

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：NKT細胞再生によるがん免疫治療技術開発拠点
2. 研究開発代表者：古関 明彦（理化学研究所統合生命医科学研究センター）
3. 研究開発の成果：

1：ヒトNKT-iPS細胞誘導技術開発

末梢血およびさい帯血からNKT由来iPS（NKT-iPS）細胞を樹立するプロトコルを確立し、さらに医薬品の原料基準に適合した条件で再現性良くNKT-iPS細胞を樹立することに成功した。樹立したNKT-iPS細胞について、般特性、表面抗原、遺伝子発現プロファイル、ゲノム変異/多型解析、ウイルス残存、核型、分化能、微生物による汚染の状況等の基準を満たしたマスターセルバンクを取得することに成功した。

2：ヒトiPS-NKT細胞誘導技術確立

誘導培養に必要なフィーダー細胞のマスターセルバンク化を完了し、医薬品の原料基準に適合した条件で生物由来原料基準（培養用試薬、サイトカイン等）条件下でもNKT-iPS細胞から有効性及び安全性の基準を満たしたNKT（iPS-NKT）細胞が再現性良く誘導できるプロトコルを確立した。次に、iPS-NKT細胞の凍結保存および融解したiPS-NKT細胞の培養条件を最適化し、2週間の純化培養で、臨床試験において投与を予定している 5×10^7 個まで増殖させることにも成功した。さらに、ヒトに投与可能な媒体に懸濁した試験製剤の開発を開始し、24時間後においても80%以上の細胞生存率を維持することが可能な製剤の開発に成功した。製造施設(CPC)に関しては、設備の整備および運用方法の標準化を完了し、製造工程の標準化を開始した。

3：iPS-NKT細胞の安全性と有効性を検証する技術の確立

安全性を確認するために、予備安全性試験としてマウスに 5×10^7 個/kgのiPS-NKT細胞を静脈内投与した後、14日間まで一般状態、体重、血液学、血液化学、器官重量及び剖検を実施した結果、本投与量では急性毒性を示さないことが明らかとなった。発がん性に関しては、定量PCR法および培養法を用いて試験管内で評価した結果、未分化iPS細胞が残存していないことを確認した。次に、軟寒天培養法で評価した結果、がん化の懸念がある細胞が混入していないことが明らかとなった。さらに、動物試験として未分化iPS細胞をNOD-Scidマウスに静脈内投与した後、1年間経過を観察した結果、 1×10^7 個の未分化iPS細胞を投与したマウスにおいても、発がん等の異常は観察されなかった。 5×10^7 個/kgは、50 kgのヒトに対しては 2.5×10^9 個となるため、ヒトに 5×10^7 個を投与した場合の安全性は担保されると予想する。

有効性に関しては、まずiPS-NKT細胞がNK細胞等を活性化するアジュバント作用を保有していることを確認した。また、マウス生体内でアジュバント活性（ヒトNK細胞活性化）を示すことも確認できた。次いで、実際の抗腫瘍効果について検証したところ、試験管内における腫瘍細胞殺傷能はライン化したNKT細胞に比べて極めて高いことが明らかとなった。更に、担癌マウスに対してiPS-NKT細胞を 2×10^6 個で複数回腹腔内投与した結果、癌の進行を抑制できることも明らかとなった。担癌マウスモデルはヒトへの投与量及び投与方法の指標となり得るが、iPS-NKT細胞の維持に必要なヒトサイトカインがマウスでは発現していないため、サイトカインポンプをマウスに埋め込み、ヒトサイトカインを供給することにより、マウス体内でiPS-NKTを長期間生存させることを可能とした。