

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「免疫機構をターゲットとした創薬」

(がん特異抗原 glypican-3 を標的とした iPS 細胞由来再生 T 細胞療法の開発)

2. 研究開発代表者：金子 新 (国立大学法人京都大学 iPS 細胞研究所)

3. 研究開発の成果

・ GPC3 陽性腫瘍患者検体からの T-iPS 細胞樹立、GPC3 特異的再分化 T 細胞の誘導と機能解析

国立がん研究センターから提供された GPC3 特異的 CTL クローンから 20 株程度の iPS 細胞クローン (GPC3-T-iPSC) を樹立した。20 株に関して T 細胞への再分化能を評価した。そのうち、少なくとも 3 株については前駆 T 細胞を経て CD8 α β +T 細胞を誘導できることを確認した。これらの再分化 CD8 α β +T 細胞について GPC3 ペプチド特異的 HLA-A*0201 デキストラマーを用いて、当該 GPC3 ペプチドに特異的な TCR を維持・発現していることを確認した。これらの GPC3 ペプチド特異的再生 T 細胞を用いて、*in vitro*ならびに *in vivo*での機能解析を行った。具体的には同 TCR に関して HLA 拘束性の一致する GPC3 発現腫瘍株である HepG2 を中心に複数の GPC3 発現腫瘍株に対して、*in vitro*での抗原特異的細胞傷害性、サイトカイン産生能、抗原反応性増殖を確認した。また GPC3 発現腫瘍株を移植した免疫不全マウスモデルを用いて、移植された再分化 T 細胞の挙動と抗腫瘍効果を経時的に評価し、腫瘍への再分化 CTL 浸潤と腫瘍縮小効果を確認した。

・ 抗原レセプター遺伝子導入 iPS 細胞の樹立と、GPC3 特異的再分化 T 細胞の誘導と機能解析

再生 T 細胞のオリジナルとなった T 細胞クローンの TCR 配列より TCR 遺伝子導入用のウイルスベクターを製造した。また、GPC3 抗体の単鎖抗体を含む CAR 遺伝子導入用のウイルスベクターを製造した。

当初は非 GPC3 特異的 T 細胞および非 T 細胞から iPS 細胞を樹立して GPC3-TCR、GPC3-CAR 遺伝子を導入した再分化 T 細胞を研究に用いることを予定したが、検討の結果、より普遍性と実用性に優れた HLA ハプロタイプ一致同種 iPS 細胞をソースとして活用することとした。京都大学 iPS 細胞研究所 (CiRA) で樹立された HLA ハプロタイプ一致 iPS 細胞の提供を受け、T 細胞分化誘導の結果、GPC3 抗原特異的レセプター遺伝子導入のプラットフォーム iPS 細胞となりうることを確認した。

また上述した GPC3 を含む各種 TCR 発現ウイルスベクター、GPC3 を含む各種 CAR 発現ウイルスベクターを用いて iPS 細胞研究所の提供する HLA ホモドナー由来 iPS 細胞及び T-iPS 細胞標準株に抗原レセプター遺伝子導入を行い、再分化 T 細胞の誘導が可能か、目的とする遺伝子発現が効率よく得られるかを検討した。発現ベクターにより効率に差はあるが、再分化 CD8 α β +T 細胞まで分化させた段階でも導入された抗原レセプター遺伝子の発現を確認した。

これらの抗原レセプター遺伝子導入再分化 T 細胞を用いて、その抗原特異性と細胞傷害活性を増殖応答、サイトカイン産生、細胞傷害性分子の発現、細胞傷害性試験等により確認した。抗原特異的 T 細胞由来 iPS 細胞からの再分化 CD8 α β +T 細胞と比較して遜色のない、十分な細胞傷害活性を持つことを確認した。

・ まとめ

GPC3 抗原を標的とする iPS 細胞由来の再分化 CD8 α β +T 細胞を、患者 T 細胞由来と同種細胞由来 (一部は CiRA の HLA ホモドナー由来 iPS 細胞ストック) の複数のプラットフォームで作成し、*in vitro* (一部は *in vivo*) の解析を行い、その有用性を示した。