

日本医療研究開発機構 再生医療実現拠点ネットワークプログラム
疾患・組織別実用化研究拠点 (拠点 B)
事後評価報告書

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) NKT 細胞再生によるがん免疫治療技術開発拠点
(英語) Center for development of cancer immunotherapy technology by
regenerating natural killer T-cells (NKT cells)

研究開発実施期間: 平成 25 年 7 月 8 日～令和 5 年 3 月 31 日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 古関 明彦
(英語) Haruhiko Koseki

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 国立研究開発法人理化学研究所・生命医科学研究センター 免疫器官形成研究チーム
・チームリーダー
(英語) RIKEN Center for Integrative Medical Science, Laboratory for Developmental Genetics,
Team Leader

II 研究開発の概要

1. 研究の背景

T 細胞の 1 種であるナチュラルキラー T 細胞 (NKT 細胞) は単体でも直接的な抗がん作用を発揮する免疫細胞である。さらに NKT 細胞は全人類共通の T 細胞抗原受容体を発現しており、樹状細胞等の抗原提示細胞に発現する全人類共通の主要組織適合抗原複合体 (MHC) 様分子である CD1d に結合した糖脂質を認識して間接的なアジュバント作用を発揮し、自然免疫系 NK 細胞および獲得免疫系キラー T 細胞を共に活性化すると共に増殖を促す。これらの直接的および間接的抗がん作用により、NKT 細胞は通常の T 細胞と比較して強い抗腫瘍活性を発揮する事が期待された。現在までに、進行肺がん、上顎がん、頭頸部がん、口腔内黒色種などに対して NKT 細胞標的がん治療の臨床試験が行われており、その有効性が認められている。この治療法は、初回投与クールで年単位の長期間の効果が期待され、患者負担が非常に少ない点の特徴であるが、がん進行に伴う患者の NKT 細胞の減少や機能不全により治療可能患者は希望者の 1/3 に留まるため、NKT 細胞の補充がこの治療法を補完する上で重要なポイントとなる。

前述したように、NKT 細胞の抗原受容体およびこれに相応する抗原提示細胞の MHC は全人類共通であるため、T 細胞療法のように患者から採血する必要は無く、誰の NKT 細胞であっても使用可能である。そこで我々は、健常人から採取した NKT 細胞をストックした後大量生産し、がん患者に補充する療法を立案した。しか

し、NKT 細胞はヒト末梢血液中に 0.01% - 0.1%しか存在せず、またそれらを安定して増殖させることは現在の技術水準では困難である。そこで我々は iPS 技術を用いることにより、無限増殖能を持つ iPS 細胞を大量に製造し、この iPS 細胞由来を由来とする NKT 細胞 (iPS-NKT 細胞) を分化させることにより大量の NKT 細胞を製造し、これをがん治療に用いる研究を開始した。

2. 研究概要

研究開発項目 1 : 再生医療用 iPS-NKT 細胞の製造

ヒトに投与可能な再生医療用 iPS-NKT 細胞を製造するためには、原材料が安全である事に加え、製造工程が確立され、かつ医療の基準を満たす施設で製造が行われる事が必須である。そこで、原材料の選定、製造工程の検討を行う傍ら、理研内に細胞の製造施設(CPC)を建造し、管理・運用体制を整備した。iPS-NKT 細胞の臨床試験は、本研究の開始時点では臨床研究とする予定であったため、原材料および CPC に関しては臨床研究法及び再生医療等安全確保法に準拠して開発を行った。その後、社会実装の観点から治療拠点が限定される臨床研究ではなく、出荷した iPS-NKT 細胞をどの医療機関でも使用できるよう医薬 (再生医療等製品) として開発する事に方針を変更し、医薬品医療機器総合機構(PMDA)と相談を行った。その結果、これまでに作製した iPS 細胞は医薬品を統括する薬機法の基準を満たさず、薬機法における開発には適さない事が明らかとなった。そこで、薬機法の基準を満たすよう、新たに健康なボランティアから薬機法の基準に沿って採血を行うと共に、その他の材料に関しても可能な限り薬機法の基準を満たす物を調達した後、これらを用いて新たな iPS 細胞を作製した。次いで、このようにして作製した新規 iPS 細胞が再生医療等製品としての適格性を満たすか否かに関して PMDA と相談を行うと共に、PMDA からの助言に従い調査・分析を行った。また、CPC の管理・運用体制に関しても、薬機法に必要な製造管理及び品質管理の基準 (GMP) に準拠する管理体制となるよう刷新した。その結果、薬機法における臨床試験 (治験) に使用可能な iPS 細胞および iPS-NKT 細胞を製造する体制を確立することが出来た。

研究開発項目 2 : 安全性および有効性を担保する非臨床試験

iPS-NKT 細胞は他の免疫細胞と共同して抗がん作用を発揮するため、本細胞の有効性及び安全性を人以外の生体内で確認するためにはヒトの免疫細胞を移植した動物モデルが必須である。そこで、超免疫不全マウスにヒト免疫細胞を移植した免疫系ヒト化マウスを創出し、iPS-NKT 細胞の直接的および間接的抗がん作用の検討および安全性の検討を開始した。本試験系により、iPS-NKT 細胞の総体的な抗がん作用を確認する事が可能となったが、マウス体内でヒト免疫細胞を維持するためにはヒト型のサイトカインを供給する事が必須であり、2 週間以上の長期試験の実施は困難であった。そこで、超免疫不全マウスに複数のヒト型サイトカイン遺伝子を導入し、ヒト免疫細胞を 1 カ月以上維持可能な評価系を構築する事に成功した。マウス体内でのがん細胞の評価に関しては、核磁気共鳴法や生物発光等に関して検討し、理研で開発した Akaluc 遺伝子を組み込んだヒトがん細胞を用いることにより、非侵襲的ながんの治療効果を評価する試験系を構築する事に成功した。

本試験系により、iPS-NKT 細胞は十分な抗がん作用を長期にわたり示すことが明らかとなった。また、免疫療法ではしばしば移植した免疫細胞が移植先の宿主を攻撃する GVHD が観察されるが、iPS-NKT 細胞を投与したマウスでは GVHD は観察されず、安全性が高い事が示唆された。そこで、治験に向けた非臨床試験を実施することを決定し、PMDA と相談を行いながら、安全性、造腫瘍性及び動態試験を立案した。これらの試験を実施した結果、毒性、造腫瘍性及び投与細胞の長期残存は認められず、iPS-NKT 細胞はヒトに投与するのに十分な安全性を保有していることが示唆された。

研究開発項目 3 : 臨床試験準備

iPS-NKT 細胞の臨床開発を進めるために、千葉大学と共同で、千葉大学で以前実施した NKT 細胞標的治療における NKT 細胞数等を参考に iPS-NKT 細胞で許容される投与量及び投与回数を推定し、医師主導治験プロトコル案を作成した。この治験プロトコル案で要求される細胞数を満たすよう製造工程を最適化すると共に、治験製剤の試作、治験実施施設までの輸送方法検討および安定性試験を実施することにより、iPS-NKT 細胞が被験者に投与されるまで抗がん活性を保持する方法を構築した。また治験の投与量における安全性を担保するための非臨床試験を実施し、これらの試験結果をプロトコル案にフィードバックすることにより、医師主導治験プロトコルを完成させた。本医師主導治験は再生医療実用化研究事業に採用され、令和 5 年 3 月時点では最高投与量での治験を実施している。

NKT 細胞は抗原提示細胞および特殊な糖脂質の存在下で活性化し、アジュバント作用を発揮する事が知られているため、iPS-NKT 細胞においても特殊な糖脂質をロードした抗原提示細胞(DC/Ga1)との併用投与を行う事により、単独投与と比較してより強力な抗がん作用を示すことが期待される。そこで、iPS-NKT 細胞と DC/Ga1 との併用による臨床試験を企画した。iPS-NKT 細胞は医薬品としての規格で製造されているが、DC/Ga1 は病院内で患者から採取した細胞から調製されており、医薬品の規格を満たさないため、臨床試験は臨床研究として実施する事とした。本臨床研究も再生医療実用化研究事業に採用され、令和 5 年 2 月に厚労省の再生医療等評価部会で実施が承認された。患者への投与は令和 5 年度中に開始の予定である。

研究開発項目 4 : iPS-NKT 細胞の高機能化

iPS-NKT 細胞は間接的なアジュバント作用を示し、他の免疫細胞を活性化する事により抗がん作用を増強する事が可能であるが、このアジュバント作用を惹起するためには DC/Ga1 との併用投与が必須である。現在のところ、抗原提示細胞は患者の白血球を成分採血してから調製する必要があるため、患者負担が大きい事、また患者ごとに品質が安定しない事が課題となっている。そこで、iPS-NKT 細胞単体でアジュバント作用を示すような細胞を創出する事、または iPS 由来の抗原提示細胞(iPS-APC)を創出し、iPS-NKT 細胞と併用投与を行う事により、これらの課題の解決を目指す事とした。

単体でもアジュバント作用を示す iPS-NKT 細胞を創出するためには、iPS-NKT 細胞の活性化が必要である。そこで、近年白血病治療用の自家 T 細胞療法において注目されているキメラ抗原受容体(CAR)遺伝子を導入する事により活性化が起こるか否かを検証した。CAR 遺伝子は、まず iPS-NKT 細胞に対して導入し、遺伝子が発現する事を確認した。その後、CAR 遺伝子を iPS 細胞に導入して、これから iPS-NKT 細胞に分化した時に CAR を発現する方法を確立した。これにより、CAR を発現した iPS-NKT 細胞を安定して製造できる技術を開発することが出来た。

iPS 細胞から iPS-APC を分化させる方法に関しては、iPS 細胞から iPS-NKT 細胞に分化させる中間体において検討し、NKT 細胞に分化させるのとは異なる複数の添加物を作用させることにより、抗原提示能を示す iPS-APC 細胞を取得する事に成功した。この方法により、同一の HLA を持った iPS-NKT 細胞と iPS-APC 細胞を製造することに成功した。現在のところ iPS-APC の性能はロット間差が大きいことが確認されているため、実用化にはさらなる研究が必要である。

3. 研究の意義

本研究により、臨床で使用可能な品質の iPS-NKT 細胞を大量に製造する技術を開発することが出来た。また iPS-NKT 細胞を用いた臨床試験を 2 件開始することが出来た。iPS-NKT 細胞の安全性及び有効性を確認出来るのはこれらの臨床試験の終了時となるが、有効性が確認できるのであれば新たながん免疫療法として治療の選択肢を広げることが可能である。がん免疫療法の内、免疫細胞を使用する療法として、近年キメラ抗原受容体を導入した自家 T 細胞 (CAR-T 細胞) 療法が承認されているが、がん患者から採取した免疫細胞を加工して作製するため非常に高額であり、品質も安定していない事が課題となっている。本研究により製造

した iPS-NKT 細胞は、iPS 細胞を原料として大量生産を行う事が可能であるため、安定した品質の免疫細胞を安価に提供する事が可能である。本 iPS-NKT 細胞が承認された場合には、がん免疫療法を誰でも使用可能な療法として普及させることが可能になると予想する。

Natural killer T cells (NKT cells), a subset of T cells, are immunocytes that exert direct anti-cancer effects. Furthermore, NKT cells express T cell antigen receptors that are ubiquitous in all humans, and bind to also ubiquitous CD1d, a major histocompatibility complex (MHC)-like molecule expressed on antigen-presenting cells. By recognizing glycolipids, NKT cells exhibit an indirect adjuvant action, activating both NK cells and killer T cells. Because of their direct and indirect anti-cancer properties, NKT cells exhibit stronger antitumor activity than conventional T cells. Clinical trials of NKT cell-targeted cancer therapy have been conducted for advanced lung cancer, maxillary cancer, head and neck cancer, and oral melanoma, among others, and have been recognized for their efficacy. This treatment method is expected to have long-lasting effects that last for years following the initial administration, with minimal burden on the patient. Despite this, only one-third of patients who require it receive the therapy; hence, NKT cell replacement therapy is a vital complement to conventional treatment methods. So, we proposed a therapy that stocks NKT cells obtained from healthy individuals, mass-produces them, and replenishes them to cancer patients. However, NKT cells account for only 0.01%-0.1% of human peripheral blood, making it challenging to produce them consistently with current technological advancements.

To address this challenge, we established a system for producing NKT cells from induced pluripotent stem (iPS) cells, which have unlimited proliferative capacity. We established a Cell Processing Center (CPC) within RIKEN to generate iPS cells from blood samples collected from healthy volunteers. We then differentiated these iPS cells into NKT cells (iPS-NKT cells) and conducted preclinical tests to confirm their safety and efficacy.

To advance the clinical development of iPS-NKT cells, we collaborated with Chiba University to determine the allowable dosage and frequency of administration for iPS-NKT cells and created a clinical trial protocol. We optimized the manufacturing process and performed stability testing to ensure that iPS-NKT cells will maintain their efficacy until administration.

In addition to mass-producing iPS-NKT cells, we also challenged ourselves to generate a type of iPS-NKT cells that exhibit an adjuvant effect without antigen-presenting cells. Furthermore, we have been generating iPS-derived antigen-presenting cells (iPS-APCs) that could be mass-produced.

Overall, this research is significant because it has successfully developed a technology for the mass production of clinically viable iPS-NKT cells, which have both direct and indirect anti-cancer properties. The iPS-NKT cells have been verified to be safe and effective in preclinical tests, and two clinical trials have been initiated to further evaluate their safety and efficacy. If approved, iPS-NKT cells have the potential to become a widely used cancer immunotherapy option that is less expensive and of more stable quality than autologous T-cell therapy. This research has the potential to make a significant impact in the field of regenerative medicine and cancer therapy.