

京都大学	博士（医学）	氏名	伊藤 剛
論文題目	The therapeutic potential of multiclonal tumoricidal T cells derived from tumor infiltrating lymphocyte-derived iPS cells (腫瘍浸潤リンパ球由来 iPS 細胞から再生したマルチクローナル腫瘍傷害性 T 細胞の治療可能性)		
(論文内容の要旨)			
<p><b>背景</b> 腫瘍浸潤リンパ球 (tumor infiltrating lymphocytes: TIL) は腫瘍抗原特異的リンパ球を高頻度 に含み、抗原量の多い癌腫に対する養子細胞移注療法に用いられてきた。移注される細胞の質お よび量は、治療効果と相関することが報告されており、大量の腫瘍特異的リンパ球を less differentiated 状態で準備することが重要とされる。しかしながら、TIL は既に分化段階が進み、 老化状態にあることが多いため、理想的な細胞調整は課題とされてきた。その問題点への解決手 段として、iPS 細胞を介した T リンパ球再生技術の応用が想起された。本研究では、腫瘍特異的 リンパ球を再生すると共に、複数抗原を標的としたマルチクローナル状態での再生を試みた。</p> <p><b>結果</b> ヒト大腸癌の原発巣より TIL を採取すると同時に、自己由来スフェロイドを樹立した。サイト カインカクテルによる TIL 増幅工程の後に、癌スフェロイドとの共培養によって腫瘍反応性 TI-CTL (tumor-infiltrating cytotoxic T lymphocytes) を選択増幅した。癌スフェロイドに対し、 TCR-HLA class I axis 依存的な反応を示す TI-CTL について、TCR V<math>\beta</math> サブタイプ毎にクローン 化した。V<math>\beta</math> 毎にクローン化された腫瘍特異的 TI-CTL より iPS 細胞を樹立し、続いて feeder free 法で T 細胞を再生した (TIL-iPS-T)。TIL-iPS-T において TCR の追加再編成は見られず、親ク ローンと同様の腫瘍反応性が確認された。再生に伴って増殖能は有意な改善を示し、腫瘍傷害活 性は DNA mismatch repair proficient (MMR-P) 症例で増強されていた。上乘せされた腫瘍傷 害活性は、HLA 非依存的機序によってもたらされ、NK 様活性の関与が示唆された。メモリーT 細胞に関する表面抗原や転写因子の発現プロファイル、サイトカイン分泌パターンなどから、 TIL-iPS-T は親クローンと比して less differentiated 状態にあると判断された。更にテロメアの 伸張、アポトーシス耐性能の向上も TIL-iPS-T において確認された。癌スフェロイドを皮下移 植した担癌マウス (patient derived spheroids xenograft: PDSX) を用いた治療モデルでは、 TIL-iPS-T の治療効果は限定的であった。細胞移注プロトコールの改良の後に、経静脈投与下で の体内動体を確認したところ、TIL-iPS-T の腫瘍実質内浸潤が確認され、更に有意な in vivo persistency 延長も確認された。</p> <p><b>考察</b> 本研究により、ヒト大腸癌より複数クローンの腫瘍特異的 TI-CTL 選択が可能であることが示さ れた。加えて、選択された腫瘍特異的 TI-CTL より、iPS 細胞を介したマルチクローナルな TIL-iPS-T 再生が可能であることも示された。再生に伴って TIL は若返り、persistency 向上が 賦与されたものの、PDSX マウスを用いた in vivo モデルでは治療効果が限定的であった。PDSX マウスの最適化、細胞治療評価モデルとして有用性検証が今後の課題として挙げられた。同時に 遺伝子編集による TIL-iPS-T の機能増強、免疫チェックポイント阻害剤などとの併用療法につ いても、引き続き検討が必要である。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

TIL を用いた養子細胞移注療法において、投与細胞の数および質は治療成績に影響する。申請者らは iPS 細胞を介して TIL を再生することで、TIL の潤沢な供給と質的向上を試み、治療応用への可能性について検討した。また、TIL の多様性を活かすべく、マルチクローナル状態での再生にも取り組んだ。

はじめに申請者は患者由来の癌スフェロイドを用い、バルク状態の TIL から腫瘍反応性集団へと濃縮した。続けて、TCR V $\beta$  毎に HLA クラス I-TCR 相互作用に依存した腫瘍反応性を評価することで、腫瘍特異的 TIL の選択を行なった。選択した TIL より iPS 細胞を樹立し、フィーダーフリー法で T 細胞分化誘導を実践した。再生によって得られた TIL-iPS-T について、多角的な要素からプロファイリングを行うことで、再生による若返りや機能的向上が確認された。しかしながら、PDSX マウスを用いた治療評価モデルでは、TIL-iPS-T において明確な治療有効性は確認されなかった。

治療応用に向けては、PDSX マウスの治療評価モデルとしての最適化、TIL-iPS-T の更なる機能的向上などが必要と考えられた。一方で、一連の腫瘍特異的 TIL 選択とマルチクローナル状態での再生に関する技術確立は、他研究への応用や知見提供に寄与するものと考えられた。

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3年6月7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。