

論文審査の要旨及び担当者

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	中川原 賢 亮
論文審査担当者 主 査 内科学 福 永 興 亮 内科学 片 岡 圭 亮 微生物学・免疫学 石 垣 和 慶 先端医科学（がん免疫） 籠 谷 勇 紀 学力確認担当者： 審査委員長：片岡 圭亮 試問日：2024年10月31日				
(論 文 審 査 の 要 旨)				
論文題名：NR4A ablation improves mitochondrial fitness for long persistence in human CAR-T cells against solid tumors (NR4Aを欠損させたヒトCAR-T細胞はミトコンドリアの恒常性を改善し、固形がんに対し長期的な抗腫瘍効果をもたらすことができる)				
本研究ではT細胞疲弊を誘導する転写因子のNR4A1、NR4A2、NR4A3を欠損させたNR4A Triple knockout (TKO) CAR-T細胞を作成し、その表現型と抗腫瘍効果を評価した。その結果、TKO CAR-T細胞は <i>in vitro</i> で腫瘍細胞による反復抗原刺激 (Continuous antigen exposure; CAE) 環境下において疲弊に対し耐性を示し、高い抗腫瘍活性および代謝活性を認めた。本研究は、NR4Aがミトコンドリアに関連する遺伝子発現を通じてCAR-T細胞の持続性と幹細胞性を調節する可能性を示した。				
審査では、CAE 実施前の段階でNR4Aの欠損がCAR-T細胞に与える影響とCAEがCAR-T細胞に与えた影響について問われた。CAE実施前は野生型、TKO CAR-T細胞の両群で、早期のメモリー及び疲弊に関連した細胞表面マーカーの変化を認めなかったが、酸化的リン酸化とそれに関連する遺伝子発現がCAE実施前からTKO CAR-T細胞で亢進していたことから、NR4Aがミトコンドリアや酸化的リン酸化を制御している可能性が考えられた。またCAEが与えた影響については、野生型CAR-T細胞では疲弊に関連した遺伝子発現の増加および増殖能・抗腫瘍効果・代謝活性の低下を認めたことからCAEによってT細胞疲弊が誘導できていると考えられ、NR4Aの欠損はCAE環境下において疲弊化への抵抗性をもたらす事が示されたと回答された。またNR4Aの欠損が早期のメモリーマーカーの増加をもたらす機序についても問われた。同研究グループによる先行研究ではマウスの腫瘍浸潤リンパ球におけるNR4Aの欠損は、TCF7を誘導する事で幹細胞性を獲得している可能性が報告されており、本研究でもその関与が考えられたが、ヒトT細胞においてはドナー間の個人差もありNR4Aの欠損によるTCF7の一貫した増強は認められなかった。この点についても今後の課題であると回答された。またTKO CAR-T細胞の固形癌に対する有効性は2019年にマウスモデルの研究にてNatureに報告されているが、今回ヒトで検証した意義についても問われた。これについては臨床応用を見据えた場合、ヒトでの検証が重要である事に加え、本研究では固形がんの罹患者として多い高齢者由来のCAR-T細胞においてもNR4Aの欠損が抗腫瘍効果の改善に寄与する事が示され、新規性であると回答された。一方で高齢者由来のCD19 CAR-T細胞は、近年若年者と比較しても無増悪生存期間、奏効率に差がないという報告もあり、高齢者に対するがん免疫療法の最適な治療ターゲットについては今後も研究が必要であると指摘された。またCARの導入ベクターの差によって研究結果に影響が生じるかについても問われた。本研究において4-1BBZ、CD28ζいずれのベクターでもCD8 ⁺ CAR-T細胞の抗腫瘍効果は改善が得られたが、CAR-Tregの発現割合についてはベクターを変えた実験はできておらず、今後の課題であると回答された。これに関連しCAR-Tregの機能評価やエフェクターT細胞分化と疲弊誘導の関連性、エピジェネティクスの変化等についても問われたが、今回の研究では網羅的な評価・解析はできておらず今後さらなる研究が必要と回答された。				
以上本研究は、今後検討すべき課題を残すものの、ヒトT細胞におけるNR4Aの欠損がミトコンドリアの恒常性を改善し、固形がんに対するCAR-T細胞療法の長期的な抗腫瘍効果の改善に寄与する可能性を示した点で有意義な報告であると評価された。				