

Title	個別化CAR-T細胞免疫療法の実現に向けた基盤構築
Sub Title	Establishment of precision medicine for CAR-T cell immunotherapy
Author	井上, 聡(Inoue, Satoshi)
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	キメラ抗原受容体(chimeric antigen receptor, CAR) T細胞を始めとする免疫細胞療法が難治性腫瘍に対する治療法として注目されているが、大半の悪性腫瘍に対しては持続的な治療効果が得られていない。腫瘍細胞がCAR-T細胞に対する複数の抵抗性因子を探索・同定した。本研究は抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性型CAR-T細胞を併用することで治療成績の改善を目指すものである。 ①CAR-T細胞に対する感受性データベースの作製 CAR-T細胞を「生きた医薬品」として捉え、CAR-T細胞感受性データベースを作成している。腫瘍細胞株にCD19抗原を安定導入した上で、CD19に対するCAR-T細胞による細胞傷害効果を定量化し、127種類の腫瘍細胞株からなるCAR-T細胞感受性データベースを作成した。 ②腫瘍細胞側の抵抗性因子の同定 腫瘍細胞株のCAR-T細胞感受性データと遺伝子発現・変異データの相関性解析を行った。酸化的リン酸化、細胞死、プロテアソーム活性関連遺伝子群が抵抗性細胞株で高発現していた。 ③抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性CAR-T細胞の併用療法の有用性の検証 抵抗性因子の阻害によりCAR-T細胞に対する感受性が高まるか否かを検証する。薬剤耐性遺伝子をCAR遺伝子とともに共導入することにより、薬剤耐性型CAR-T細胞を作製する。例えば抗細胞死因子BCL2は阻害薬としてNavitoclax、耐性変異としてBcl2 p.G101Vが報告されている。薬剤耐性変異 (Bcl2 p.G101V) を遺伝子導入したCAR-T細胞とBCL2阻害薬を抵抗性細胞株に対して併用したところ、抵抗性の克服が認められた。この結果は本研究戦略の妥当性・有効性を示唆する結果といえる。 以上の通り、感受性データと遺伝子プロファイルを組み合わせることで、抵抗性因子を抽出すること、さらに抵抗性因子に対する阻害薬と併用することでCAR-T細胞の治療効果を飛躍的に向上できるというproof-of-conceptを取得した。 Chimeric antigen receptors (CAR) are synthetic receptors that enable cells to recognize and eliminate target cells expressing a cognate ligand. CAR-T cells are engineered T cells expressing CAR targeted against tumor cell antigens, an approach now widely used to treat cancers. Tremendous clinical outcomes have been achieved for patients with diffuse large B cell lymphoma or acute lymphoblastic leukemia (ALL) who received adoptive transfer of autologous CD19-targeted CAR-T cells, making this therapeutic approach the first to have a specific genetic engineering component. However, even with a remarkable initial response, relapse and refractory cases of CAR-T cell-treated malignancies are commonly observed. Tumor cells may possess resistance factors against CAR-T cells. The purpose of this study is improvement of therapeutic outcomes by combining inhibitors of resistance factors in combination with drug-resistant CAR-T cells. 1.Establishment of database of sensitivity to CAR-T cells Quantification of the cytotoxic effects of CAR-T cells targeting CD19 was performed using 127 CD19-stable expressing tumor cell lines. 2. Identification of resistance factors in tumor Cells Correlation analyses between CAR-T cell sensitivity and genetic expression profiles raised a possibility that oxidative phosphorylation and cell death-related genes are the resistant factors. 3. Validation of the efficacy of combined with inhibitors of resistance Factors and drug-Resistant CAR-T Cells. Drug-resistant CAR-T cells were created by co-introducing drug-resistant genes with CAR genes. For example, the anti-apoptotic factor BCL2 has been reported to have Navitoclax as an inhibitory drug and the Bcl2 p.G101V mutation as a resistance mutation. When drug-resistant CAR-T cells with the drug-resistant mutation (Bcl2 p.G101V) were combined with BCL2 inhibitor against resistant cell lines, overcoming resistance was observed. These results suggest the validity and effectiveness of this research strategy.
Notes	
Genre	Research Paper

URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000010-20230288
-----	---

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	専任講師	補助額	1,000千円 (特A)
	氏名	井上 聡	氏名(英語)	Satoshi Inoue		

研究課題（日本語）

個別化CAR-T細胞免疫療法の実現に向けた基盤構築

研究課題（英訳）

Establishment of precision medicine for CAR-T cell immunotherapy

1. 研究成果実績の概要

キメラ抗原受容体(chimeric antigen receptor, CAR) T細胞を始めとする免疫細胞療法が難治性腫瘍に対する治療法として注目されているが、大半の悪性腫瘍に対しては持続的な治療効果が得られていない。腫瘍細胞がCAR-T細胞に対する複数の抵抗性因子を探索・同定した。本研究は抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性型CAR-T細胞を併用することで治療成績の改善を目指すものである。

①CAR-T細胞に対する感受性データベースの作製

CAR-T細胞を「生きた医薬品」として捉え、CAR-T細胞感受性データベースを作成している。腫瘍細胞株にCD19抗原を安定導入した上で、CD19に対するCAR-T細胞による細胞傷害効果を定量化し、127種類の腫瘍細胞株からなるCAR-T細胞感受性データベースを作成した。

②腫瘍細胞側の抵抗性因子の同定

腫瘍細胞株のCAR-T細胞感受性データと遺伝子発現・変異データの相関性解析を行った。酸化的リン酸化、細胞死、プロテアソーム活性関連遺伝子群が抵抗性細胞株で高発現していた。

③抵抗性因子に対する阻害剤と薬剤耐性CAR-T細胞の併用療法の有用性の検証

抵抗性因子の阻害によりCAR-T細胞に対する感受性が高まるか否かを検証する。薬剤耐性遺伝子をCAR遺伝子とともに共導入することにより、薬剤耐性型CAR-T細胞を作製する。例えば抗細胞死因子BCL2は阻害薬としてNavitoclax、耐性変異としてBcl2 p.G101Vが報告されている。薬剤耐性変異（Bcl2 p.G101V）を遺伝子導入したCAR-T細胞とBCL2阻害薬を抵抗性細胞株に対して併用したところ、抵抗性の克服が認められた。この結果は本研究戦略の妥当性・有効性を示唆する結果といえる。

以上の通り、感受性データと遺伝子プロファイルを組み合わせることで、抵抗性因子を抽出すること、さらに抵抗性因子に対する阻害薬と併用することでCAR-T細胞の治療効果を飛躍的に向上できるというproof-of-conceptを取得した。

2. 研究成果実績の概要（英訳）

Chimeric antigen receptors (CAR) are synthetic receptors that enable cells to recognize and eliminate target cells expressing a cognate ligand. CAR-T cells are engineered T cells expressing CAR targeted against tumor cell antigens, an approach now widely used to treat cancers. Tremendous clinical outcomes have been achieved for patients with diffuse large B cell lymphoma or acute lymphoblastic leukemia (ALL) who received adoptive transfer of autologous CD19-targeted CAR-T cells, making this therapeutic approach the first to have a specific genetic engineering component. However, even with a remarkable initial response, relapse and refractory cases of CAR-T cell-treated malignancies are commonly observed. Tumor cells may possess resistance factors against CAR-T cells. The purpose of this study is improvement of therapeutic outcomes by combining inhibitors of resistance factors in combination with drug-resistant CAR-T cells.

1.Establishment of database of sensitivity to CAR-T cells

Quantification of the cytotoxic effects of CAR-T cells targeting CD19 was performed using 127 CD19-stable expressing tumor cell lines.

2. Identification of resistance factors in tumor Cells

Correlation analyses between CAR-T cell sensitivity and genetic expression profiles raised a possibility that oxidative phosphorylation and cell death-related genes are the resistant factors.

3. Validation of the efficacy of combined with inhibitors of resistance Factors and drug-Resistant CAR-T Cells.

Drug-resistant CAR-T cells were created by co-introducing drug-resistant genes with CAR genes. For example, the anti-apoptotic factor BCL2 has been reported to have Navitoclax as an inhibitory drug and the Bcl2 p.G101V mutation as a resistance mutation. When drug-resistant CAR-T cells with the drug-resistant mutation (Bcl2 p.G101V) were combined with BCL2 inhibitor against resistant cell lines, overcoming resistance was observed. These results suggest the validity and effectiveness of this research strategy.

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)