

# キメラ抗原受容体 (CAR) : 人工受容体遺伝子を導入したリンパ球による新たながん治療

今井千速

新潟大学大学院医歯学総合研究科  
小児科学分野

## Chimeric Antigen Receptor (CAR): A Novel Cell - Based Therapy for Cancer with Genetically Modified Lymphocytes

Chihaya IMAI

*Department of Pediatrics, Niigata University Graduate School of  
Medical and Dental Sciences*

### 要 旨

キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor: CAR) は単鎖抗体を抗原結合部位とする人工受容体である。ヒト T 細胞に遺伝子導入することにより、がん細胞への抗原選択的な障害活性を獲得させる。筆者らは、現在米国を中心に臨床開発が進んでいる CD19-CAR 遺伝子を開発した。現在、NK 細胞をエフェクターとする戦略や、固形がんに対する新規 CAR 開発に取り組んでいる。

キーワード： chimeric antigen receptor, CD19, genetic modification, T cells, Natural killer cells

### キメラ抗原受容体

#### (Chimeric antigen receptor : CAR) とは

キメラ抗原受容体 (Chimeric antigen receptor : CAR) は、単鎖抗体を抗原認識部位とする人工的受容体である<sup>1)</sup>。1つの遺伝子により抗原認識部位から膜貫通部位、そしてシグナル伝達部位までのすべての必要パーツを組み込んでいるため、T細胞受容体のように他の様々な分子との複合体形成の必要はなく、単体で機能を発揮できる (図 1)。CAR のコンセプトは、1993 年にイスラエ

ルの Eshher らが初めて開発した<sup>2)</sup>。モノクローナル抗体産生ハイブリドーマからクローニングした可変部位 (variable region H 鎖, L 鎖) を (Gly4-Ser)<sup>3</sup> のリンカー鎖で繋いだ single chain variable domain (scFv) を抗原認識部位として用いるため、強い選択的抗原結合能を有する。抗原結合に伴い、レセプター細胞内ドメイン (e.g. CD3 ζ) から直接に細胞内シグナルを伝達することができる。さらに、2つ以上の異なるシグナルを発生させることも可能である。

Reprint requests to: Chihaya IMAI  
Department of Pediatrics, Niigata University  
Graduate School of Medical and Dental Sciences,  
1-757 Asahimachi-dori, Chuo-ku,  
Niigata 951-8510, Japan.

別刷請求先：〒951-8510 新潟市中央区旭町通 1-757  
新潟大学大学院医歯学総合研究科小児科学分野  
今井千速

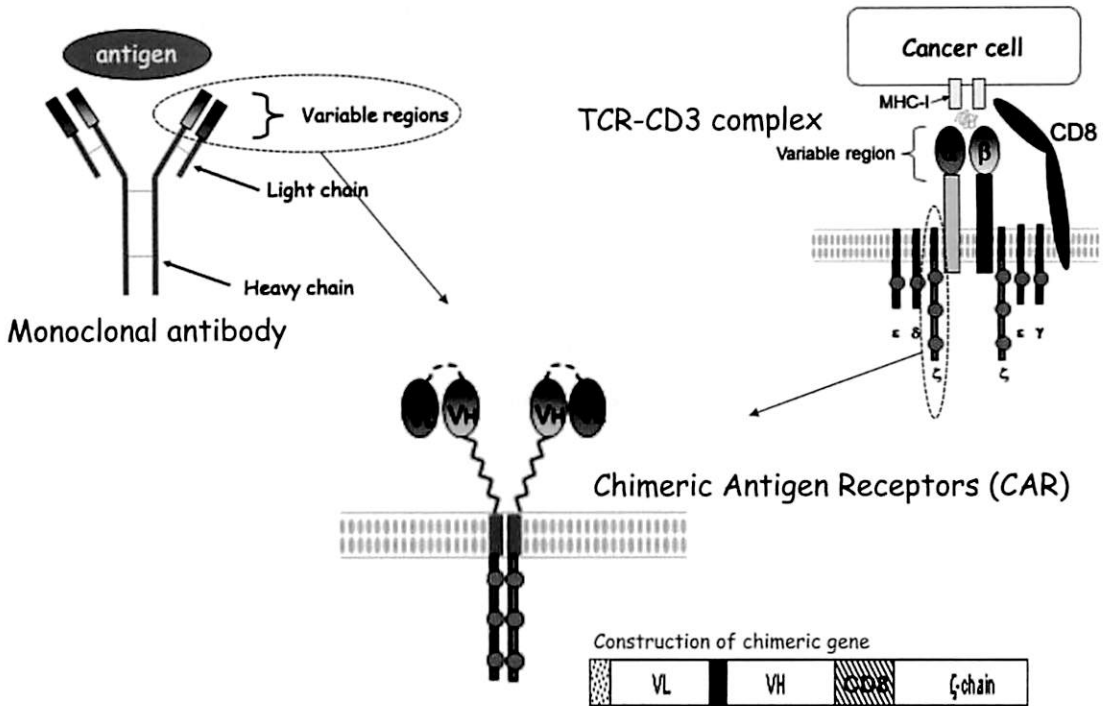


図1 キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor: CAR) の作製

### CD19を標的とするCAR

急性リンパ性白血病 (ALL) の治療は過去30年で目覚ましい進歩を遂げたが、依然、小児例の約20%、成人例の約65%が化学療法に抵抗し再発をきたす。現在、寛解導入不能症例や再発ALLに対しては、根治の可能性のある唯一の治療として造血幹細胞移植が行われているが、移植後の再発率は依然高い。筆者らは、再発抵抗性ALLの治療を目指し、ALLのおよそ85%に発現するCD19を標的抗原として、新たなCAR遺伝子を作成した<sup>3)</sup>。特異的殺傷能のみならず、殺傷後のT細胞機能の維持と増殖能の改善、アポトーシス (activation-induced cell death: AICD) 抑制を目的に、細胞内シグナル伝達部位を新規改変した。T細胞の活性化には 'two-signal rule' と呼ばれる原則がある。すなわち、CD28などの共刺激分子からの 'second signal' なくしてT細胞受容体か

らの first signal のみでは一過性の活性化に終わり、多くのT細胞はクローナル増殖を示さずに死滅 (AICD) することが知られている。一方、プロフェッショナル抗原提示細胞である樹状細胞においては様々な免疫受容体リガンドが発現している。CD80/CD86はT細胞表面に発現する共刺激受容体CD28のリガンドとして機能しT細胞に 'second signal' を発生させる。すると、IL-2産生の著増や、BCL2やBCL-XLなどの抗アポトーシス蛋白の誘導によりAICDを回避し、クローナル増殖に至らしめる。ヒトT細胞では様々な共刺激受容体が発見されているが、単独で有効な共刺激シグナルを発生できるのはCD28と4-1BBだけと考えられている。筆者らは、'second signal' として4-1BBの細胞内シグナル伝達部位をCARに用いたところ、'first signal' 単独のCARと比較して著しい機能改善を果たすことを見出した。現在この遺伝子 (anti-CD19-BB- $\zeta$ ) はペンシ

ルバニア大およびペンシルバニア小児病院で用いられ、大きな成果を挙げている<sup>4)–6)</sup>。筆者らは、この CAR 遺伝子を NK 細胞においても用いることができるかを検討し、従来困難とされていた NK 細胞の体外増幅と遺伝子改変の方法を新しく開発した<sup>7)</sup>。CAR 遺伝子改変 NK 細胞の研究はまだ発展途上であるが、近年の CAR 改変 T 細胞の大きな成功を経て、少しずつ注目が集まっている<sup>8)9)</sup>。

### 今後に向けて

CD19 を標的とした CAR の成功を受けて、各種がんへの応用の期待が高まるのは当然であるが、固形がんへの応用はまだ道半ばである。いくつか理由を挙げてみると、一つ目には標的として用いられる表面抗原が決して豊富でないことが挙げられる。この点について、NK 細胞の活性化受容体群のリガンド結合部位を用いることで、多種多様ながん細胞を標的と出来る可能性があり、このようなコンセプトでいくつかの新しいタイプの CAR が作成されている (表 1)。ただし、低レベルの正常組織における発現に対する挙動を制御できることが前提となるだろう。実際に、EGFR に対する CAR では正常組織 (特に肺) における低レベル発現のため重大な合併症が生じている<sup>10)</sup>。また、近年話題の PD-1 を含むがん細胞による免疫エスケープも克服すべき障壁の一つとして挙げられており<sup>11)</sup>、抗 PD-1 抗体や抗 CTLA-4 抗体との

併用も提案されている<sup>12)</sup>。

### 文 献

- 1) Sadelain M: Chimeric antigen receptors: driving immunology towards synthetic biology. *Curr Opin Immunol.* 41: 68–76, 2016.
- 2) Eshhar Z, Waks T, Gross G and Schindler DG: Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma or zeta subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 90: 720–724, 1993.
- 3) Imai C, Mihara K, Andreansky M, Nicholson IC, Pui CH, Geiger TL and Campana D: Chimeric receptors with 4-1BB signaling capacity provoke potent cytotoxicity against acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia.* 18: 676–684, 2004.
- 4) Porter DL, Levine BL, Kalos M, Bagg A and June CH: Chimeric antigen receptor-modified T cells in chronic lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 365: 725–733, 2011.
- 5) Grupp SA, Kalos M, Barrett D, Aplenc R, Porter DL, Rheingold SR, Teachey DT, Chew A, Hauck B, Wright JF, Milone MC, Levine BL and June CH: Chimeric antigen receptor-modified T cells for acute lymphoid leukemia. *N Engl J Med.* 368: 1509–1518, 2013.
- 6) Maude SL, Frey N, Shaw PA, Aplenc R, Barrett

表 1 NK 細胞様の抗原認識を T 細胞にあたえる新しいタイプの CAR

CAR	target antigen	ref.
NKG2D-CAR	MICA/B, ULBP1-4	Zhang, et al. 2005
CD16-CAR	combined with mAb	Kudo, et al. 2013
NCRp30-CAR	B7-H6, etc	Zhang, et al. 2012
NCRp46-CAR	unknown	Tal, et al. Oncotarget 2014
DNAM1-CAR	PVR, Nectin-2	Wu, et al. 2015

- DM, Bunin NJ, Chew A, Gonzalez VE, Zheng Z, Lacey SF, Mahnke YD, Melenhorst JJ, Rheingold SR, Shen A, Teachey DT, Levine BL, June CH, Porter DL and Grupp SA: Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. *N Engl J Med.* 371: 1507 - 1517, 2014.
- 7) Imai C, Iwamoto S and Campana D: Genetic modification of primary natural killer cells overcomes inhibitory signals and induces specific killing of leukemic cells. *Blood.* 106: 376 - 383, 2005.
- 8) Glienke W, Esser R, Priesner C, Suerth JD, Schambach A, Wels WS, Grez M, Kloess S, Arseniev L and Koehl U: Advantages and applications of CAR - expressing natural killer cells. *Front Pharmacol.* 6: 21, 2015.
- 9) Hermanson DL and Kaufman DS: Utilizing chimeric antigen receptors to direct natural killer cell activity. *Front Immunol.* 6: 195, 2015.
- 10) Morgan RA, Yang JC, Kitano M, Dudley ME, Laurencot CM and Rosenberg SA: Case report of a serious adverse event following the administration of T cells transduced with a chimeric antigen receptor recognizing ERBB2. *Mol Ther.* 18: 843 - 851, 2010.
- 11) Cherkassky L, Morello A, Villena - Vargas J, Feng Y, Dimitrov DS, Jones DR, Sadelain M and Adusumilli PS: Human CAR T cells with cell - intrinsic PD - 1 checkpoint blockade resist tumor - mediated inhibition. *J Clin Invest.* 2016 Jul 25. [Epub ahead of print]
- 12) Curran KJ and Brentjens RJ: Chimeric antigen receptor T cells for cancer immunotherapy. *J Clin Oncol.* 33: 1703 - 1706, 2015.
-