

論文名 : WT1-specific CD8+ cytotoxic T cells with the capacity for antigen-specific expansion accumulate in the bone marrow in MDS

(MDS 患者の骨髄中に抗原特異的な増幅能を有する WT1 特異的 CD8 陽性細胞障害性 T 細胞が集積する)

(要約)

新潟大学大学院医歯学総合研究科

氏名 : 諏訪部 達也

背景と目的

骨髄異形成症候群 (MDS) は、骨髄中の異常な造血幹細胞がクローン性に増幅した結果生じる骨髄造血器腫瘍である。現在 MDS に対して治癒が期待できる治療は同種造血幹細胞移植のみであるが、適応が一部の患者に限られている。このため、近年急速に研究が進展しているがん免疫療法が試みられているが、MDS に対する抗腫瘍免疫の本態についていまだ知見が乏しく、臨床応用上の課題が多い。ウィルムス腫瘍遺伝子 WT1 は主要ながん遺伝子の一つであり、WT1 蛋白は腫瘍関連抗原として腫瘍免疫療法の重要なターゲットの一つである。MDS に対しても WT1 ペプチドワクチン療法の臨床試験が行われ、一定の有効性が報告されているが、患者ごとの効果にばらつきが大きいことが課題とされている。WT1 ペプチドワクチン療法は、WT1 特異的 CD8+T 細胞を患者内に増幅させることで抗腫瘍効果を示すと考えられる。免疫療法前に MDS 患者内に存在し WT1 ペプチドワクチン反応性を示す WT1 特異的 CD8+T 細胞の分布を明らかにできれば、患者ごとのワクチン療法の有効性を推定する有力な根拠となりうる。本研究は、MDS に対する免疫療法の実地医療への普及を目指し、MDS において自然発生した WT1 特異的 CD8+T 細胞の詳細な頻度や分布、表現型を明らかにすることを目的とした。

方法

HLA-A24 を有する 39 例の MDS および骨髄異形成変化を伴う急性骨髄性白血病 (AML/MRC) の患者から骨髄血と末梢血のペア検体を得た。単核球分離した検体について、従来の WT1/MHC テトラマー (WT1 tetramer) を用いたフローサイトメトリーによる解析に加え、mixed lymphocyte peptide culture (MLPC assay)により WT1 ペプチド特異的に増幅した WT1 特異的 CD8+T 細胞クローンの検出を行い、これらのクローンの存在頻度を推定した。WT1 tetramer 結合 CD8+T 細胞および WT1 特異的 CD8+T 細胞クローンに関して、その表面抗原をフローサイトメトリーにより解析した。WT1 特異的 CD8+T 細胞に関して、形質細胞様樹状細胞腫瘍由来株 PMDC11 を用いて WT1 ペプチド特異的な更なる増幅を試み、得られた培養リンパ球について T2A24-GFP 細胞株を用いた細胞障害性試験を行い、併せて細胞障害性試験で産生された IFN- γ を ELISA 法で測定した。本研究のプロトコルは倫理審査委員会での承認を得た。全ての患者にインフ

オームドコンセントを行い、書面による同意を得た。

結果

WT1 tetramer 結合 CD8+T 細胞の中央値は末梢血で 0.11%、骨髄で 0.18%であった。MLPC assay の結果、23%の症例で末梢血から WT1 特異的 CD8+T 細胞が検出された一方で、61%もの症例において骨髄血から WT1 特異的 CD8+T 細胞が検出され、末梢血より有意に高頻度であった ($P=0.001$)。CD8+T 細胞中における WT1 特異的 CD8+T 細胞の存在頻度は、中央値として骨髄血では末梢血の約 10 倍であると推定された (PB 3.0, BM 39.9 cells/ 10^6 CD8+T cells)。1 例の MDS 患者の末梢血から検出された WT1 特異的 CD8+T 細胞は、PMDC11 を用いた WT1 特異的な増幅に成功し、WT1 反応性の細胞障害性を示した。骨髄における WT1 tetramer 結合 CD8+T 細胞は、慢性抗原刺激による疲弊マーカーである CD39 と、ナイーブ T 細胞が主に有する homing receptor である CXCR4 を共発現する特異的な表現型を呈していた。一方で、固形腫瘍へ浸潤する腫瘍反応性 T 細胞に特徴的であると報告される CD39 および CD103 の共発現は認めなかった。

考察

本研究により、増幅能を有する WT1 特異的 CD8+T 細胞は MDS 患者の半数以上で自然発生的に存在することが明らかとなった。また、WT1 特異的 CD8+T 細胞は MDS 患者の骨髄内に、特徴的な表現型を有して集積していることが明らかとなった。MDS における骨髄は、病的細胞が多く存在する「腫瘍コンパートメント」と考えられているが、多くの固形癌と同様に、腫瘍細胞およびその抗原に反応する特異的 CD8+T 細胞が集積する腫瘍微小環境を形成している可能性が示された。これらの結果は、MDS に対する腫瘍免疫学的な新たな知見を示すとともに、MLPC 法が WT1 ペプチドワクチン療法や免疫チェックポイント阻害薬の患者ごとの有効性を推定する有効な方法となりえることを示した。