潤リンパ球の解析では CAR-T 細胞のみならず内因性の腫瘍抗原特異的 T 細胞のアポトーシスも抑制されていた。また、抗 PD-1 scFv は腫瘍局所でのみ検出され、血清では検出されなかった。 結語: 抗 PD-1 scFv を産生する新規 CAR-T 細胞は、腫瘍局所で抗 PD-1 scFv 濃度を高めることで CAR-T 細胞のみならず内因性の腫瘍抗原特異的 T 細胞への PD-1 シグナルを阻害し、固形がんに対して優れた抗腫瘍効果を発揮した。本治療技術は免疫チェックポイント阻害剤の投与で問題となる免疫関連合併症の軽減に繋がる新規がん免疫療法になるものと考えられた。			
本研究は、PD-1 分子に対する一本鎖抗体を産生する次世代型 CAR-T 細胞を作製し、固形がんに対して高い抗腫瘍効果もたらすとともにそのメカニズムとして内因性の腫瘍抗原特異的 T 細胞のアポトーシス抑制が重要であることを明らかにし、固形がんに対する従来型の CAR-T 細胞療法の問題点を克服する可能性を示した論文である。 よって、学位論文として十分な価値があるものと認められた。			

備考 審査の要旨は800字以内とすること。