

論文題目

Development of HLA-modified induced pluripotent stem cell-derived dendritic cells
for a novel cancer immunotherapy

(HLA 遺伝子改変型 iPS 細胞由来の樹状細胞を用いた新規樹状細胞療法の開発)

ヒト iPS 細胞由来ミエロイド細胞 (iPS-ML) を用いたがん治療は、新たながん免疫療法として注目されている。iPS-ML は IL-4 の存在下で樹状細胞 (DC) に分化し、T 細胞の活性化能を有する。この技術は DC の大量産生を可能にしたが、より幅広い患者への臨床応用を実現するためにはドナーとレシピエントの間の HLA 不適合性の問題を克服する必要がある。本研究では、CRISPR-Cas9 を用いて HLA 遺伝子改変 iPS-ML-DC を作製し、その T 細胞活性化能を検討した。

本研究では、CRISPR-Cas9 システムにより iPS-ML の HLA-A、B、DR 遺伝子を破壊し、HLA 欠損 iPS-ML を作製した。HLA 遺伝子の破壊についてフローサイトメトリーや遺伝子配列を調べ確認した。その細胞にレンチウイルスを用いて HLA-A*02:01 を導入し、IL-4 の存在下で培養し DC に分化させた。この iPS-ML-DC と HLA-A2 拘束性 MART-1 特異的 CD8⁺ T 細胞を共培養して、iPS-ML-DC の T 細胞活性化能について ELISPOT 法を用いて検討した。

CRISPR-Cas9 システムを用いて作製した HLA 欠損 iPS-ML は、他のドナー由来の CD8⁺ T 細胞からのアロ反応を回避した。また、HLA 欠損 iPS-ML に HLA-A*02:01 を導入して作製した iPS-ML-DC 上の表面マーカーを解析した結果、遺伝子改変を行っていない iPS-ML-DC と同等に DC の活性化刺激分子 (CD80, CD83, CD86, CD40) を発現していた。HLA-A*02:01 を遺伝子導入した iPS-ML-DC は、HLA-A2 拘束性 MART-1 特異的 CD8⁺ T 細胞の誘導能を有していた。さらに MART-1 遺伝子を導入した iPS-ML においても、HLA-A2 拘束性の MART-1 特異的 CD8⁺ T 細胞が誘導されることが分かった。

審査の過程においては、HLA 遺伝子破壊の方法とその確認、iPS-ML-DC と末梢血から誘導した DC との違い、iPS-ML-DC を用いた抗原特異的 CD8⁺ T 細胞の培養法及びその検出法、iPS-ML-DC からのサイトカイン産生の有無、臨床応用を見据えた動物モデルの構築などについて質問がなされ、申請者から概ね適切な回答がなされた。

本研究は、HLA 遺伝子改変により、HLA 型に関係なく使用可能な iPS 細胞由来の DC ワクチン療法の可能性を示したものであり、今後の臨床応用が期待される。医学の発展に貢献する有意義な研究であり、学位の授与に値すると評価された。

審査委員長 皮膚病態治療再建学担当教授 福島聡

(署名)

福島聡