

Title	難治性の全身性エリテマトーデスに対する免疫細胞療法の開発
Sub Title	Development of adoptive immunotherapy for refractory systemic lupus erythematosus
Author	籠谷, 勇紀(Kagoya, Yuki)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2025
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では、難治性の自己免疫性疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)に対する免疫細胞療法、特にCAR-T細胞療法の開発を目指した。SLEに対するCD19標的CAR-T細胞療法が臨床試験で有望な結果を示し、注目されている。しかしB細胞全体を標的とすることから、持続的な治療効果を期待する場合、長期に渡り免疫不全状態となる点が課題である。SLEにおける自己反応性B細胞は、通常の成熟過程と異なり、主にリンパ濾胞外で形成されるdouble-negative (DN) B細胞であることが複数の研究から報告された。そこで、正常のB細胞で発現せず、DN B細胞に特異的な表面抗原を標的とするCAR-T細胞を開発し、自己反応性B細胞を選択的に除去することを目指した。遺伝子発現プロファイル解析からDN B細胞はFCRL5、ITGAXを選択的に発現していたことから、既知の抗体配列から同抗原に対するCAR-T細胞を作製した。両CAR-T細胞ともに、標的抗原を発現する細胞に対して特異的なエフェクター機能を誘導することを確認した。同時に、SLE患者検体を用いて自己反応性B細胞の単離、及びそのプロファイル解析を試みた。SLEでは抗核抗体が病勢と関係することから、ビオチン付きヌクレオソームを用いて、これと蛍光色素付きストレプトアビジンを用いて同抗原に反応するB細胞をフローサイトメトリーにより単離した。これまでに2ドナーで試験して、ヌクレオソーム反応性B細胞は健常人B細胞と比較して増加していることを確認したが、自己反応性B細胞集団はDN B細胞に必ずしも局限しておらず、同分画によらない固有の分子プロファイルを同定する必要があると示唆された。そこでヌクレオソーム反応性の単一B細胞由来mRNAから個別にライブラリを作成して、NGS解析を行う計画である。これまでに160個のB細胞からRNA単離、cDNA合成を進めており、遺伝子発現解析とは別にBCRクローニング、ヌクレオソーム反応性も確認する計画である。 In this study, we aimed to adoptive immunotherapy, especially CAR-T cell therapy, for systemic lupus erythematosus (SLE), one of the refractory autoimmune diseases. CD19-targeted CAR-T cell therapy for SLE has shown promising results in recent clinical trials. However, targeting the entire B-cell population results in long-term immunodeficiency if a durable therapeutic effect is accomplished. Several studies have reported that autoreactive B cells in SLE are double-negative (DN) B cells that form mainly outside the lymph follicles, unlike the normal maturation process. Based on these findings, we first developed CAR-T cells that target surface antigens that are not expressed on normal B cells but are specific to DN B cells to selectively eliminate autoreactive B cells. Since DN B cells selectively express FCRL5 and ITGAX based on gene expression profile analysis, CAR-T cells against these antigens were generated from known antibody sequences. Both CAR-T cells were confirmed to induce specific effector functions against cells expressing the target antigen. We also aimed to elucidate molecular profiles of autoreactive B cells in more detail. Since antinuclear antibodies are associated with disease activity in SLE, B cells reacting to the antigen were isolated by flow cytometry using biotin-conjugated nucleosomes and streptavidin with a fluorescent dye. The fluorescence-positive B cells were then isolated by flow cytometry. We have so far tested two donors and found that nucleosome-reactive B cells are increased in SLE patients compared to healthy donors. However, the autoreactive B cell population was not necessarily confined to DN B cells, suggesting the need to identify a unique molecular profile independent of this fraction. Now we plan to generate libraries for NGS analysis from nucleosome-reactive single B cell-derived mRNAs. We have isolated RNA and synthesized cDNA from 160 B cells, and plan to confirm BCR cloning and nucleosome reactivity in addition to gene expression analysis.
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2024000002-20240054

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.

2024年度 学事振興資金（共同研究）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	教授	補助額	2,000千円
	氏名	籠谷 勇紀	氏名（英語）	Yuki Kagoya		
研究課題（日本語）						
難治性の全身性エリテマトーデスに対する免疫細胞療法の開発						
研究課題（英訳）						
Development of adoptive immunotherapy for refractory systemic lupus erythematosus						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
籠谷 勇紀（Yuki Kagoya）		医学部・先端研（がん免疫）・教授				
金子 祐子（Yuko Kaneko）		医学部・内科学（リウマチ）・教授				
島田 達哉（Tatsuya Shimada）		医学部・内科学（リウマチ）・大学院生				
1. 研究成果実績の概要						
本研究では、難治性の自己免疫性疾患である全身性エリテマトーデス(SLE)に対する免疫細胞療法、特にCAR-T細胞療法の開発を目指した。SLEに対するCD19標的CAR-T細胞療法が臨床試験で有望な結果を示し、注目されている。しかしB細胞全体を標的とすることから、持続的な治療効果を期待する場合、長期に渡り免疫不全状態となる点が課題である。SLEにおける自己反応性B細胞は、通常の成熟過程と異なり、主にリンパ濾胞外で形成されるdouble-negative（DN）B細胞であることが複数の研究から報告された。そこで、正常のB細胞で発現せず、DN B細胞に特異的な表面抗原を標的とするCAR-T細胞を開発し、自己反応性B細胞を選択的に除去することを目指した。遺伝子発現プロファイル解析からDN B細胞はFCRL5、ITGAXを選択的に発現していたことから、既知の抗体配列から同抗原に対するCAR-T細胞を作製した。両CAR-T細胞ともに、標的抗原を発現する細胞に対して特異的なエフェクター機能を誘導することを確認した。同時に、SLE患者検体を用いて自己反応性B細胞の単離、及びそのプロファイル解析を試みた。SLEでは抗核抗体が病勢と関係することから、ビオチン付きヌクレオソームを用いて、これと蛍光色素付きストレプトアビジンを用いて同抗原に反応するB細胞をフローサイトメトリーにより単離した。これまでに2ドナーで試験して、ヌクレオソーム反応性B細胞は健康人B細胞と比較して増加していることを確認したが、自己反応性B細胞集団はDN B細胞に必ずしも限局しておらず、同分画によらない固有の分子プロファイルを同定する必要があると示唆された。そこでヌクレオソーム反応性の単一B細胞由来mRNAから個別にライブラリを作成して、NGS解析を行う計画である。これまでに160個のB細胞からRNA単離、cDNA合成を進めており、遺伝子発現解析とは別にBCRクローニング、ヌクレオソーム反応性も確認する計画である。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
In this study, we aimed to adoptive immunotherapy, especially CAR-T cell therapy, for systemic lupus erythematosus (SLE), one of the refractory autoimmune diseases. CD19-targeted CAR-T cell therapy for SLE has shown promising results in recent clinical trials. However, targeting the entire B-cell population results in long-term immunodeficiency if a durable therapeutic effect is accomplished. Several studies have reported that autoreactive B cells in SLE are double-negative (DN) B cells that form mainly outside the lymph follicles, unlike the normal maturation process. Based on these findings, we first developed CAR-T cells that target surface antigens that are not expressed on normal B cells but are specific to DN B cells to selectively eliminate autoreactive B cells. Since DN B cells selectively express FCRL5 and ITGAX based on gene expression profile analysis, CAR-T cells against these antigens were generated from known antibody sequences. Both CAR-T cells were confirmed to induce specific effector functions against cells expressing the target antigen. We also aimed to elucidate molecular profiles of autoreactive B cells in more detail. Since antinuclear antibodies are associated with disease activity in SLE, B cells reacting to the antigen were isolated by flow cytometry using biotin-conjugated nucleosomes and streptavidin with a fluorescent dye. The fluorescence-positive B cells were then isolated by flow cytometry. We have so far tested two donors and found that nucleosome-reactive B cells are increased in SLE patients compared to healthy donors. However, the autoreactive B cell population was not necessarily confined to DN B cells, suggesting the need to identify a unique molecular profile independent of this fraction. Now we plan to generate libraries for NGS analysis from nucleosome-reactive single B cell-derived mRNAs. We have isolated RNA and synthesized cDNA from 160 B cells, and plan to confirm BCR cloning and nucleosome reactivity in addition to gene expression analysis.						
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）			