

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：がん認識抗体と遺伝子導入 T 細胞によるがん治療を目指した前臨床開発研究
2. 研究開発代表者：玉田 耕治（国立大学法人山口大学）
3. 研究開発の成果

難治性がんに対する先進医療として、遺伝子改変により腫瘍反応性を示す T 細胞を用いた免疫療法が進展している。特にキメラ抗原受容体 (Chimeric Antigen Receptor: CAR) -T 細胞による免疫療法は、血液悪性腫瘍に対して優れた治療効果を発揮している。しかし、この治療法は、① 標的分子に応じて個々の CAR 構造を作製する必要があること、② 標的分子の発現低下・欠失による効果消失、③ 輸注後制御が困難なことなど、多くの問題点も有している。そこで我々は、fluorescein isothiocyanate (FITC) 標識がん認識抗体と、FITC を認識する CAR 遺伝子導入 T 細胞の組み合わせにより、CAR-T 細胞療法の問題点を克服する新規免疫療法を開発し、その有効性を動物モデルにて実証してきた。本研究課題は、この新規治療法の first in human 医師主導第 I 相臨床試験に向けた前臨床研究を目的とし、平成 27 年度は以下の成果が得られた。

- 1) GMP 基準 FITC 認識 CAR ウイルスベクター産生マスターセルバンク (Master Cell Bank: MCB) の樹立：研究開発代表者の作製した FITC 認識 CAR 発現プラスミド配列に基づき、当該レトロウイルスベクターを産生する MCB 候補を複数株作製した。産生されるウイルスタイター、導入ウイルスコピー数、遺伝子発現効率、細胞増殖状態などを考慮し、GMP 基準にて MCB を樹立した。
- 2) GMP 基準 FITC 認識 CAR ウイルスベクター産生 MCB の品質試験：外部受託企業と協力して、樹立した GMP 基準 FITC 認識 CAR ウイルスベクター産生 MCB の品質試験を実施した。
- 3) FITC 認識 CAR ウイルスベクターの GMP 製造：樹立した FITC 認識 CAR 発現ウイルスベクター産生 MCB を拡大培養し、GMP 基準にて当該レトロウイルスベクター 6.6L を製造した。
- 4) がん患者末梢血リンパ球を用いた FITC 認識 CAR 遺伝子導入と薬効検証試験：がん患者末梢血から CAR-T 細胞を作製するためのプロトコールを作成し、施設の倫理委員会の承認を得た。IRB 承認に基づき、がん患者末梢血由来 FITC 認識 CAR-T 細胞を作製し、遺伝子導入効率およびがん細胞に対する傷害活性試験を実施し、良好な活性が得られることを確認した。
- 5) 腫瘍関連分子 X に対する新規抗体の作製：腫瘍特異的に発現する分子 X に対する抗体を作製するため、マウスに分子 X 蛋白質と分子 X 発現細胞を頻回免疫した後、脾臓 B 細胞から scFv 抗体ライブラリーを提示するファージディスプレイを構築した。バイオパンニング法により 11 クローンの特異的抗体を同定し、さらに FITC 標識効率の向上を図るために IgG 分子構造を改変した結果、分子 X に結合性を保持する 9 クローンが樹立できた。
- 6) PMDA との薬事戦略相談：First in Human 試験に向けて、平成 27 年 12 月 3 日に FITC-CAR 遺伝子導入 T 細胞、品質試験項目の適切性について事前面談を実施した。平成 27 年 8 月 17 日には、臨床試験開始までに実施すべき非臨床試験安全性試験項目の適切性など、主に安全性に関する事前面談を実施した。事前面談の前には、製造委託業者や薬事専門家との協議を行った。品質については、品質規格項目および試験方法の適切性、ウイルスベクターの受入規格など、平成 28 年 5 月実施予定の薬事戦略相談に向けて準備を進めた。また、臨床試験プロトコールに関して、初回投与量その他に関する検討を実施した。