作成／更新日:令和 5 年 5 月 25 日
課題管理番号: 25bm1223020h0003

日本医療研究開発機構
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）エリスロポエチン誘導性選択的制御遺伝子(SRG)搭載 CAR-T 療法の非臨床開発
（英　語）Non-clinical development of Epo-inducible SRGs (selective regulatory genes)

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) 大嶺　謙
（英　語）Ken Ohmine

研究開発代表者　所属機関・部署・役職：
（日本語）自治医科大学　内科学講座　血液学部門・准教授
（英　語）Division of Hematology, Department of Medicine Jichi Medical University, Associate Professor

II 研究開発の概要

1. 研究開発の背景と目的

再発・難治性の B 細胞性造血器腫瘍に対する CD19 特異的 CAR-T 細胞療法の高い有効性が示されているが、投与後の CAR-T 細胞の不十分な体内増幅や早期消失による再発が課題となっている。この課題を解決するため、本研究では、エリスロポエチン（EPO）により体内での増殖・存続を選択的にコントロール可能な選択的制御遺伝子（SRG）システムを基盤とした革新的 CAR-T 療法の創出を目指した。
本計画の主たる目標は、臨床試験での使用を前提としたベクターを用いて、治験薬 GMP 準拠下での製造プロセスを確立し、非臨床 PoC 試験を完了すること、さらに臨床試験に不可欠な体内動態モニタリングシステムを構築することである。

2. 研究開発の成果

(1) 臨床用ベクター供給基盤の確立

臨床試験で使用するベクターと同等の骨格を有する SRG-CAR 共発現レトロウイルスベクター（RV）を設計し、製造プロセスの最適化を行った。

- pre-master cell bank(MCB)の作製: 多段階スクリーニング（RNA コピー数、標的細胞への感染能評価等）により、高品質な RV を安定供給可能な産生細胞株（pre-MCB）を樹立した。
- GMP 準拠 MCB・RV の製造: 樹立した pre-MCB から、治験薬 GMP 準拠下において臨床グレードの MCB および RV の製造を完了した。

- 品質評価：製造した MCB および RV に対し、無菌試験、マイコプラズマ否定試験、外来ウイルス否定試験、ベクター遺伝子の完全性解析等を実施し、全ての項目で基準に適合することを確認した。これにより、次段階の治験製品製造に向けた信頼性の高い原材料供給体制が整備された。

(2) 短期培養法（Spo-T™法）による高品質 CAR-T 製造プロセスの確立

製造期間の短縮と CAR-T 細胞の stemness の維持を目的として、タカラバイオ株式会社が開発した短期培養法（Spo-T™法）を SRG-CAR-T 製造に導入した。

- 自動化プロセスの構築：閉鎖型自動細胞製造プラットフォーム「CliniMACS Prodigy®」を用いて、末梢血単核球の洗浄から細胞回収までを閉鎖系回路内で完結させる自動製造プロセスを確立した。
- 製造効率と品質：短期培養下においても臨床投与に十分な細胞数と高い遺伝子導入効率を達成した。また、フローサイトメトリー解析により、短期培養細胞では分化や疲弊関連分子の発現が抑制され、未分化性の高い高品質な T 細胞が維持されていることを確認した。

(3) 腫瘤形成型モデルにおける非臨床 PoC の取得

腫瘤形成モデル（Nalm-6 担がん NOG マウス）を用いて、SRG システムの有効性と作用機序を検証した。

- 低用量での抗腫瘍効果：従来の CAR-T 研究で用いられる用量の 20 分の 1 以下である細胞数 2.0e4 個という低用量条件において、EPO 併用群のみで顕著な腫瘍消失を確認した。対照的に、EPO 非併用群では腫瘍増殖を制御できず、SRG システムが治療成立の鍵であることを証明した。
- 生存期間の延長：投与細胞数 1.0e5 個の投与条件下において、Spo-T™製法＋EPO 併用群は観察期間終了まで全例が生存し、従来製法を凌駕する生存率を示した。

(4) 特殊検査体制の確立

臨床試験における安全性と有効性の適切な管理のため、以下の解析基盤を整備した。

- モニタリングシステム：末梢血中の SRG-CAR-T 細胞数を高感度に検出する定量的 PCR 法、および T 細胞サブセットや疲弊マーカーを詳細に解析するための完全自動化フローサイトメトリー（FCM）ワークフローを確立した。

3. 研究成果の意義

(1) 学術的・技術的意義

本研究は、既存の薬剤である EPO を用いて「投与後の体内動態を能動的に制御する」という、世界的に見ても独創性の高い免疫制御プラットフォームを非臨床段階で完成させた点に大きな意義がある。特に、短期培養法との統合により、高品質な細胞を少量投与し、体内で必要に応じて増幅させるという新戦略は、細胞療法の発展に寄与する成果である。

(2) 臨床的意義

「低用量での十分な治療効果」の実現は、CAR-T 療法の最大の副作用である重症 CRS の発症リスク低減に直結する可能性がある。これにより、これまで CAR-T 療法の適応が困難であった高齢者や合併症を有する患者への治療機会の拡大が期待される。

(3) 経済的・産業的意義

短期培養法による製造期間の短縮と、少量細胞投与による製造スケールの縮小は、CAR-T 細胞の製造コストを削減し、医療経済的なベネフィットをもたらす。また、SRG 技術は CD19 特異的 CAR-T のみならず、既に実用化されている BCMA-CAR-T 療法、固形がんを標的とした T 細胞受容体 T 細胞療法、さらには制御性 T 細胞療法など、

多様な免疫細胞製品に応用可能な汎用的プラットフォームであり、次世代細胞治療産業の国際競争力強化に資すると考えられる。

4. 今後の展望

本研究で確立した GMP 製造プロセスおよび非臨床 PoC データを基盤として、今後、First-in-Human（FIH）治験の開始に向けた最終段階へと移行する。具体的には、GLP 準拠安全性試験（一般毒性・体内分布・腫瘍形成性評価）を完了させるとともに、PMDA との合意に基づき、医師主導治験届の提出を目指す。その後、ライセンスアウトや企業との共同開発を通じて、本邦発の革新的 CAR-T 療法の早期実用化と、再発・難治性リンパ腫患者への貢献を推進する。

Overview of Research and Development

Background and Objectives

CD19-specific CAR-T therapy is highly effective for relapsed/refractory B-cell malignancies; however, relapse due to insufficient *in vivo* expansion or early loss of CAR-T cells following administration remain major challenge. To address these challenges, we developed an innovative CAR-T platform incorporating a selective regulatory gene (SRG) system, which enables controllable *in vivo* expansion and persistence of CAR-T cells through erythropoietin (EPO) stimulation. The objectives of this project were to: establish a GMP-compliant manufacturing platform using a clinical-grade vector backbone, complete non-clinical proof-of-concept (PoC) studies and develop analytical systems for biokinetic monitoring in future clinical trials.

Research and Development Results

Establishment of a Clinical Vector Production Platform

Clinical-grade SRG-CAR retroviral vectors (RV) were developed and optimized. Through multi-step screening, a stable producer cell line (pre-MCB) was established, followed by GMP-grade manufacture of master cell banks (MCB) and RV for investigational use. Quality testing confirmed sterility, absence of mycoplasma and exogenous viruses, and preservation of vector integrity.

Development of a High-Quality Short-Term CAR-T Manufacturing Process

The short-term culture Spo-T™ method developed by *Takara Bio Inc.* was integrated into SRG-CAR-T production to shorten manufacturing time while preserving T-cell stemness. Using the closed automated platform CliniMACS Prodigy, a fully automated manufacturing workflow was established. Short-term cultured SRG-CAR-T cells showed efficient gene transfer and retained less differentiated, less exhausted phenotypes.

Non-Clinical Proof of Concept

In a Nalm-6 xenograft mouse model, EPO administration significantly enhanced antitumor activity of SRG-CAR-T cells, even at low cell doses. Under higher-dose conditions, the Spo-T™ + EPO group-maintained survival throughout the observation period, demonstrating superior efficacy compared with conventional manufacturing methods.

Establishment of Analytical Systems

A quantitative PCR assay for sensitive detection of SRG-CAR-T cells and an automated flow cytometry workflow for T-cell subset and exhaustion-marker analysis were established for future clinical monitoring.

Significance of the Research Results

Academic and Technical Significance

This study established a globally novel immunoregulatory platform that actively controls post-infusion CAR-T kinetics using EPO, which is already in clinical use. The combination of short-term cultured high-quality cells with controllable *in vivo* expansion represents a new strategy for next-generation cell therapy.

Clinical Significance

The ability to achieve antitumor efficacy at low cell doses may reduce the risk of severe CRS and broaden eligibility for elderly patients or those with comorbidities who are unsuitable for current CAR-T therapies.

Economic and Industrial Significance

Short-term manufacturing and low-dose administration may substantially reduce production costs. In addition, the SRG platform is broadly applicable to other immune-cell therapies, including BCMA-CAR, cancer specific TCR-T, and regulatory T-cell therapies, supporting future competitiveness of the Japanese cell therapy industry.

Future Perspective

Based on the GMP manufacturing process and non-clinical PoC data obtained in this project, we will proceed toward a First-in-Human (FIH) clinical trial. Future work will include GLP-compliant safety studies and regulatory consultation with PMDA. Through industry collaboration and licensing activities, we aim to accelerate clinical translation of this Japanese-developed next-generation CAR-T therapy for patients with relapsed or refractory lymphoma.