

安全な iPS 細胞由来 T 細胞療法の実現へ

～有効で安全な免疫細胞治療へ大きな一歩～

1. 発表者：

安藤美樹（日本学術振興会特別研究員 RPD（東京大学医科学研究所附属幹細胞治療研究センター・幹細胞治療分野））

中内啓光（東京大学医科学研究所附属幹細胞治療研究センター・幹細胞治療分野 教授）

2. 発表のポイント：

- ◆ iPS 細胞（注1）の技術を利用して若返らせたヒトの免疫細胞（T 細胞）がマウスの体内で腫瘍を効果的に縮小させることを確認しました。
- ◆ 上述の T 細胞に細胞の自殺を促す遺伝子を組み込めば、iPS 細胞由来 T 細胞療法のあらゆる過程でおこりうる副作用を、薬剤で制御できることをマウスの体内で示しました。
- ◆ 本成果により iPS 細胞由来 T 細胞療法の安全性が高まり、この治療法が臨床に応用されるために必要な橋渡し研究が加速されると期待されます。

3. 発表概要：

東京大学医科学研究所附属幹細胞治療研究センターの中内啓光教授、安藤美樹日本学術振興会特別研究員RPDらの研究グループは、人工多能性幹細胞（iPS細胞）の技術を応用して若返らせたヒトの免疫細胞（T細胞）がマウスの体内で標的の腫瘍を効果的に縮小させることを確認しました。さらに同研究グループは、使用するT細胞に薬剤で細胞死を誘導できる自殺遺伝子を組み込むことによりiPS細胞由来T細胞療法の安全性を高めることにも成功しました。本成果により、この治療法が臨床に応用されるために必要な橋渡し研究が加速されると期待されます。

同研究グループは、2013年にiPS細胞から免疫細胞の一種であるキラーT細胞（注2）を若返った状態で作り出す技術の開発に成功しています。しかし、本技術をより安全に臨床に応用するためには、iPS細胞ががん化した場合や副作用が生じた場合に、これらを制御する必要がありますがありました。

今回、同研究グループは試験管の中だけでなく、マウスの体内においてもこれらの若返ったキラーT細胞が効果的に腫瘍を縮小させることを実験的に証明しました。さらに細胞の自殺を促すiCaspase9という遺伝子をiPS細胞に組み込み、そのiPS細胞から若返ったキラーT細胞を作製することに成功しました。このT細胞は、iPS細胞に由来しない通常のキラーT細胞に比べてマウス体内に移植した腫瘍を効果的に縮小させる効果が見られ、腫瘍を移植したマウスの生存期間も伸びることがわかりました。また特定の薬剤を投与することにより、iPS細胞由来T細胞に

細胞死を誘導できることも確認し、副作用が現れた時にはこの薬剤を投与することによって、症状を止めることができることを確認しました。

今回の成果により、iPS細胞由来T細胞療法のあらゆる過程でおこりうる副作用を確実に制御できるようになり、安全かつ有効なT細胞療法の実現に繋がると期待されます。またこの安全装置は他のiPS細胞由来の細胞治療へも応用可能です。

本研究はJSPS科研費 15J40133の助成を受けて行われたものです。

4. 発表内容：

<研究の背景と経緯>

iPS細胞由来の分化誘導細胞を用いる再生医療は非常に期待の持てる新規治療法と言えます。しかしiPS細胞を利用した治療を臨床応用する際に、iPS細胞の造腫瘍性は大きい障害と考えられています。混入したiPS細胞を取り除くためのさまざまな試みがなされていますが、腫瘍化の原因は未分化細胞の混入のみならず分化誘導中の長期培養も原因となるため、これらの方法では不十分であり、更なる安全性の向上が望まれます。

中内教授らの研究グループは2013年にT細胞から樹立したiPS細胞(T-iPS細胞と呼ぶ)から機能的に若返ったウイルス特異的キラーT細胞を誘導することに成功しています。従来の末梢血由来キラーT細胞は度重なる外敵の侵入や慢性的な感染状態により疲弊、老化することが知られていますが、T-iPS細胞から誘導されたキラーT細胞は抗原特異性を維持しつつ高い増殖能と若返りの指標であるテロメア長(注3)の伸展を認めました。この若返ったウイルス特異的キラーT細胞をウイルス関連腫瘍の治療に用いることを計画しています。しかし前述の造腫瘍性、更にT細胞療法で起こりうる移植片対宿主病(注4)などの副作用が臨床応用における安全面での懸念点として挙げられます。

そこで、より安全なiPS細胞由来T細胞療法を実現させるため、自殺遺伝子(注5)による安全システムに着目しました。従来の自殺遺伝子には、効果が細胞周期依存性である、ヒト由来でなく免疫原性があるなどの欠点があり、予想した効果が期待できないという問題がありました。それに対し新しい自殺遺伝子であるiCaspase9(iC9)はそれらの欠点がなく、遺伝子が導入された細胞に迅速かつ効率的に細胞死を誘導することができます。米国のベイラー医科大学ブレンナー教授らのグループが行なった、iC9を遺伝子導入したドナーリンパ球を急性白血病再発患者に投与する臨床試験では、高い有効性と安全性が示されています。

<研究の内容>

中内教授らの研究グループは今回、iC9をT-iPS細胞に組み込み、iC9を発現するT-iPS細胞からウイルス特異的キラーT細胞を誘導、副作用出現時にはiC9を発現する細胞に細胞死を誘導できるという安全システムを構築し、その効果を実験的に確認しました(図1)。

(1) iC9を高発現するT-iPS細胞から、抗原特異性と細胞障害性を持つキラーT細胞の誘導

はじめに健常人ドナーよりエプスタイン・バールウイルス(EBウイルス、注6)特異的キラーT細胞を誘導し、そのT細胞よりT-iPS細胞を樹立しました。HIV1感染患者のHIV1特異的キラーT細胞より樹立したT-iPS細胞も使い、2つのT-iPS細胞株にiC9を遺伝子導入しました。iC9を発現するT-iPS細胞に、ダイマライザー(注7)を投与すると、いずれの細胞株にも24時間で95%以上の細胞死を誘導することができました。次にiC9を導入したT-iPS

細胞よりウイルス特異的キラーT細胞を分化誘導しました。誘導できたT細胞はiC9を高発現し、もとのT細胞の抗原特異性を維持していました。また、ウイルス抗原提示細胞に対し細胞障害性を認めました。

(2) iC9を発現するiPS細胞由来ウイルス特異的キラーT細胞の抗腫瘍活性

しかし、iPS細胞由来キラーT細胞の実際の抗腫瘍効果は今まで証明されていませんでした。そこで研究グループは免疫不全マウスにEBウイルス感染ヒトリンパ芽球様細胞株を腹腔内注射し腫瘍を樹立しました。約5日後にHLA（注8）の一致したiPS細胞由来EBウイルス特異的キラーT細胞で治療したところ、著明な腫瘍縮小効果を認めました。もとの末梢血由来EBウイルス特異的キラーT細胞で治療したマウスのグループと比較すると、生存期間が延長していることもわかりました。

(3) 細胞死誘導システムによるiC9を発現するiPS細胞由来T細胞の除去

iC9を発現するiPS細胞由来EBウイルス特異的キラーT細胞とHIV1ウイルス特異的キラーT細胞にダイマライザーを添加すると24時間後には80~99%の細胞死（アポトーシス）が誘導できました。更にマウスモデルでも確認したところ、ダイマライザーを投与しない場合はキラーT細胞が腫瘍を認識した後にマウスの体内で増殖し、生存するのに対し、ダイマライザーを投与したマウスの体内では投与開始3日後からキラーT細胞の検出がほぼできなくなりました。この結果から、もしもiPS細胞由来ウイルス特異的キラーT細胞療法により副作用が現れた場合には、ダイマライザーを投与することにより副作用の症状を消失させる、もしくは制御可能であることが示唆されました。

<社会的意義・今後の展開>

今回の研究によってiC9の細胞死誘導システムをiPS細胞由来ウイルス特異的キラーT細胞療法に応用し、iPS細胞由来T細胞療法のあらゆる過程でおこりうる副作用をコントロールできるシステムを構築することができました。また、このシステムで作製したiPS細胞由来キラーT細胞の体内での抗腫瘍効果も確認できたため、今後安全で有効なiPS細胞由来T細胞療法の実現化への橋渡しとなることが期待されます。また、本安全装置は他のiPS細胞やES細胞を利用した細胞療法一般にも応用可能であり、より安全な再生医療の実現に貢献すると期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：米国科学雑誌「*Stem Cell Reports*」 2015年8月27日Advanced Online版で掲載、10月号に本掲載予定

論文タイトル：“A Safeguard System for Induced Pluripotent Stem-Cell Derived Rejuvenated T-cell Therapy”

著者：

Miki Ando*, Toshinobu Nishimura, Satoshi Yamazaki, Tomoyuki Yamaguchi, Ai Kawana-Tachikawa, Tomonari Hayama, Yusuke Nakauchi, Jun Ando, Yasunori Ota, Satoshi Takahashi, Ken Nishimura, Manami Ohtaka, Mahito Nakanishi, John J Miles, Scott R Burrows, Malcolm K Brenner, and Hiromitsu Nakauchi*

DOI 番号 : Stem Cell Reports (2015), <http://dx.doi.org/10.1016/j.stemcr.2015.07.011>

6. 注意事項 :

日本時間 2015 年 8 月 28 日 (金) 午前 1 時 (アメリカ東部時間 : 2015 年 8 月 27 日午後 12 時) 以前の公表は禁じられています。

7. 問い合わせ先 :

中内 啓光 (ナカウチ ヒロミツ)

東京大学医科学研究所附属幹細胞治療研究センター 教授

安藤美樹 (アンドウ ミキ)

日本学術振興会特別研究員 RPD

(東京大学医科学研究所附属幹細胞治療研究センター・幹細胞治療分野)

〒108-8639 東京都港区白金台 4-6-1 □ 総合研究棟2F

Tel: 03-5449-5331 (安藤)、03-5449-5330 (中内) □ FAX : 03-5449-5451

E-mail: nakauchi@ims.u-tokyo.ac.jp

※8/26は、安藤美樹日本学術振興会特別研究員RPDの電話番号にご連絡下さい。

8. 用語解説 :

(注1) 人工多能性幹細胞 (iPS細胞) :

京都大学の山中伸弥教授らは4つの遺伝子 (初期化因子) を強制発現させることで、マウス線維芽細胞から多能性幹細胞が誘導できることを2006年に報告、2007年にはヒト線維芽細胞からも作成できることを報告した。iPS細胞からさまざまな体細胞に分化誘導できる技術の進歩により、iPS細胞由来細胞を用いて、さまざまな難治性疾患の治療を行なうための臨床研究が試みられている。

(注2) 細胞障害性T細胞 (キラーT細胞) :

免疫細胞であるTリンパ球の中でも、ウイルス抗原や腫瘍抗原を認識し、異常細胞を攻撃するリンパ球。患者のウイルス特異的細胞障害性T細胞を体外で増幅し、患者体内に戻す養子免疫T細胞療法は、重症ウイルス感染症やウイルス関連腫瘍の治療に有効である。

(注3) テロメア長 :

染色体末端に存在する構造で、分裂を繰り返すこと (老化) によりテロメア長は短くなるため、細胞老化の指標となりうる。

(注4) 移植片対宿主病 :

臓器移植、造血幹細胞移植、リンパ球輸注後などにおこる免疫反応であり、ドナーの白血球がレシピエントを攻撃することにより、皮疹、下痢、肝障害等の症状を引き起こす。

(注5) 自殺遺伝子 :

自殺遺伝子を導入された細胞は、特定の薬剤を投与されると細胞内で変化し、細胞死に至る。そのためこれらの遺伝子は自殺遺伝子と呼ばれる。一方、正常細胞はこの自殺遺伝子を持っていないため影響を受けない。自殺遺伝子を用いる細胞死誘導システムは、養子免疫 T 細胞療法後の急性移植片対宿主病の治療や癌の治療に有効である。

(注6) エプスタイン・バー (EB) ウイルス :

ヒトヘルペスウイルス科に属するウイルスの一種で、伝染性単核球症などの急性感染症を引き起こすのみならず、バーキットリンパ腫や上咽頭癌ではほぼ 100%感染しており、ホジキンリ

リンパ腫、鼻NK/T細胞リンパ腫でも多くの症例で感染を認め、さまざまな腫瘍の発症に関わることが知られている。

(注7) ダイマライザー：

カスパーゼ9は細胞死誘導システムの重要な経路を構成するシステインプロテアーゼのひとつである。iCaspase9はCIDというダイマライザーが細胞内に入ることにより、カスパーゼ9を強制的に二量体化(ダイマライズ)できるように設計されている。二量体化されたカスパーゼ9は次にカスパーゼ3を直接的に活性化し、活性化カスパーゼ3がiCaspase9発現細胞に細胞死を誘導する。

(注8) HLA (Human Leukocyte Antigen)：

白血球には血液型とも呼ばれるヒト白血球抗原と言われる型があり、造血幹細胞移植や免疫細胞療法の時に重要となっている。

9. 添付資料：

<参考図>

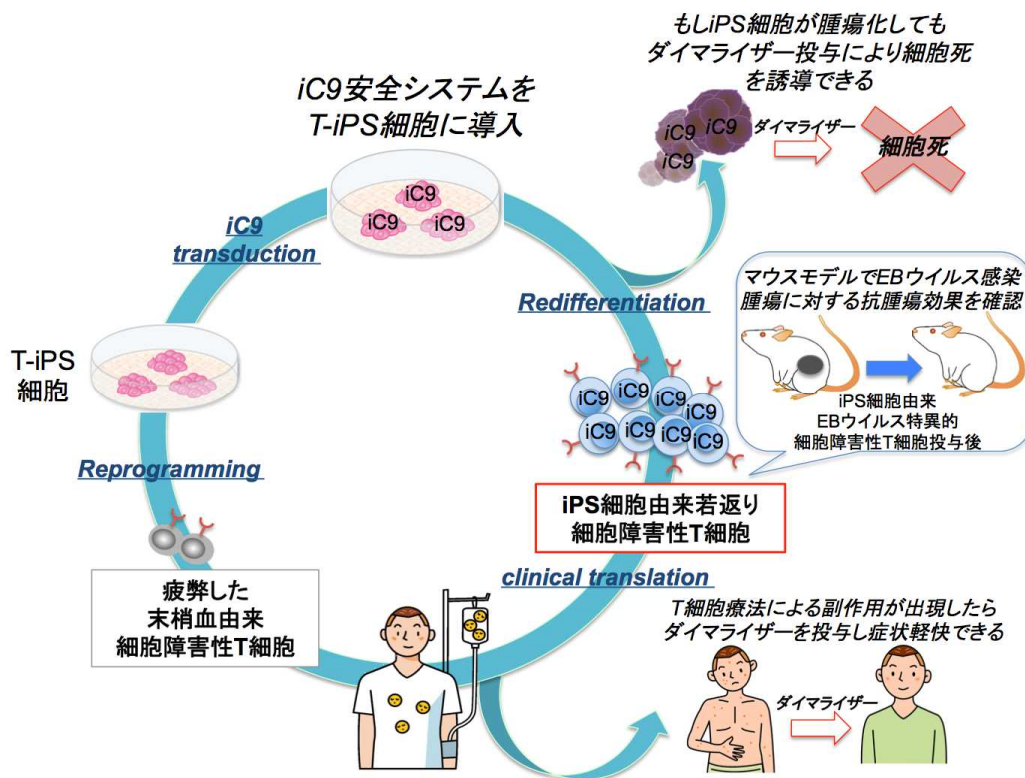


図1 自殺遺伝子 iC9 を導入することによって、安全システムを備えた iPS 細胞由来 T 細胞療法とその概念図