作成／更新日:令和 8 年 6 月 25 日
課題管理番号: 25bm1223012h0003

日本医療研究開発機構
再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム
(再生・細胞医療・遺伝子治療研究開発課題
(非臨床 PoC 取得研究課題))
事後評価報告書

公開

Ⅰ 基本情報

研究開発課題名： (日本語) 肝移植患者の免疫抑制剤を最低用量化する個別化医療の実現にむけた新規制御性 T 細胞製剤開発研究

(英　語) Development of Engineered Regulatory T cell product and clinical immune rejection monitoring tools from clinical liver transplant tolerance patients for future precision medicine

研究開発実施期間：令和 5 年 6 月 19 日～令和 8 年 3 月 31 日

研究開発代表者　氏名：(日本語) 内田　浩一郎
(英　語) Uchida Koichiro

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：
(日本語) 順天堂大学　免疫治療研究センター　准教授
(英　語) Juntendo University Center for Immunotherapy and Diagnosis Associate Professor

II 研究開発の概要

研究開発の成果およびその意義等

本研究開発課題「肝移植患者の免疫抑制剤を最低用量化する個別化医療の実現にむけた新規制御性 T 細胞製剤開発研究」では、肝移植後患者に対する長期的な免疫抑制剤投与に伴う感染症、悪性腫瘍、腎障害等の副作用を軽減し、個別化医療の実現を目指して、免疫寛容の分子機構解明、新規制御性 T 細胞（Treg）製剤の開発、診断技術の開発、および実用化基盤の整備を一体的に推進した。

1. 免疫寛容メカニズムの解明

肝移植後長期生存患者の臨床検体を用いて、移植片局所および末梢血における免疫学的特徴を解析した。長期生存肝移植患者を、免疫抑制剤完全離脱群、一時的離脱後再開群、免疫抑制剤継続群に分類し、臨床経過、病理学的所見および免疫学的背景を比較することで、免疫寛容状態に特徴的な病態の解明を進めた。

さらに、肝生検組織を用いた多重免疫染色解析および single-cell RNA-seq 解析を実施し、免疫寛容状態では、移植片内に存在する制御性 T 細胞が局所免疫環境の維持に重要な役割を果たしていることを明らかにした。一方、拒絶反応組織においても Treg 浸潤は認められるものの、機能疲弊関連分子の発現上昇が確認され、Treg 細胞の「機能安定性」と「組織適応性」が免疫寛容維持に重要であることが示唆された。

また、また、分担研究者である堀昌平および村上隆一らは、Treg 細胞の安定性および組織適応性を制御する分子機構を解析し、FoxP3 による内在性 FoxP3 発現誘導と Treg 細胞特異的エピゲノム形成機構、ならびに炎症環境下でのエフェクターTreg 細胞分化および組織移行を制御する分子ネットワークを明らかにした。これらの成果は、次世代エンジニアリング Treg 細胞の分子設計に重要な基盤的知見を提供するものであり、『Immunity』および『Science Immunology』等の国際誌に報告されている。

2. 新規遺伝子導入 Treg 細胞製剤の設計

免疫寛容組織および基礎研究から得られた知見を統合し、組織内で安定して機能を発揮し、炎症環境下でも高い抑制機能を維持できる次世代型遺伝子導入 Treg 細胞（ACE-Treg）の設計コンセプトを確立した。

具体的には、1）組織環境への適応性を高める因子、2）Treg 細胞としての機能安定性を維持する因子、3）炎症組織への移行性を高める因子　を組み合わせた新規エンジニアリング戦略を構築した。さらに、ヒト末梢血由来 Treg 細胞を用いた遺伝子導入技術を確立し、スモールスケールでの細胞製造法を確立するとともに、品質評価系および機能評価系を整備した。

3. 非臨床モデルにおける有効性および安全性評価

開発した ACE-Treg 細胞について、複数の非臨床モデルを用いた有効性評価を実施した。

まず、in vitro 評価系において、ACE-Treg 細胞は従来型 Treg 細胞と比較して高い抑制能を維持し、炎症性サイトカイン産生を効果的に抑制した。また、炎症環境下においても FoxP3 発現および制御性 T 細胞表現型を安定して維持し、優れた機能安定性を示した。さらに、組織浸潤関連分子の発現増強が認められ、組織適応性の向上が示唆された。

ヒト免疫不全マウス GVHD モデルでは、ACE-Treg 細胞は従来型 Treg 細胞と比較して、炎症組織への高い浸潤能を示すとともに、強力な免疫抑制作用を発揮し、GVHD 症状を有意に抑制した。また、細胞投与による重篤な毒性や異常増殖は認められず、安全性についても確認した。

さらに、MHC-dKO ヒト免疫マウスを用いたヒトアロ皮膚移植モデルを構築し、ACE-Treg 細胞の移植片浸潤能およびアロ免疫応答制御能を評価した。その結果、ACE-Treg 細胞は移植皮膚局所へ効率よく集積し、炎症性細胞浸潤を抑制するとともに、アロ免疫応答を制御することが示された。

加えて、マウス同種移植モデルを用いた検討では、エンジニアリング Treg 細胞が移植片局所に集積し、拒絶反

応を抑制することを確認した。さらに、細胞製剤の生体内動態、組織浸潤能、生存期間および投与タイミングに関する検討を進め、臨床応用に向けた投与戦略の最適化を行った。
さらに、細胞製剤の生体内動態、組織浸潤能、生存期間および投与タイミングに関する検討を行い、静脈内投与条件ならびに至適投与スケジュールの最適化を進めた。加えて、免疫抑制剤投与条件やリンパ球除去療法を組み合わせたプレコンディショニング法についても検討し、エンジニアリング Treg 細胞の生着性、組織移行性および治療効果を最大化する治療条件の探索を行った。
また、非ヒト霊長類移植モデルを用いた評価系の構築を進め、ACE-Treg 細胞の生体内動態、組織分布および免疫環境への適応性を評価するための基盤を整備した。
これらの結果から、ACE-Treg 細胞は従来型 Treg 細胞を上回る組織浸潤能、機能安定性および免疫抑制能を有することが示され、非臨床 PoC を支持する有効性・安全性データを取得するとともに、FIH 試験に向けた投与方法および治療戦略の最適化に必要な科学的基盤を構築した。

4. 免疫寛容診断技術および免疫モニタリング法の開発
免疫抑制剤の個別最適化には、患者ごとの免疫状態を適切に評価する診断技術が不可欠である。
本課題では、免疫寛容患者由来検体を用いた免疫関連遺伝子解析を進めるとともに、免疫寛容状態に特徴的な遺伝子多型の探索を行った。
また、肝移植患者由来末梢血を用いた免疫モニタリング解析を実施し、免疫寛容状態および拒絶反応リスクを反映する候補バイオマーカーを抽出した。
さらに、肝移植後 30 年以上経過した長期生存患者を対象とした病理学的解析を進め、長期予後と免疫制御状態との関連を明らかにすることで、将来的な免疫抑制剤減量・中断の判断基準構築に向けた基盤を整備した。
本研究を通じて、「免疫寛容」を最終目標としつつも、まずは安全性を重視した「免疫抑制剤の最低用量化（ミニマイゼーション)」を目指す個別化医療戦略へと開発コンセプトを発展させた。

5. 実用化に向けた製造・規制・知財基盤の整備
再生医療等製品としての実用化を見据え、細胞製造、品質管理、規制対応および知財戦略を並行して推進した。PMDA 事前面談（品質・非臨床安全性）を実施し、完全閉鎖式自動細胞調製装置を用いた製造法、品質評価指標および品質管理戦略を整備した。さらに、CDMO との GAP 分析を通じて、CPC 適用可能な SOP、操作許容範囲ならびに QC/QA 基準を再構築し、ファーストインヒューマン（FIH）試験を見据えた製造基盤を整備した。
また、国内外の特許および競合技術調査を実施し、非臨床 PoC データを基盤とした知財ポートフォリオを構築した。遺伝子導入設計、製造工程、品質規格および投与方法を含む包括的な知財戦略を策定し、2026 年 3 月には第一弾特許出願を実施した。
さらに、本課題を通じて構築した研究成果およびネットワークを基盤として、将来的なスタートアップ設立を視野に入れた事業化戦略の検討を進めている。
以上より、本研究開発課題では、肝移植後患者に対する免疫抑制剤の最低用量化を目指した次世代型 Treg 細胞治療の非臨床 PoC 取得、診断技術開発および実用化基盤整備を達成し、臨床応用に向けた重要なマイルストーンを達成した。

II. Summary of Research and Its Significance

This project, entitled "Development of Engineered Regulatory T cell product and clinical immune rejection monitoring tools from clinical liver transplant tolerance patients for future precision medicine," aimed to establish a next-generation regulatory T cell (Treg)-based therapeutic strategy to minimize long-term immunosuppressive therapy in liver transplant recipients. Long-term administration of immunosuppressive agents is associated with severe adverse effects, including opportunistic infections, malignancies, and chronic kidney disease. Therefore, the development of immune tolerance-inducing therapies and precision immunomonitoring tools is of considerable clinical importance.

First, to elucidate the mechanisms underlying transplantation tolerance, comprehensive analyses of liver allograft biopsy specimens and peripheral blood samples obtained from long-term liver transplant recipients were performed. Multiplex immunohistochemistry and single-cell RNA sequencing analyses demonstrated that graft-infiltrating Treg cells play a pivotal role in maintaining local immune homeostasis in tolerant grafts. In contrast, Treg cells infiltrating rejecting grafts exhibited features associated with functional exhaustion, suggesting that both functional stability and tissue adaptability of Treg cells are essential for long-term immune tolerance.

Based on these clinical findings, mechanistic studies were conducted to identify molecular pathways regulating Treg cell stability, tissue adaptation, and migratory capacity. These studies revealed key molecular networks involved in the maintenance of Treg identity and adaptation to inflammatory tissue environments. The knowledge obtained from these studies provided the scientific basis for the design of a novel engineered Treg product.

Integrating clinical and basic findings, we established the design concept of a next-generation engineered Treg product, designated ACE-Treg, which is characterized by enhanced tissue adaptability, sustained suppressive function, and improved tissue-homing capacity. Gene transfer technologies for human peripheral blood-derived Treg cells were established, together with small-scale manufacturing procedures and functional evaluation systems.

The therapeutic efficacy and safety of ACE-Treg cells were subsequently evaluated in multiple nonclinical models. In humanized xenogeneic graft-versus-host disease (xeno-GVHD) models, ACE-Treg cells exhibited superior migration into inflamed tissues and enhanced immunosuppressive activity compared with conventional Treg cells. No significant toxicity or abnormal proliferation was observed, supporting the safety profile of the product. Additional studies using murine transplantation models further demonstrated the ability of engineered Treg cells to accumulate within graft tissues and suppress allograft rejection. Optimization studies regarding dosing schedules, cell kinetics, tissue distribution, and preconditioning regimens were also performed.

To support personalized immunosuppressive minimization, immune monitoring technologies and biomarker discovery studies were conducted. Candidate biomarkers associated with immune tolerance and rejection risk were identified using peripheral blood samples from liver transplant recipients. Furthermore, genetic analyses were performed to identify tolerance-associated polymorphisms that may contribute to patient stratification in future clinical applications.

Finally, substantial efforts were devoted to establishing translational and commercialization platforms. Manufacturing processes using closed automated cell-processing systems were optimized,

and quality control/quality assurance strategies suitable for first-in-human (FIH) studies were established. PMDA regulatory consultations were conducted to facilitate future clinical development. In parallel, intellectual property analyses and competitive landscape assessments were performed, resulting in the establishment of a comprehensive intellectual property portfolio and the filing of the first patent application in March 2026.

Collectively, this project established the scientific, technological, and translational foundation for next-generation engineered Treg therapy aimed at personalized minimization of immunosuppressive drugs in liver transplantation, thereby providing a major step toward future clinical application.