

22P-pm13S

CAR-T 細胞機能に及ぼす CAR 翻訳後修飾の影響

○今枝 啓輔¹, 藤原 健人¹, 鎌田 春彦², 立花 雅史¹, 岡田 直貴¹ (¹阪大院薬, ²医薬健栄研)

【背景・目的】近年、キメラ抗原受容体発現 T (CAR-T) 細胞を用いた養子免疫療法が劇的な有効性を発揮する新規がん治療法として脚光を浴びている。しかし、CAR 構造と CAR-T 細胞機能との連関に関する情報・知見は未だ乏しく、科学的・理論的根拠に基づいた CAR-T 細胞機能の最適化研究は立ち遅れている。そこで我々は、CAR-T 細胞へのシグナル伝達効率に影響する CAR 構造要因の解析を推進することで、CAR-T 細胞医薬の有効性・安全性向上につながる方法論の構築に取り組んでいる。今回は、CAR の分子間ジスルフィド結合や糖鎖修飾などの翻訳後修飾が CAR-T 細胞機能に及ぼす影響について解析を行った。

【方法・結果・考察】VEGFR2 特異的一本鎖抗体に CD28 のヒンジ領域 (HD)・膜貫通領域と CD3 ζ のシグナル伝達領域をタンデムにつないだ第一世代 CAR を基本構造体とし、CD28 HD に含まれるシステインをアラニンに置換した CAR 改変体を構築した。これら 2 種類の CAR をレトロウイルスベクターによりマウス T 細胞に遺伝子導入したところ、両者の CAR 発現強度は同等であり、基本構造体ではジスルフィド結合を介した複合体形成が認められたが、アラニン置換体では狙い通りに CAR の複合体形成が阻害された。基本構造体と比較してアラニン置換体では CAR-T 細胞の抗原特異的な細胞傷害活性がわずかに低下する傾向にあった。また、ウェスタンブロットティングにおける CAR 単量体バンドは、脱糖鎖酵素処理によって低分子量側にシフトしたことから、CAR 分子は糖鎖修飾を受けていることが判明した。現在、CAR のジスルフィド結合を介した複合体形成に寄与する膜タンパク質の同定と、糖鎖修飾部位のアミノ酸残基を置換した CAR 改変体の発現・機能解析を進めており、CAR 翻訳後修飾と CAR シグナル伝達効率との連関を明らかにしたいと考えている。