

| | | | |
|--|---|-----|---------|
| 京都大学 | 博士（ 医学 ） | 氏 名 | 田 中 邦 昭 |
| 論文題目 | Direct Delivery of <i>piggyBac</i> CD19 CAR T Cells Has Potent Anti-tumor Activity against ALL Cells in CNS in a Xenograft Mouse Model (<i>piggyBac</i> CD19 CAR T 細胞の直接注入は、異種移植マウスモデルにおいて中枢神経内の急性リンパ性白血病細胞に対して、効果的に抗腫瘍効果を発揮する) | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>【背景】 CD19 キメラ抗原受容体改変 T 細胞 (CD19 chimeric antigen receptor T; CD19 CAR-T) 細胞治療は、再発・難治の B 細胞性急性リンパ性白血病に対する非常に有効な治療として報告されている。しかし、活動性の中枢神経浸潤病変(CNS-ALL)を合併した症例、及び、中枢神経単独再発症例は治療対象から除外されていることが多く、十分な検討がなされていない。また、CD19 CAR-T 細胞治療では致命的なサイトカイン放出症候群 (cytokine release syndrome; CRS)、及び、神経毒性の有害事象が報告されており、CD19 CAR-T 細胞治療は CNS-ALL に対してより有効な治療と期待されるが、臨床応用には前臨床的な検討が必要不可欠である。このような背景から、本研究では、マウス脳室内に直接細胞を投与する実験系を用いて、CNS-ALL に対する新しい治療方法として CD19 CAR-T 細胞髄注治療の有効性と安全性を、異種移植マウスモデルを用いて検討した。</p> <p>【方法】 CD19 CAR-T 細胞は、健常成人から提供された T 細胞に <i>piggyBac</i> transposon system を用いて CD19 CAR 遺伝子を導入し作成した。次に、NOD/Shi-scid/IL-2Rγnull (NOG)マウスに Luciferase を発現させた pre-B ALL 細胞株を脳室内に移植し、7 日後に生着を確認した後、CD19 CAR-T 細胞を脳室内直接投与、もしくは、静注投与した。その後、治療効果を bioluminescence imaging によって評価した。同時に有害事象の評価として、体重、体温、臨床徴候を経時的に記録した。また、CRS の評価として、投与 4 日後、及び、10 日後に髄液、及び、血清を用いてマウス/ヒト細胞由来の炎症性サイトカイン濃度を網羅的に評価した。</p> <p>【結果】 CAR-T 細胞輸注後 40 日の時点で、Mock-T 細胞脳室内投与群で 5 個体中 2 個体 (2/5)が腫瘍死し、CAR-T 細胞静注群では 2/5 で病変が消失しなかった。一方で CAR-T 細胞脳室内投与群では 6/6 の全ての個体が生存し病変が消失していた。投与 4 日後に flow cytometry 及び病理学的に中枢神経組織を検討すると、CAR-T 細胞脳室内投与群では ALL 細胞が消失し、かつ、human CD3 陽性細胞が検出された。一方、CAR-T 細胞静注投与群においては、ALL 細胞が残存し、human CD3 陽性細胞は検出されなかった。有害事象の評価においては、CAR-T 細胞脳室内投与群で投与後に体重減少・体温低下が認められたが数日後には完全に回復し、明らかな神経症状は全ての個体で認められなかった。また、病理学的検討では重篤な有害事象に伴う中枢神経組織の変化は認めなかった。投与 4 日後、及び、10 日後に評価した髄液・血清サイトカインについて、Mock-T 細胞脳室内投与群、CAR-T 細胞静注投与群、CAR-T 細胞脳室内投与群で有意な差は検出されなかった。</p> <p>【結語】 免疫不全マウスを用いた CNS-ALL 異種移植マウスモデルにおいて、CD19 CAR-T 細胞の脳室内投与は静脈内投与よりも優れた効果が認められた。また、CD19 CAR-T 細胞の脳室内投与による重篤な CRS や神経毒性は認めなかった。CD19 CAR-T</p> | | | |

細胞の中枢神経直接投与は、CNS-ALL に対する有望な治療選択肢になる可能性が示唆され、本研究が CAR-T 細胞髄注治療を臨床応用する上での論理的根拠となることが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

CD19 CAR-T 細胞療法は、近年再発難治 B 細胞性急性リンパ性白血病に対する高い治療効果が報告される。一方で、CRS や神経毒性といった治療関連有害事象も報告され、特に中枢神経病変を主な標的とした臨床応用には有効性・安全性の検討は未だ十分ではない。

本研究においては、免疫不全マウスの脳室内に直接細胞を投与する実験系を用いて、CNS-ALL を主病変とする急性リンパ性白血病の異種マウスモデルを作成し、また、CAR-T 細胞を直接投与することで、従来の静脈内投与と直接的に中枢神経病変に対する有効性の比較を行い得た。また、懸念される有害事象については、異種移植系の制限の中ではあるが、前臨床試験として臨床的な評価項目に加え網羅的にヒト・マウス由来のサイトカインを評価し、致命的な有害事象が発生しなかったことを報告した。

以上の研究は、治療に難渋する小児 CNS-ALL に対して CAR-T 細胞治療の臨床応用を進めていく橋渡しとなる前臨床研究として評価されるものである。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 12 月 22 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降