

骨軟部肉腫における免疫応答の解明と新規免疫療法の開発

札幌医科大学医学部附属研究所免疫学研究所

村田 憲治

【目的】

骨軟部肉腫（以下、肉腫）は若年者に多く発症し、特に化学療法不応例の予後は不良であることから、新規治療法の開発が求められている。近年、がん免疫療法の進展により肉腫に対する有効性も示されているが、奏効率は依然として限定的であり、有効な治療標的抗原およびエフェクター細胞の同定が課題である。腫瘍浸潤 T リンパ球（TIL）が認識する抗原は有望な治療標的であり、シングルセル解析の発展により腫瘍反応性 T 細胞受容体（TCR）の単離は容易となった。一方で、TCR が認識する抗原の同定は依然として困難である。本研究では、肉腫 TIL 由来の腫瘍反応性 TCR をプローブとして用い、有効な免疫療法標的となり得る肉腫抗原の同定を目的とした。

【研究成果】

骨肉腫細胞株パネルを用いた発現クローニング法により、骨肉腫 TIL が認識する抗原の同定を行った。まず、骨肉腫手術検体から TIL を分離し、単細胞遺伝子発現解析および TCR レパトア解析を実施した。CD8 陽性かつ疲弊マーカーを発現する高クローナリティー TCR を選択し、健康人末梢血 T 細胞に導入して TCR-T 細胞を作製した。

次に、 $\beta 2$ マイクログロブリンを CRISPR/Cas9 によりノックアウトした骨肉腫細胞株に対し、患者由来 HLA クラス I 分子を単一発現させた細胞株パネル（計 24 種）を構築した。これらを用いた共培養の結果、特定の TCR-T 細胞（クロノタイプ 29）が HLA-B*40:02 発現骨肉腫細胞株に対して特異的な免疫応答を示した。

さらに、発現クローニング法により抗原同定を進め、HOS 細胞由来 cDNA ライブラリーを用いたスクリーニングとエピトープマッピングを通じて、当該 TCR が認識する新規共通抗原としてカルパイン 2 を同定した。

カルパイン 2 は Ca^{2+} 依存性システインプロテアーゼであり、複数のがんにおいて腫瘍増殖や浸潤に関与することが知られている (Boekhorst et al., Curr Biol. 2022)。本研究においても、正常組織と比較して悪性組織で mRNA およびタンパク質発現が有意に高いことを確認した。これらの結果から、カルパイン 2 は腫瘍細胞で選択的に過剰発現し、腫瘍特異的ペプチドの生成を介して T 細胞による選択的認識に寄与する腫瘍関連抗原である可能性が示された。

【今後の展望】

今後は、骨肉腫検体を拡充し抗原探索を継続するとともに、新規同定抗原について他の肉腫および癌腫における発現共通性や HLA 結合性を解析し、治療標的としての有用性を評価する。また、TCR-T 細胞の細胞傷害活性および抗原親和性を詳細に解析し、肉腫移植マウスモデルを用いた抗腫瘍効果の検証を行う予定である。