

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業  
産学連携医療イノベーション創出プログラム セットアップスキーム (ACT-MS)  
事後評価報告書

公開

## I 基本情報

研究開発課題名： (日本語) 他家再生キラーT細胞の量産技術の開発  
(英語) Development of a method for mass-production of the regenerated cytotoxic T lymphocytes to be used in allogeneic settings

研究開発実施期間：2017年10月1日～2019年3月31日

研究開発代表者 氏名：(日本語) 河本 宏  
(英語) Hiroshi Kawamoto

研究開発代表者 所属機関・部署・役職：  
(日本語) 京都大学 ウイルス・再生医科学研究所 再生免疫学分野 教授  
(英語) Professor, Laboratory of Immunology, Institute for Frontier Life and Medical Sciences, Kyoto University

## II 研究開発の概要

### 1) 研究成果の要旨

がんの免疫療法の領域では、患者由来のT細胞を体外で遺伝子改変して患者に投与するという養子免疫療法の有効性が示されている。例えば腫瘍に浸潤するリンパ球 (tumor-infiltrating lymphocyte: TIL) を用いる方法や、患者の末梢血中のT細胞にがん抗原特異的なTCR遺伝子を導入するという方法などは、一定の効果が報告されている。さらにキメラ抗原レセプター (chimeric antigen receptor: CAR) を末梢血T細胞に導入する治療法 (CAR-T療法) はB細胞性白血病に著効を示し、日本を含む世界各国ですでに承認されている。

これらのT細胞を用いた細胞療法は有効性が示される一方で、課題も多く残されている。例えば、体外でT細胞を培養している間にT細胞が疲弊しやすい、という問題点がずっとつきまどってきた (図1)。仮に体外での培養では元気さを保っていたとしても、投与した後、早期に

消失してしまうというケースもある。また、原則的に自家移植で行われているために、i) 作製できる細胞数に限りがある、ii) コストがかかる、iii) 製造に時間がかかる、iv) 患者から品質の良い T 細胞が得られるとは限らない、などの問題点も存在する。

これらの問題を解決するためには、患者の T 細胞を用いるのではなく、他人由来の T 細胞をあらかじめ用意して投与する方法

を開発する必要、すなわち他家移植として投与できる「即納型 T 細胞製剤」の開発が望まれている。そこで、そのような他家移植用即納型 T 細胞製剤の開発を目指し、我々は「T 細胞レセプター遺伝子を導入した iPS 細胞から T 細胞を再生する」という方法 (TCR-iPS 法) により、がん抗原特異的なキラー T 細胞を量産し、患者に投与するという戦略を進めてきた (図 2)。

ACT-MS 研究では、(i)ゼノフリー培養法と大量培養法の確立、(ii)TCR ノックイン法の確立、(iii) 臨床に近い条件での安全性/有効性の評価、の3点の課題に取り組むことを目的とした。

(i)については、研究期間 (2017-2018 年度) 内に、TCR を導入した iPS 細胞からゼノフリー培養条件下で T 細胞を作製することに成功した。

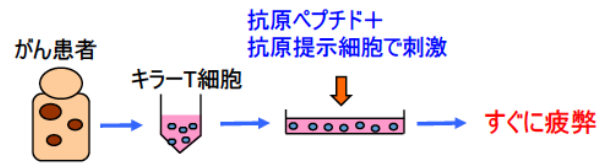


図1 がん抗原を攻撃できるキラーT細胞を増幅するのは難しかった

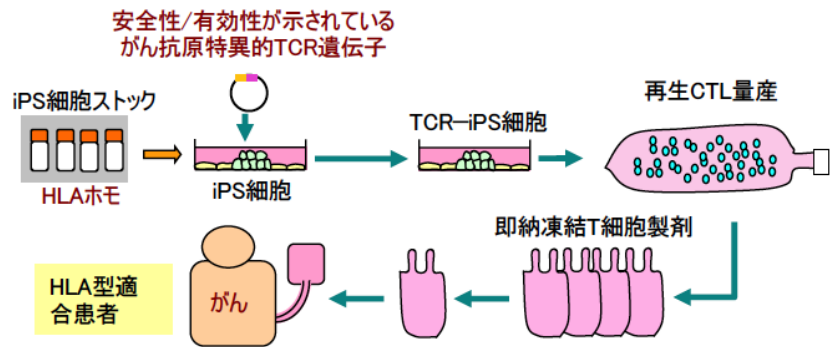


図2 TCR-iPS細胞法で再生したキラーT細胞を即納型T細胞製剤として用いる戦略

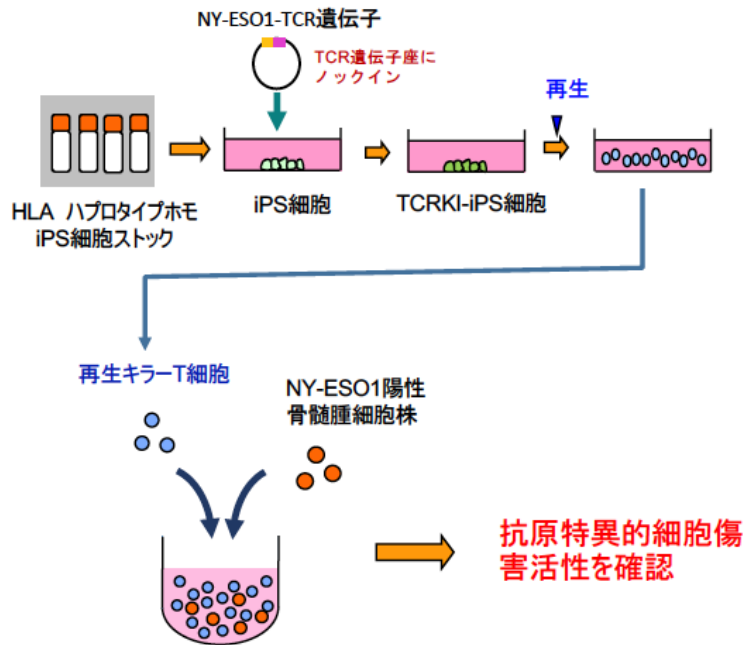


図3 本研究の成果:TCR遺伝子座に外来TCR遺伝子をノックインしたiPS細胞から再生したキラーT細胞は抗原特異的に標的細胞を殺傷した

(ii)については、TCR 遺伝子を、iPS 細胞の遺伝子座にノックインする方法の開発に取り組んだ。目標通りに開発に成功し (図 3)、2018 年 7 月に出願するに至った。

(iii)については、臨床試験を想定した再生キラーT 細胞の in vivo モデル (免疫不全マウスを用いたゼノグラフトモデル) で有効性と安全性を確認する事ができた。すなわち、京都大学の iPS 細胞研究所が他家移植用の iPS 細胞として提供している HLA ハプロタイプホモの iPS 細胞株に、(ii)で開発したノックイン法を用いて、臨床試験で用いられてきた TCR 遺伝子 (WT 1 抗原特異的 TCR あるいは NY-ESO1 抗原特異的 TCR) を遺伝子導入して、元株を作製した。その元株から再生した再生キラーT 細胞は、免疫不全マウスにヒトのがん細胞を播種したモデル (ゼノグラフトモデル) で、標的腫瘍細胞を効率よく抗原特異的に殺傷した。WT 1 抗原特異的再生キラーT 細胞の標的細胞としては骨髄性白血病細胞株あるいは患者由来腎がん組織を用い、NY-ESO1 抗原特異的再生キラーT 細胞の標的細胞としては多発性骨髄腫細胞株を用いた。

これらの成果により、我々の作製する再生キラーT 細胞が、臨床応用に大きく近づいた。

## 2) 開発した技術の用途

本研究で開発した方法は、TCR 遺伝子や CAR 遺伝子を導入した T 細胞を用いる養子免疫療法に広く使えると期待される。例えば NY-ESO1 抗原を標的とした TCR 遺伝子導入 T 細胞療法は、滑膜肉腫や多発性骨髄腫に有効であることが示されている。またこれらの治療法は、現在は自家 T 細胞を使う方法しか行われていないので、高価である、時間がかかるなどの問題があったが、本研究の成果として提供される他家移植用の細胞は、安価かつ迅速にこれらと同等の治療法を施行する手段として応用することができる。

## 3) 開発した技術の優位性

現在行われている TCR 遺伝子や CAR 遺伝子を導入した T 細胞を用いる養子免疫療法は、患者から採取した T 細胞に遺伝子改変を加えて戻すという方法が用いられている。この方法では高価である、時間がかかる、患者の T 細胞の質に依存するなどの問題があった。本研究が提案する方法は他家移植の系であり、特定のがん抗原を標的とする再生キラーT 細胞を量産して凍結保存しておけば、必要な時に解凍してすぐに使える。すなわち、安価で迅速に汎用性 T 細胞製剤を提供できるようになる。

## 英文要旨

Whereas cytotoxic T lymphocytes (CTLs) have been shown to be effective in cancer immunotherapy, the strategy to expand CTLs *ex vivo* has faced difficulty in that CTLs easily get exhausted during *in vitro* expansion culture. To address this issue, we have developed a strategy by which CTLs can be mass-produced by regenerating them from iPSC cells transduced with exogenous T cell receptor gene (TCR-iPSC method). To promote this strategy towards clinical application, the present study has proposed the following three aims: (i) development of xeno-free culture method, (ii) development of TCR-knock-in method, (iii) testing safety and efficacy of regenerated CTLs in settings close to clinical ones. For the aim (i), by the end of the study period (2017-2018) we have succeeded in regenerating CTLs in xeno-free condition from HLA-homo iPSCs transduced with TCR gene that had been clinically tested. For the aim (ii), we have succeeded in developing a such method, and have filed a patent for it in July 2018, which has been PCT-applied in July 2019 by adding some new data. For the aim (iii), we have examined and confirmed safety and efficacy of our regenerated CTLs by using a novel xenograft model of cancer, including acute myeloid leukemia, multiple myeloma, and renal cell carcinoma.

### III 事後評価総合所見

TCR-iPS 法は独自性が高く、他家細胞治療としての期待度が高い技術です。目標は概ね達成されており、さらに TCR ノックイン法の特許も出願されました。期間中に、大手ファーマとの連携が実現し、他家 TCR-iPS 細胞技術の CAR-T 療法への展開が現実味を帯びてきており、本技術の大きな出口となる可能性があることは評価されました。

臨床に向けた課題を克服し、今後の開発を進められることを大いに期待します。