[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名　　南川　淳隆

本研究は、iPS 細胞より癌抗原特異的な CD8T 細胞を分化させるという、臨床応用を視野に入れた再生医療研究において、より安全性が高いと考えられる細胞を同種移植可能な形で産生する事を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1, T 細胞より作成した、T 細胞受容体（T Cell Receptor TCR）遺伝子を内在する iPS 細胞（T-iPS)を、in vitro において、Notch リガンド DLL1 を発現するストローマ細胞 OP9-DLL1 との共培養により、T 細胞方向に分化させた場合、T 前駆細胞である CD4 CD8 Double Positive (DP) 細胞の段階で、TCRα鎖の再構成が起こり、TCR 特異性が変化する事が示された。

2, TCR 再構成を CD4 CD8 DP 細胞において引き起こすタンパクである Rearrangement Activating Gene 2 (*RAG2)*を CRISPR-Cas9 システムにより Knock Out (KO)した iPS 細胞では、DP 細胞における TCR 再構成が起こらない事が示された。

3, 肝臓癌、卵巣癌等に発現する癌抗原である Glypican3 (GPC3) 特異的な TCR を保持する *RAG2* KO T-iPS 細胞より分化した、CD8αβ T 細胞は、*GPC3* 発現腫瘍に対し、*in vitro*, *in vivo* いずれにおいても細胞傷害性を示す事が示された。

4, T-iPS 細胞より、癌抗原特異的な CD8T 細胞を産生したのと、同様の事が TCR 遺伝子を導入した、同種移植可能な iPS 細胞でも可能かを検証するために、日本人における最頻度 HLA ハプロタイプをホモ接合で保持する iPS 細胞に、癌抗原 Wilms' Tumor 1 (WT1) 特異的な TCR を導入した細胞を作成し、T 細胞への分化を行った。WT1-TCR-iPS 細胞は、CD8 T 細胞に分化可能であり、

このCD8 T細胞は、*in vitro*, *in vivo*においてWT1発現腫瘍に対し、細胞傷害活性を持つ事が示された。

5, WT1-TCR-iPSより分化したCD8 T細胞は、TCRシーケンスにより、導入したTCRのみを発現している事が示された。また、WT1特異的TCRを、末梢血CD8 T細胞に導入した細胞と比較すると、末梢血由来の細胞はWT1特異的な細胞の割合が全体の30%程度まで低下するのに対し、WT1-TCR-iPS細胞より分化したCD8 T細胞は、100%WT1特異性を保っており、導入TCR特異性の点において、TCR導入iPS細胞の優位性を示す事ができた。

以上、本論文はT細胞由来iPS細胞をT細胞に分化させる課程において、生理的なT細胞と同様にTCR遺伝子再構成が起きる事を示し、また*RAG2* KOにより再構成を防止可能である事を明らかにした。さらに、同種移植に使用可能なHLAハプロタイプの判明したiPS細胞にTCR遺伝子を導入した細胞を分化させる事で、抗原特異的なCD8 T細胞を産生する事が可能である事を示した。この結果は、iPS細胞より分化した免疫細胞を、細胞製剤として、安全により多くの患者を対象として使用する、細胞免疫療法の実現可能性を示すものであり、学位の授与に値するものと思われる。