

Title	自己免疫性疾患に対する免疫細胞療法の開発
Sub Title	Development of adoptive immunotherapy against autoimmune diseases
Author	籠谷, 勇紀(Kagoya, Yuki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では、難治性の自己免疫性疾患の1つであるANCA関連血管炎に対して安全性、有効性に優れた免疫細胞療法を確立することを目的としている。自己抗原MPO及びPR3に対する自己抗体産生B細胞が主要な病態を形成することに着目して、同B細胞を特異的に認識・攻撃できるT細胞の開発を進めた。自己抗体を発現するB細胞を認識させるため、細胞外ドメインにMPO重鎖、PR3を配置し、細胞内にT細胞を活性化させる共刺激分子CD28、及びCD3zのシグナルドメインを配置した人工受容体を作製した。同抗原がT細胞表面に発現することを確認した。一方MPO、PR3に対する既知の自己抗体配列より単鎖可変領域(scFv)を合成して、細胞株表面に発現させた。上記の受容体搭載T細胞と自己抗体scFv発現細胞を共培養したが、有意な活性化が見られなかった。自己免疫疾患は様々な親和性を持つ自己抗体のポリクローナルな集団から成ると考えられるため、必ずしも十分な細胞傷害活性を誘導できるとは限らないためと考えられた。そこで自己免疫性疾患で増生するdouble-negative B細胞(CD27-IgD-)を標的とするとし、特徴的な表面抗原に対する抗体配列をもとに自己反応性B細胞を標的とするキメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子の合成を行った。さらに、遺伝子改変T細胞機能の持続性を高める観点から、CRISPR/Cas9による遺伝子改変を進めた。これまでに我々が同定しているPRDM1遺伝子に加えて、長期生存能付与、疲弊解除に関わる遺伝子を探索して、複数の有望な標的を同定した。この過程で、標的遺伝子に対してガイドRNAの配列設計を最適化する手法を開発した (Ito et al. Nucleic Acids Res 2024) 。</p> <p>The aim of this study is to establish a safe and effective adoptive T cell therapy for ANCA-associated vasculitis, one of the most intractable autoimmune diseases. Based on the findings that autoantibody-producing B cells against the autoantigens MPO and PR3 form the main pathogenesis, we have aimed to develop T cells that can specifically attack the B cells that express those autoantibodies. In order to recognise cells expressing anti-MPO or anti-PR3 antibodies, we created artificial receptors, in which MPO heavy chains and PR3 were placed in the extracellular domain and linked to the intracellular domains of CD28 and CD3z. We confirmed that the receptor was successfully expressed on the T-cell surface. We also synthesized single-chain variable fragments (scFv) derived from previously reported autoantibody sequences against MPO and PR3 and expressed them on cell lines. However, co-culture of the above artificial receptor-transduced T cells and anti-MPO or anti-PR3 scFv-expressing cells induced no significant T-cell activation. These results suggest that auto-reactive antibodies possess variable affinity, which is not always enough to induce potent cytotoxic activity.</p> <p>Based on these results, we decided to focus on double-negative B cells (CD27-IgD-), which are increased in multiple autoimmune diseases. To develop chimeric antigen receptor (CAR)-T cells that can target the double-negative B cells, we synthesised several scFvs targeting surface antigens expressed in these B-cell populations. In addition to these works, we utilized CRISPR/Cas9-mediated genetic modification of T cells to enhance their persistence and/or effector functions. We have previously reported that the ablation of PRDM1 can augment self-renewal potential of memory T cells. We further explored targets contributing to enhancing T cell function and identified several promising genes. In this process, we have successfully developed an algorithm to optimise the target sequences of guide RNAs used in CRISPR/Cas9 gene editing (Ito et al. Nucleic Acids Res 2024).</p>
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230285

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（個人研究） 研究成果実績報告書

研究代表者	所属	医学部附属先端医学研究所	職名	教授	補助額	1,000千円 (特A)
	氏名	籠谷 勇紀	氏名(英語)	Yuki Kagoya		
研究課題（日本語）						
自己免疫性疾患に対する免疫細胞療法の開発						
研究課題（英訳）						
Development of adoptive immunotherapy against autoimmune diseases						
1. 研究成果実績の概要						
<p>本研究では、難治性の自己免疫性疾患の1つである ANCA 関連血管炎に対して安全性、有効性に優れた免疫細胞療法を確立することを目的としている。自己抗原MPO及びPR3に対する自己抗体産生B細胞が主要な病態を形成することに着目して、同B細胞を特異的に認識・攻撃できるT細胞の開発を進めた。自己抗体を発現するB細胞を認識させるため、細胞外ドメインにMPO重鎖、PR3を配置し、細胞内にT細胞を活性化させる共刺激分子CD28、及びCD3zのシグナルドメインを配置した人工受容体を作製した。同抗原がT細胞表面に発現することを確認した。一方MPO、PR3に対する既知の自己抗体配列より単鎖可変領域(scFv)を合成して、細胞株表面に発現させた。上記の受容体搭載T細胞と自己抗体scFv発現細胞を共培養したが、有意な活性化が見られなかった。自己免疫疾患は様々な親和性を持つ自己抗体のポリクローナルな集団から成ると考えられるため、必ずしも十分な細胞傷害活性を誘導できるとは限らないためと考えられた。そこで自己免疫性疾患で増生するdouble-negative B細胞(CD27-IgD-)を標的とするとし、特徴的な表面抗原に対する抗体配列をもとに自己反応性B細胞を標的とするキメラ抗原受容体 (CAR) 遺伝子の合成を行った。さらに、遺伝子改変T細胞機能の持続性を高める観点から、CRISPR/Cas9による遺伝子改変を進めた。これまでに我々が同定しているPRDM1遺伝子に加えて、長期生存能付与、疲弊解除に関わる遺伝子を探索して、複数の有望な標的を同定した。この過程で、標的遺伝子に対してガイドRNAの配列設計を最適化する手法を開発した (Ito et al. Nucleic Acids Res 2024)。</p>						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
<p>The aim of this study is to establish a safe and effective adoptive T cell therapy for ANCA-associated vasculitis, one of the most intractable autoimmune diseases. Based on the findings that autoantibody-producing B cells against the autoantigens MPO and PR3 form the main pathogenesis, we have aimed to develop T cells that can specifically attack the B cells that express those autoantibodies. In order to recognise cells expressing anti-MPO or anti-PR3 antibodies, we created artificial receptors, in which MPO heavy chains and PR3 were placed in the extracellular domain and linked to the intracellular domains of CD28 and CD3z. We confirmed that the receptor was successfully expressed on the T-cell surface. We also synthesized single-chain variable fragments (scFv) derived from previously reported autoantibody sequences against MPO and PR3 and expressed them on cell lines. However, co-culture of the above artificial receptor-transduced T cells and anti-MPO or anti-PR3 scFv-expressing cells induced no significant T-cell activation. These results suggest that auto-reactive antibodies possess variable affinity, which is not always enough to induce potent cytotoxic activity. Based on these results, we decided to focus on double-negative B cells (CD27-IgD-), which are increased in multiple autoimmune diseases. To develop chimeric antigen receptor (CAR)-T cells that can target the double-negative B cells, we synthesised several scFvs targeting surface antigens expressed in these B-cell populations. In addition to these works, we utilized CRISPR/Cas9-mediated genetic modification of T cells to enhance their persistence and/or effector functions. We have previously reported that the ablation of PRDM1 can augment self-renewal potential of memory T cells. We further explored targets contributing to enhancing T cell function and identified several promising genes. In this process, we have successfully developed an algorithm to optimise the target sequences of guide RNAs used in CRISPR/Cas9 gene editing (Ito et al. Nucleic Acids Res 2024).</p>						
3. 本研究課題に関する発表						
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)			
Ito Y, Inoue S, Nakashima T, Zhang H, Li Y, Kasuya H, Matsukawa T, Wu Z, Yoshikawa T, Kataoka M, Ishikawa T, Kagoya Y.	Epigenetic profiles guide improved CRISPR/Cas9-mediated gene knockout in human T cells.	Nucleic Acids Res.	2024;52:141-153.			