

Title	腫瘍反応性T細胞の濃縮と機能改善による個別化T細胞移入療法の新規開発
Sub Title	Development of personalized T cell transfer therapy by enrichment and functional improvement of tumor-reactive T cells
Author	吉川, 聡明(Yoshikawa, Toshiaki)
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	本研究では、腫瘍浸潤リンパ球(Tumor infiltrating lymphocyte: TIL)から一部の腫瘍反応性TILを濃縮し、さらに遺伝子改変により、低下した増殖能・長期生存能を亢進させ、持続的な抗腫瘍効果を高めた新たな個別化T細胞移入療法の開発を目的とした。 卵巣がん、子宮頸がん、子宮体がん患者の手術切除検体を分散処理し、がん細胞とTILを使用した。増殖能・生存能を亢進させるために、TILに遺伝子導入しサイトカインシグナルを恒常的に活性化させた。TILに適した刺激培養方法と遺伝子導入方法の検討を行ったところ、過去に報告されている高濃度IL-2のみの刺激培養方法と比較して、抗CD3抗体(クローン:OKT3)と共刺激分子CD80による刺激培養方法の方が、遺伝子導入効率が高率であり、高い細胞増殖率も得られた。培養後に疲弊化マーカーとしてPD-1, Tim-3, LAG-3の発現を比較したところ、高濃度IL-2培養とOKT3-CD80培養の間で同程度であった。TILを増殖させた前後でT細胞受容体(T cell receptor: TCR)のレパトア解析を行った。高濃度IL-2培養法もOKT3-CD80刺激培養法も、培養後もTCRレパトアの多様性が認められた。培養したTILの腫瘍反応性を調べるため、分散処理した自己腫瘍細胞と共培養しIFN-γ ELISPOT解析を行った。高濃度IL-2培養とOKT3-CD80刺激培養法どちらで増殖させたTILも自己腫瘍細胞に対してIFN-γ産生を認め、その頻度は同程度であった。 これらより、TILのin vitroでの増殖と遺伝子導入効率において、高濃度IL-2培養法よりもOKT3-CD80刺激培養方法が優れており、さらにTCRレパトアの多様性や自己腫瘍反応性TILの頻度は保たれていた。今後は、オルガノイドや免疫不全マウスを使用して自己腫瘍細胞を増殖させ、TILのin vivoでの増殖能・長期生存能や抗腫瘍効果を評価する。 In the present study, to develop the new strategy of effective personalized immunotherapy, we establish the manufacturing process of autologous tumor infiltrating lymphocytes (TILs) through the methods to culture the tumor-reactive TILs ex vivo and to enhance the functions of TILs. Surgically resected tumor tissues were obtained from patients with ovarian, cervical, and uterine cancer. To enhance proliferation and viability, TILs were transferred genes that constitutively activate cytokine signaling. The culture method using anti-CD3 antibody (clone: OKT3) and co-stimulation molecule CD80 showed higher gene transfer efficiency and higher cell proliferation rate compared to the previously reported culture method using only high dose IL-2. The expression levels of PD-1, Tim-3, and LAG-3 of TILs was comparable between high dose IL-2 and OKT3-CD80 cultures. Repertoire analysis of T cell receptors (TCR) was performed before and after TIL proliferation. Diversity in the TCR repertoire was observed even after culture in both the high-dose IL-2 and the OKT3-CD80 method. To examine the tumor reactivity of cultured TILs, IFN-γ ELISPOT analysis was performed by co-culturing them with autologous tumor cells. Both high-dose IL-2 and OKT3-CD80 cultured TILs showed IFN-γ production against autologous tumor cells, and the frequency of IFN-γ producing cells was comparable. These results indicate that the OKT3-CD80 method was superior to the high dose IL-2 method in terms of TIL proliferation and gene transfer efficiency in vitro, while the diversity of TCR repertoire and the frequency of autologous tumor-reactive TILs were maintained. In future, we will use organoids and immunodeficient mice to evaluate the in vivo proliferative and long-term survival capacity and antitumor effects of TILs.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230287

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	医学部附属先端医科学研究所	職名	助教（有期・医学部）	補助額	300千円 （A）
	氏名	吉川 聡明	氏名（英語）	Toshiaki Yoshikawa		
研究課題（日本語） 腫瘍反応性T細胞の濃縮と機能改善による個別化T細胞移入療法の新規開発						
研究課題（英訳） Development of personalized T cell transfer therapy by enrichment and functional improvement of tumor-reactive T cells						
1. 研究成果実績の概要 本研究では、腫瘍浸潤リンパ球(Tumor infiltrating lymphocyte: TIL)から一部の腫瘍反応性TILを濃縮し、さらに遺伝子改変により、低下した増殖能・長期生存能を亢進させ、持続的な抗腫瘍効果を高めた新たな個別化T細胞移入療法の開発を目的とした。 卵巣がん、子宮頸がん、子宮体がん患者の手術切除検体を分散処理し、がん細胞とTILを使用した。増殖能・生存能を亢進させるために、TILに遺伝子導入しサイトカインシグナルを恒常的に活性化させた。TILに適した刺激培養方法と遺伝子導入方法の検討を行ったところ、過去に報告されている高濃度IL-2のみの刺激培養方法と比較して、抗CD3抗体(クローン:OKT3)と共刺激分子CD80による刺激培養方法の方が、遺伝子導入効率が高率であり、高い細胞増殖率も得られた。培養後に疲弊化マーカーとしてPD-1、Tim-3、LAG-3の発現を比較したところ、高濃度IL-2培養とOKT3-CD80培養の間で同程度であった。TILを増殖させた前後でT細胞受容体(T cell receptor: TCR)のレパトア解析を行った。高濃度IL-2培養法もOKT3-CD80刺激培養法も、培養後にもTCRレパトアの多様性が認められた。培養したTILの腫瘍反応性を調べるため、分散処理した自己腫瘍細胞と共培養しIFN- γ ELISPOT解析を行った。高濃度IL-2培養とOKT3-CD80刺激培養法どちらで増殖させたTILも自己腫瘍細胞に対してIFN- γ 産生を認め、その頻度は同程度であった。 これらより、TILのin vitroでの増殖と遺伝子導入効率において、高濃度IL-2培養法よりもOKT3-CD80刺激培養方法が優れており、さらにTCRレパトアの多様性や自己腫瘍反応性TILの頻度は保たれていた。今後は、オルガノイドや免疫不全マウスを使用して自己腫瘍細胞を増殖させ、TILのin vivoでの増殖能・長期生存能や抗腫瘍効果を評価する。						
2. 研究成果実績の概要（英訳） In the present study, to develop the new strategy of effective personalized immunotherapy, we establish the manufacturing process of autologous tumor infiltrating lymphocytes (TILs) through the methods to culture the tumor-reactive TILs ex vivo and to enhance the functions of TILs. Surgically resected tumor tissues were obtained from patients with ovarian, cervical, and uterine cancer. To enhance proliferation and viability, TILs were transferred genes that constitutively activate cytokine signaling. The culture method using anti-CD3 antibody (clone: OKT3) and co-stimulation molecule CD80 showed higher gene transfer efficiency and higher cell proliferation rate compared to the previously reported culture method using only high dose IL-2. The expression levels of PD-1, Tim-3, and LAG-3 of TILs was comparable between high dose IL-2 and OKT3-CD80 cultures. Repertoire analysis of T cell receptors (TCR) was performed before and after TIL proliferation. Diversity in the TCR repertoire was observed even after culture in both the high-dose IL-2 and the OKT3-CD80 method. To examine the tumor reactivity of cultured TILs, IFN- γ ELISPOT analysis was performed by co-culturing them with autologous tumor cells. Both high-dose IL-2 and OKT3-CD80 cultured TILs showed IFN- γ production against autologous tumor cells, and the frequency of IFN- γ producing cells was comparable. These results indicate that the OKT3-CD80 method was superior to the high dose IL-2 method in terms of TIL proliferation and gene transfer efficiency in vitro, while the diversity of TCR repertoire and the frequency of autologous tumor-reactive TILs were maintained. In future, we will use organoids and immunodeficient mice to evaluate the in vivo proliferative and long-term survival capacity and antitumor effects of TILs.						
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）			