

## 総括研究報告書(研究報告概要)

1. 研究開発課題名：臓器移植・造血細胞移植後日和見感染症に対する有効かつ安全な多ウイルス特異的T細胞療法の開発と導入に関する研究
2. 研究開発代表者： 森尾 友宏（東京医科歯科大学大学院）
3. 研究開発の成果

本研究においては造血細胞移植後の治療抵抗性日和見感染症に対する新規免疫細胞療法の確立を目指し、問題となるウイルスを明らかにすると共に、代表的なウイルスに対する簡便かつ再現性のある特異的T細胞調製を検討した。

造血細胞移植後モニタリングは既にデータを保有している。臓器移植後ウイルスモニタリングは、肝移植後、腎移植後において案を策定し、東京医科歯科大学において独自に開発してきた高感度迅速網羅的微生物測定法を用いて、腎移植前後検体で30症例以上のデータが蓄積し、肝移植前後患者でもモニタリングによりEBV感染症の頻度を明らかにした。

第一世代特異的T細胞(HLA拘束性単ウイルス特異的T細胞)については、造血細胞移植後EBV, CMV感染症においてドナー由来の調製細胞を用いその有効性を明らかにした。第三者からの凍結T細胞も臨床応用すべく検討を進め、名古屋大学医学部倫理審査委員会、特定認定再生医療等委員会承認を経て、平成28年に第1種特定細胞加工物として厚生労働審議会(再生医療等評価部会)にて承認を得た。

3ウイルス(7抗原)特異的、5ウイルス(11抗原)特異的、7ウイルス(15抗原)特異的T細胞の調製については倫理審査委員会の承認を得て、健常人から細胞調製をおこなった。オーバーラッピングペプチドとIL-4, IL-7を用いることにより、既感染者においては特異的T細胞を10から1000倍程度まで増殖・純化可能であることを明らかにした。特異的T細胞の算定には細胞内IFN- $\gamma$ 染色及びELISpotアッセイを用いた。

さらに無血清培地(TexMACS, NS-A2)、ガス透過性フラスコを用いて、7名以上の健常人ドナーにて、その細胞表面抗原特性(B, NK細胞の混入は<5%であり、大半がcentral memory細胞)を明らかにした。細胞傷害活性測定方法を開発し、EBV, CMV, ADVについては臨床使用可能な感度を達成した。これを用いて、調製細胞のキラー活性特性を明らかにした。

細胞規格として、レシピエント由来の細胞株にペプチドをパルスして標的細胞とし、特定のHLAに拘束された抗原特異的T細胞の存在を明らかにできる系を作成した。またCr51放出試験を用いて、アロ反応性を適切に評価できる系を確立した。それぞれのHLAに対する各ウイルス抗原のエピトープについても検討を行った。特にClass Iにとどまらず、HLA-DRに拘束されるエピトープについても、いくつかのHLAの異なる細胞を用いて検討を行い、一部についてはエピトープを明らかにした。調製した多ウイルス特異的T細胞の総特異性は25-55%程度であり、アロ反応(細胞傷害活性測定)については<5%の基準を満たすことが明らかになっている。

これらの細胞調製に用いる試薬のうち、無血清培地はマスターファイル登録が未であり、ペプチドの一部はGMP gradeとなっていないが、細胞調製前後、中間産物の解析から、臨床試験に向かえるよう、検討を行った。

当申請時の計画では、平成26年度内に臨床試験に入る予定であったが、設立後12年を経過する東京医科歯科大学医学部附属病院細胞治療センターの改修工事に入ったこと、平成26年11月に発令した、再生医療等安全確保法への対応が間に合わなかったことから臨床試験には至らなかった。しかし、細胞加工施設については、再生医療等安全性確保法の下での施設登録が行われ、作業員教育が修了した。また臨床研究のコンセプトとして、血縁をドナーとすること、临床上問題になる5ウイルスを対象とすることを基盤に、先行するペイラー大学における第三者由来5ウイルス特異的T細胞による臨床試験契約を和訳し、新たに臨床試験実施計画を策定した。また製品(細胞)標準書、標準作業手順書に加えて、再生医療等提供計画書と及び付随する書類を用意した。