

C214

フルオレセイン応答性キメラ受容体を用いた T 細胞の増殖制御

(東大院工)(正)十河 孝浩・○(正)河原 正浩*・(正)上田 宏・(東大医科研) 大津 真・
(成育医療セ) 小野寺 雅史・(東大医科研) 中内 啓光・(東大院工)(正)長棟 輝行

【緒言】 T細胞は免疫応答の中枢を担う細胞であるため、ガンなどの疾患に対して、T細胞を用いた様々な免疫治療法が研究されてきた。その一つとして、養子免疫療法では、ガン特異的な自家T細胞を回収し、生体外で増幅したのちに患者体内に戻すが、まだ臨床に応用できる程の治療効果は得られていない。その原因の一つとして、ガン特異的T細胞の生体内での長期生存と活性化の維持が難しいことが挙げられる。この解決策として、ガン特異的T細胞とともに、interleukin 2 (IL-2)、interferon γ 、IL-12などのサイトカインを直接、またはその遺伝子を細胞に導入して産生させる方法も研究されてきたが、サイトカインの投与はその副作用として正常組織での炎症反応が起こってしまうという欠点を持つ。

そこで本研究では、T細胞の長期維持の方法として、T細胞の増殖に必要なサイトカインであるIL-2により伝達されるシグナルを利用することを考えた。具体的には、抗原-抗体反応を用いてIL-2シグナルを模倣できる抗体-IL-2受容体キメラを作製してT細胞に導入し、IL-2非存在下、抗原分子存在下において遺伝子導入細胞のみを選択的に増幅することを目標とした。抗原-抗体反応を利用することで、生体に存在しない分子をリガンドとして用いることができるため、炎症や、不必要な細胞の増殖がなく副作用も抑えられると考えられる。また、キメラ受容体とともに治療用サイトカイン遺伝子を入れれば、細胞の機能強化も期待できる。

【実験方法】 抗フルオレセイン一本鎖抗体とエリスロポエチン受容体の細胞外D2ドメイン、およびIL-2受容体 β 鎖または γ 鎖の膜貫通および細胞内ドメインを連結したキメラ受容体を構築した(S β またはS γ とする、図1)。

これらのキメラ受容体の遺伝子を発現ベクターに組み込み、マウス細胞傷害性T細胞株のCTLL-2にエレクトロポレーション法により遺伝子導入し、二種類のキメラ受容体(S β S γ)導入細胞が抗原であるフルオレセイン標識BSA(BSA-FL)に反応して増殖シグナルを伝達するかどうかを解析した。また、マウスから脾臓を採取し、磁気細胞分離法により分

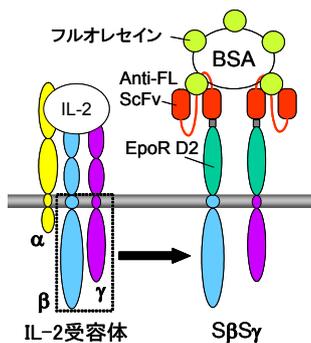


図1 キメラ受容体の模式図

離濃縮した初代培養T細胞にもレトロウィルスベクターを用いてキメラ受容体遺伝子を導入した。S β 単独、S γ 単独、およびS β S γ 共発現細胞をフローサイトメトリーによりソーティングして分離し、得られた細胞をリガンドなし、BSA-FL、またはIL-2存在下で培養し、抗原依存的な増殖促進効果の有無について検証した。

【結果と考察】 S β S γ キメラ受容体が導入されたCTLL-2細胞はBSA-FL濃度依存的な増殖を示し(図2)、受容体下流のシグナル伝達分子STAT3、STAT5、ERKもBSA-FL刺激に反応してリン酸化されることが確認できた。また、初代培養T細胞の実験では、S β S γ 共発現細胞において、リガンドなしと比べてBSA-FL存在下では、有意な細胞増殖促進効果が得られた(図3)。しかし、IL-2の増殖促進効果には及ばなかったことから、系の改良が必要であることが示唆された。

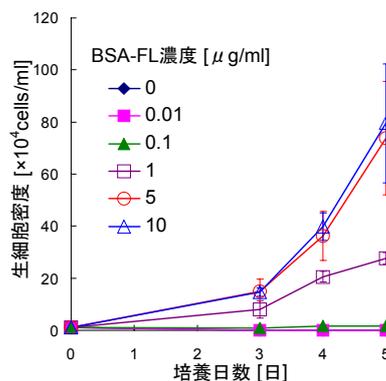


図2 S β S γ 導入CTLL-2細胞の抗原依存的増殖

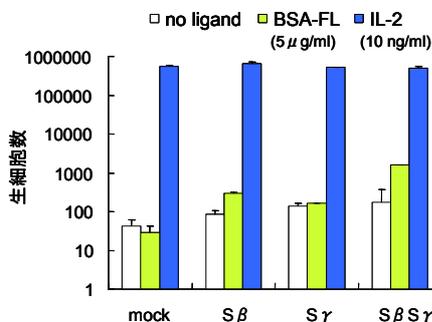


図3 マウス初代培養T細胞の抗原依存的増殖

*TEL: 03-5841-7290, FAX: 03-5841-8657

E-mail: kawahara@bio.t.u-tokyo.ac.jp