
ヒト iPS 細胞由来 T 細胞に遺伝子を導入すると、ヘルパーT 細胞様の機能を獲得することを発見

ポイント

- 樹状細胞^{注1}ががん細胞を取り込むと、がん細胞の抗原^{注2}をヘルパーT 細胞^{注3}に提示し、ヘルパーT 細胞が活性化する。活性化したヘルパーT 細胞は樹状細胞を活性化させ、その活性化した樹状細胞がキラーT 細胞^{注4}に抗原を提示することでがん細胞を攻撃するキラーT 細胞が増殖する。
- ヘルパーT 細胞由来の iPS 細胞から分化させた T 細胞 (iPS-T 細胞) は、ヘルパーT 細胞とは異なる遺伝子発現パターンを示した。
- iPS-T 細胞にヘルパーT 細胞のはたらきに重要な遺伝子を導入して得られた細胞から、ヘルパーT 細胞のはたらきに重要なタンパク質を多く発現している細胞群を選び出した。
- 試験管内とマウスを用いた実験で、選び出した細胞群がヘルパーT 細胞と同様に樹状細胞を介してキラーT 細胞を活性化することを確認した。

1. 要旨

上田 格弘 元大学院生 (京都大学 CiRA 増殖分化機構研究部門・名古屋大学大学院医学系研究科 臨床医学領域 病態内科学 血液・腫瘍内科学)、金子 新 准教授 (CiRA 同部門) らの研究グループは、ヒトの iPS 細胞から作製した T 細胞の遺伝子発現を解析してその性質を明らかにするとともに、遺伝子の導入や培養条件の工夫によって、iPS 細胞由来 T 細胞に、他の免疫細胞の機能を高めるヘルパーT 細胞様の機能を獲得させることに成功しました。この研究成果は 2018 年 5 月 25 日午前 2 時 (日本時間) に米国科学誌「Stem Cell Reports」でオンライン公開されました。

2. 研究の背景

がんは、日本人の半数が生涯のうちに罹り、3 人に 1 人の死因となる国民病です。がんの治療には主に、外科治療 (手術) や放射線治療、化学療法 (抗がん剤) がありますが、それらに加えて、体を異物から守るための免疫機能を高めてがんを治療しようという免疫療法が注目されています。

体内には、ヘルパーT 細胞や樹状細胞、細胞傷害性 T 細胞 (キラーT 細胞) などの免疫細胞があり、それぞれが協調してはたらくています。例えば、樹状細胞ががん細胞を認識すると、ヘルパーT 細胞を活性化させます。活性化したヘルパーT 細胞は樹状細胞を活性化させ、その樹状細胞がさらにはがん細胞の表面にある抗原をキラーT 細胞に提示します。すると、がん細胞を特異的に攻撃するキラーT 細胞が増殖し、がんを攻撃します。しかし、がん細胞との慢性的な闘いの結果、免疫細胞が疲弊し、機能が低下したり数が減少したりすることで、がんが増殖する一因となることが知られています。

金子准教授らのグループはこれまでに、弱ったキラーT 細胞を iPS 細胞へと初期化し、再びキラーT 細胞へと分化させることで、元気に若返ったキラーT 細胞を作製することに成功しています。本研究は、この基盤技術を応用して、iPS 細胞から分化させた T 細胞にヘルパーT 細胞様の機能をもたせることを目的として行われました。

1 種類のキラーT 細胞は 1 つのがん細胞抗原しか認識できないため、がん細胞が細胞表面の抗原を改変してキラーT 細胞の攻撃から逃れることがあります。一方、ヘルパーT 細胞はいろいろな種類のキラーT 細胞

を活性化させるため、がん細胞が攻撃から逃れるのを防ぐのに有用と考えられ、再生免疫細胞を用いたがん治療のひとつのアプローチとして効果的であると考えられています。

3. 研究結果

1) ヒト iPS 細胞由来 T 細胞がヘルパー T 細胞とは異なる遺伝子発現パターンを示すことを明らかにした

まず研究グループは、以前に報告した手法を用いて、健康な方の血液に含まれている CD4^{注5} 陽性ヘルパー T 細胞から iPS 細胞を作製し、その iPS 細胞を T 細胞に分化させました (iPS-T 細胞)。CD4 陽性ヘルパー T 細胞および iPS-T 細胞について、それぞれ、免疫細胞を活性化させるタンパク質を添加して 14 日間培養したのち、遺伝子発現を解析してみると、iPS-T 細胞は、T 細胞に特徴的ないくつかの遺伝子や T 細胞受容体遺伝子を発現していた一方で、ヘルパー T 細胞のはたらしに必須と考えられている CD4 遺伝子は発現していませんでした (図 1)。

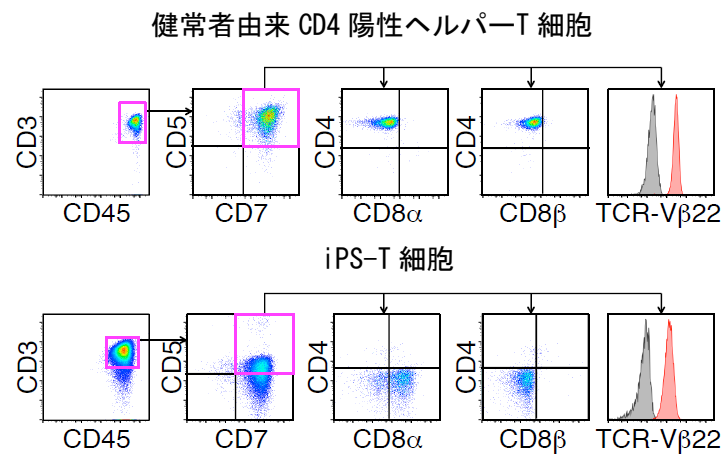


図 1 CD4 陽性ヘルパー T 細胞と iPS-T 細胞の遺伝子発現の比較

CD45…リンパ球全般に特徴的な遺伝子 CD3、CD5、CD7…T 細胞全般に特徴的な遺伝子
CD8 α 、CD8 β …キラー T 細胞やナチュラルキラー T 細胞に特徴的な遺伝子
CD4…ヘルパー T 細胞に特徴的な遺伝子
TCR-V β 22…T 細胞受容体。T 細胞全般の細胞表面に存在し、抗原を認識するタンパク質

2) iPS-T 細胞に CD4 遺伝子を導入し、樹状細胞を活性化させる細胞群を選び出した

研究グループは、1) で作製した iPS-T 細胞にヘルパー T 細胞様の機能をもたせるため、CD4 遺伝子を導入しました。CD4 遺伝子を導入した iPS-T 細胞 (CD4⁺iPS-T 細胞) は、CD4 遺伝子を導入していない iPS-T 細胞に比べて活発に増殖し、サイトカイン^{注6}を多く産生するなど、抗原に対してより強い反応を示しました。

活性化した CD4 陽性ヘルパー T 細胞では CD40L タンパク質が発現しており、CD40L は樹状細胞を活性化させることが知られています。そこで次に、培養条件の工夫によって、iPS-T 細胞および CD4⁺iPS-T 細胞に CD40L を発現させ、CD40L の発現度合いによって 4 つのグループに分類しました。それぞれのグループを樹状細胞と共培養し、がん抗原 (b3a2) に対する反応を観察したところ、CD40L を強く発現している CD4⁺iPS-T 細胞のグループ (CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞) と共培養したとき、他の 3 つのグループに比べて樹状細胞が活性化し、サイトカインを多く産生していました (図 2)。この結果から、CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞がヘルパー T 細胞と同様に樹状細胞を活性化させる機能をもつことが示唆されました。

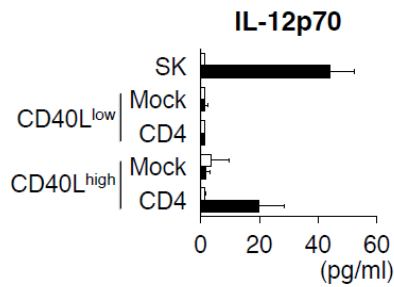


図2 各グループと共培養したときに樹状細胞が産生したIL-12p70（サイトカインの一種）の量。白いグラフが対照群、黒いグラフが b3a2 を加えた群を示す。

SK…健常者由来ヘルパーT細胞 Mock…CD4 遺伝子を導入していない iPS-T 細胞
 CD4…CD4⁺iPS-T 細胞
 CD40L^{low}…各細胞群において、CD40L の発現が弱いグループ
 CD40L^{high}…各細胞群において、CD40L の発現が強いグループ

3) CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞が樹状細胞の活性化を介し、がん細胞を攻撃するキラーT 細胞を増殖させることを示した

CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞によって活性化された樹状細胞にキラーT 細胞を活性化する効果があるかを確認するため、D40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞および樹状細胞、キラーT 細胞をがん細胞マーカーとともに共培養したところ（図3 A）、キラーT 細胞が活性化し、活発に増殖していました。また、がん細胞を移植したマウスの体内に、CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞および樹状細胞との共培養によって活性化されたキラーT 細胞を移植したところ、がん細胞の増殖が抑えられ（図3 B）、マウスの生存率が向上しました（図3 C）。

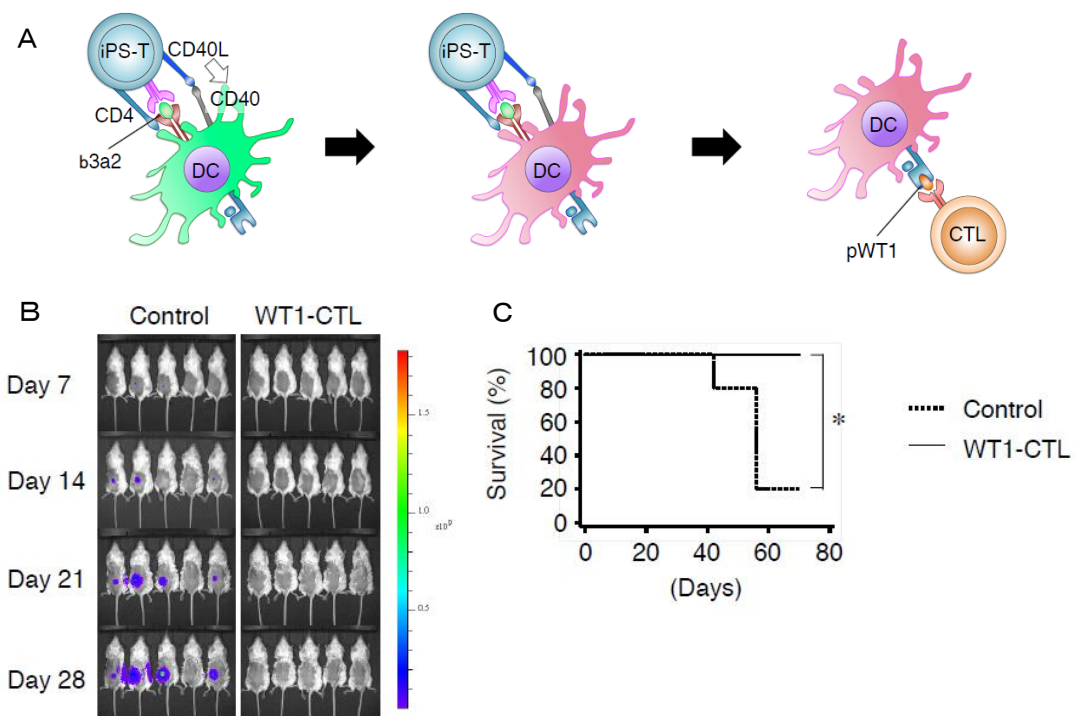


図3 A : CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞および樹状細胞、キラーT 細胞を共培養する実験のイメージ。がん細胞マーカーb3a2 の刺激を受けた CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞が、CD40L の作用によって樹状細胞（DC）を活性化させる。樹状細胞が提示する抗原に対して、がん細胞が産生するペプチド^{注7}WT1（pWT1）を介して活性化されるキラーT 細胞（CTL）の増殖率を測定した。

B : pWT1 を発現するがん細胞を移植したマウスの体内に、CD40L^{high}CD4⁺iPS-T 細胞および樹状細胞との共培養によって活性化された pWT1 (がん細胞が産生するペプチド) 特異的なキラーT 細胞を移植したときのがん細胞の推移

Control…対照群 WT1-CTL…pWT1 特異的なキラーT 細胞を移植した群

C : 図 3 B の実験におけるマウスの生存率の推移

Control…対照群 WT1-CTL…pWT1 特異的なキラーT 細胞を移植した群

4. まとめ

本研究では、以前に開発した方法で分化誘導された iPS-T 細胞が、ヘルパーT 細胞とは異なる遺伝子発現パターンを示すことを見出しました。また、遺伝子の導入や培養条件の工夫によって、iPS-T 細胞にヘルパーT 細胞様の機能をもたせることに成功しました。

この成果によって、今後、再生免疫細胞を移植することで免疫機能を高め、がんの治療を図る免疫療法への応用が期待されます。

5. 論文名と著者

○ 論文名

Generation of TCR expressing innate lymphoid-like helper cells that induce cytotoxic T cell-mediated anti-leukemic cell response

○ ジャーナル名

Stem Cell Reports

○ 著者

Norihiro Ueda^{1,2,4}, Yasushi Uemura^{3,4}, Rong Zhang^{3,4}, Shuichi Kitayama¹, Shoichi Iriguchi¹, Yohei Kawai¹, Yutaka Yasui¹, Minako Tatsumi⁴, Tatsuki Ueda¹, Tian-Yi Liu^{4,5}, Yasutaka Mizoro¹, Chihiro Okada¹, Akira Watanabe¹, Mahito Nakanishi⁶, Satoru Senju⁷, Yasuharu Nishimura⁷, Kiyotaka Kuzushima⁴, Hitoshi Kiyoi², Tomoki Naoe⁸, and Shin Kaneko^{1*}

*責任著者

○ 著者の所属機関

1. 京都大学 iPS 細胞研究所
2. 名古屋大学大学院医学系研究科
3. 国立がん研究センター 先端医療開発センター
4. 愛知県がんセンター研究所
5. Chinese PLA General Hospital
6. 産業技術総合研究所 幹細胞工学研究センター
7. 熊本大学大学院医学教育部
8. 国立病院機構 名古屋医療センター

*…責任著者

6. 本研究への支援

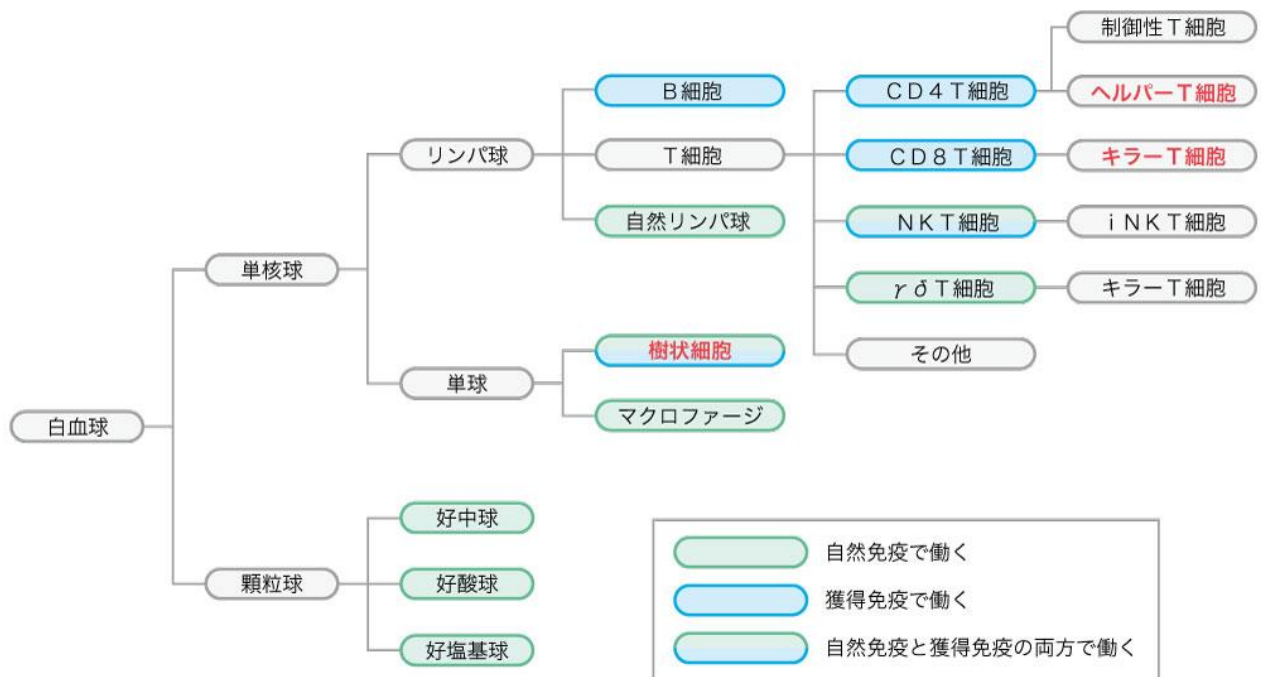
本研究は、下記機関より支援を受けて実施されました。

- 国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）次世代がん研究シーズ戦略的育成プログラム（P-DIRECT）「免疫機構をターゲットとした創薬」がん特異抗原 glypican-3 を標的とした iPS 細胞由来再生 T 細胞療法の開発
- 国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）再生医療実現拠点ネットワークプログラム iPS 細胞研究中核拠点
- 文部科学省 科学研究費補助金 新学術領域研究
- 文部科学省 科学研究費補助金 挑戦的萌芽研究
- Nagano Medical Foundation
- 国立がん研究センター研究開発費
- 公益財団法人 武田科学振興財団

7. 用語説明

注 1) 樹状細胞

免疫においてはたらく細胞の一種。生体内の異物を細胞内に取り込んで分解するほか、異物の抗原を細胞表面に提示して、ヘルパー T 細胞やキラー T 細胞などの他の免疫細胞を活性化させるはたらきをもつ。免疫細胞の分類については下図を参照。



注 2) 抗原

生体内に入ると免疫系を刺激して、特異的な反応を誘発させる物質の総称。

注 3) ヘルパー T 細胞

免疫においてはたらく細胞の一種。抗原を認識してその情報を他の免疫細胞に伝えるはたらきをもつ。免疫細胞の分類については注 1 の図を参照。

注 4) キラー T 細胞

免疫においてはたらく細胞の一種。他の免疫細胞から抗原の情報を受け取ると、その抗原に対応するキラー T 細胞が活性化し、異物を攻撃して分解する。免疫細胞の分類については注 1 の図を参照。

注5) CD4

細胞表面上のマーカ分子。ヘルパーT細胞や樹状細胞、マクロファージなどで発現している。

注6) サイトカイン

さまざまな細胞から分泌され、特定の細胞の働きに作用するタンパク質。

注7) ペプチド

アミノ酸という物質が複数つながったものをペプチドという。ペプチドがさらに長くつながり、複雑な構造をとるようになったものがタンパク質である。