

## がんに挑むイノベーションの最前線

オーガナイザー **玉田 耕治**先生

山口大学 医学部 大学院 医学系研究科 教授

日時：2017年8月31日（木）13:00 - 17:00

会場：ソニー株式会社 本社

主催：ソニーイメージングプロダクツ&ソリューションズ株式会社

フローサイトメーターに興味をお持ちの大学・研究機関や企業の研究者を対象として、がんの免疫治療をテーマとしたライフサイエンス学術セミナーを開催しました。

### 【講演プログラム】

#### 【悪性腫瘍に対する新たな治療戦略：ウイルス療法を中心に】

講演者：谷 憲三朗先生

（東京大学 医科学研究所 特任教授）

座長：玉田 耕治先生

#### 【再生T細胞からがんへの挑戦状】

講演者：金子 新先生

（京都大学 iPS細胞研究所 准教授）

座長：玉田 耕治先生

#### 【遺伝子改変免疫細胞を利用した最新のがん治療戦略】

講演者：玉田 耕治先生先生

（山口大学 医学部 大学院 医学系研究科）

座長：谷 憲三朗先生

## 1. はじめに

玉田 耕治先生をオーガナイザーとしてお迎えし、「がんに挑むイノベーションの最前線」をテーマとして、玉田先生を始めとする3名の講演者に講演をお願いしました。谷先生はがんのウイルス療法、金子先生はiPS細胞から再生させたT細胞を利用したがん療法、玉田先生は遺伝子改変したT細胞を利用したがん治療について、最新の研究成果を交えて講演されました。ソニーからはテクニカルセミナーとして商品の技術説明を行いました。会場後方には弊社のライフサイエンス機器を展示し、聴講者の皆様に機器を紹介しました。

## 2. 谷 憲三朗先生のご講演「悪性腫瘍に対する新たな治療戦略：ウイルス療法を中心に」



ご講演中の谷先生

最初に、遺伝子治療について歴史を踏まえ、解説されました。1970年代になるとウイルスを利用した遺伝子治療の試みが始まり、アルギナーゼ欠損症の先天性患者に対するSPV（ショープパピローマウイルス）の接種が行われたのが最初の遺伝子治療ではなかったかと言われていること、1985年にはNIH（National Institute of Health, 米国国立衛生研究所）により遺伝子治療のガイドラインの開示があり、日本でも文部科学省と厚生労働省によりガイドラインが制定され、遺伝子治療が開始されたことを説明されました。初期には遺伝子導入のためのベクターに問題があったが、それを解決する研究が行われ、2008年以降、安全性および有効性が確認された方法が治療法として承認されるようになってきていることを示されました。

日本でも、先生のグループが実施されたものを含め、多くの臨床研究が行われていることを説明され、続いて、米国での悪性腫瘍に対する遺伝子治療の状況について述べられました。多くは免疫を活性化させるために使用するもので、この中にCAR-T（キメラ抗原受容体T細胞）治療も含まれることを説明されました。

先生のグループは1998年から2002年にかけて、顆粒球マクロファージ-コロニー刺激因子（GM-CSF）の遺伝子を搭載したレトロウイルスベクターを用いた自家の腎がん細胞を使用した臨床試験を第IV期の腎がんに対して実施されました。皮下に遺伝子を導入した腫瘍細胞を投与することによって、ランゲルハンス細胞を中心とした樹状細胞を活性化し、リンパ節に遊走させ、CD4、CD8のリンパ球を活性化することによって抗腫瘍効果に至ることを示されました [図2.1]。投与した患者で、腎がんの消失とリンパ球の浸潤を確認できたことを説明されました。

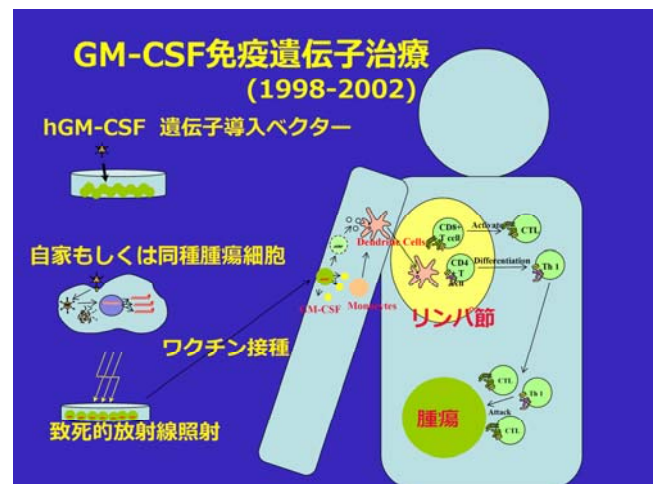


図2.1 GM-CSF免疫遺伝子治療 (1998-2002)

続いて、承認やFDA（Food and Drug Administration, 米国食品医薬品局）より希少医薬品指定を受けているウイルス療法を示し、国内外の臨床研究の状況を解説の後、ウイルスによってがん細胞が破壊される機構について述べられました。基本的には、がん細胞が増殖する機構を利用して、ウイルスが増殖し、その結果としてがん細胞が破壊されると述べられ、ウイルスによってそのメカニズムが異なることを説明されました。先生のチームが現在開発している方法の一つであるコクサッキーウイルスでは、PI3K/AKT、及び、MEKシグナル系を利用していることを示されました。

そして、RNAウイルスであるコクサッキーウイルスと麻疹ウイルスを用いて進められている研究を紹介されました。

コクサッキーウイルスを選択した経緯、その特徴と作用について示されました。このウイルスの野性株 (CVB3) では量が増えると臓器障害を生じることが分かったため、安全性を得るために、miRNA (マイクロRNA) に感受性を持つ組み換えウイルスを作製したと述べられました。正常細胞内ではmiRNAが存在するためにウイルスは破壊されるが、がん細胞内では破壊されず、抗腫瘍効果をもたらすことを示されました [図2.2]。



図2.2 miRNAによるCVB3の増幅阻害

続いて、この第2世代のCVB3 (CVB3-miRT) では臓器障害が解決し、肺非小細胞がんに対して抗腫瘍活性も維持されていること、更に他の種類のがんに対しても同様に有効であることを述べられました。現在、GMP (Good Manufacturing Practice、医薬品の優良製造基準) に準拠した形で製造を進めており、非臨床研究が進んでいることを説明されました。そして、化学療法や放射線療法でみられる免疫原性細胞死についての検討も進めていることについて述べられ、他に候補となったCVA11株についても触れられました。

麻疹ウイルスもコクサッキーウイルス同様に、がん細胞で高発現するウイルスであるが、抗腫瘍効果が低いことから、MV-NPLという株を作製したことを説明されました。

ウイルス療法は、中和抗体の産生のため、多数回行うことができないという問題があるので、スティルス化を検討したところ、ポリマー被覆した麻疹ウイルスでより大きな抗腫瘍効果を得たことを示されました [図2.3]。

## スティルス麻疹ウイルス療法の開発

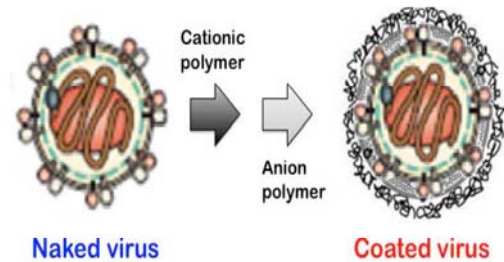


図2.3 スティルス麻疹ウイルス療法の開発

続けて、免疫チェックポイント阻害剤との併用に述べられました。体細胞変異が少ないがん細胞では免疫チェックポイント阻害剤は効きにくいという問題があるが、がん細胞をウイルス療法で殺傷することにより、有効な抗原をより多く放出させて免疫系を活性化させた上で、免疫チェックポイント阻害剤を使用すればそうした問題を克服できるのではないかと期待していると述べられました。

最後に、5-アミノレブリン酸 (ALA) を用いた血中循環がん細胞 (Circulating tumor cell, CTC) の検出法について最新の成果を示されました。5-ALAは細胞に取り込まれると、ミトコンドリアに移行してプロトポルフィリンIX (PpIX) に代謝されるが、がん細胞ではPpIXが細胞内に蓄積することを説明されました。PpIXが青色光 (375-445 nm) での励起によって赤色 (600-740 nm) の蛍光を呈することを利用したCTCを検出する試みについて示されました [図2.4]

## ALAを用いたCTCの検出

Goal:

プロトポルフィリンIXの蓄積を指標としたCTC検出法の確立

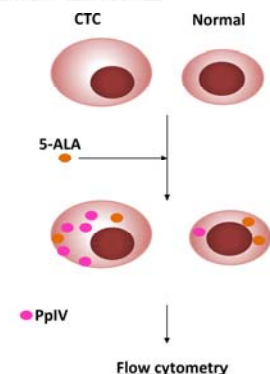


図2.4 ALAを用いたCTCの検出

スペクトル型セルアナライザー (SA3800, ソニー) を利用した、がん細胞 (ヒト肝がん由来細胞株 (HepG2)) と他細胞の識別の試みについて報告され、ご講演を締めくくられました [図2.5]。

### ALA標識された単球・HepG2の解析におけるアンミキシングの有効性の検討

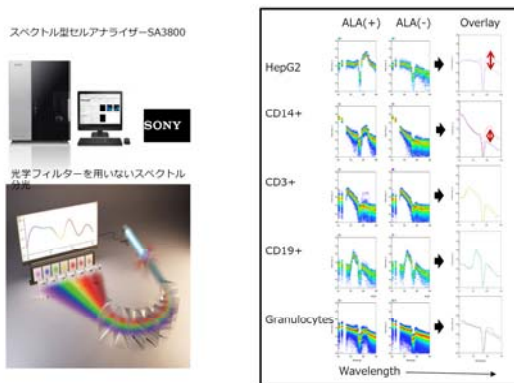


図2.5 ALA標識された単球・HepG2の解析におけるアンミキシングの有効性の検討

### 3. 金子 新先生のご講演「再生T細胞からがんへの挑戦状」



#### ご講演中の金子先生

最初に、T細胞の特徴について概説されました。T細胞は固有の受容体 (T細胞受容体, TCR) を持ち、標的細胞の表面にあるHLA-ペプチド複合体として多様なペプチド抗原を認識すること、そのためにTCRは多様なレパートリーを持っていること、造血幹細胞がT細胞に分化していく過程で遺伝子の再構成が起こりTCRが多様となることを述べられました。しかしながら、正常な細胞から突然変異を受けて生まれるがん細胞は限りなく自己に近いため、がん細胞に対するTCRを持つT細胞は生き残らず、数が少ないことを説明されました。がん免疫療法において、既存のT細胞を使うだけではがん細胞を殺傷するためのT細胞の数が確保できない傍証となっていると述べられました [図3.1]。

適合するTCRを持つT細胞のみが標的を認識し機能する

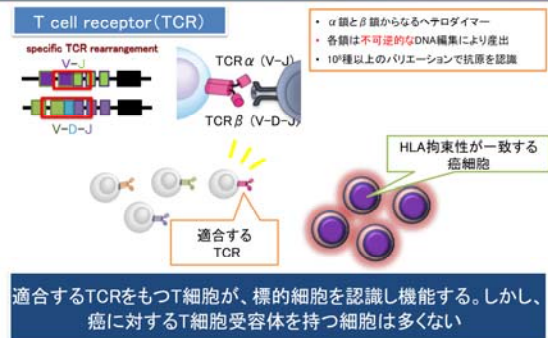


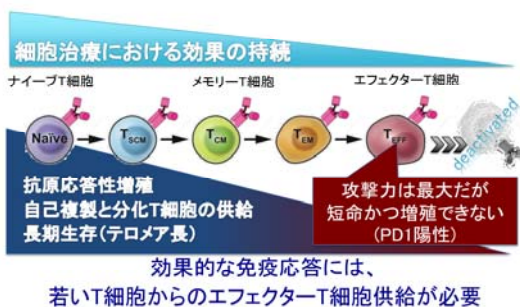
図3.1 適合するTCRを持つT細胞のみが標的を認識し、機能する





T細胞は胸腺を出た後、末梢血中でナイーブT細胞からメモリーT細胞を経て、攻撃力が最大のエフェクターT細胞に分化し、エフェクターT細胞は短命で増殖ができない性質を持つことを説明し、これは急性ウイルス感染症のように、一度にたくさんの抗原が体内に入ってきて、一度にたくさんのエフェクターT細胞が誘導され、抗原を排除し、エフェクターT細胞は速やかに消えて、メモリーT細胞がしっかり残るような状況では効果的な免疫応答と免疫記憶の形成ができることを述べられました。しかしながら、がんや慢性ウイルス感染症のように、T細胞に認識されにくい抗原を持つ標的に対しては効果的なメモリー形成が形成されず、抗原を排除できないため、T細胞のプール自体が枯渇してしまう現象があり、実験的にはメモリーT細胞やメモリーT幹細胞を使った方が効果が高く、治療で大切なのは上位に位置する細胞であると述べ、必要なT細胞の「数」と「若さ」が足りないとまとめられました [図3.2]。続けて、「数」を補う手法として抗原特異的レセプター導入T細胞があり、「若さ」を補う手法として免疫学的

### Tリンパ球は、増え(すぎ)ると弱る

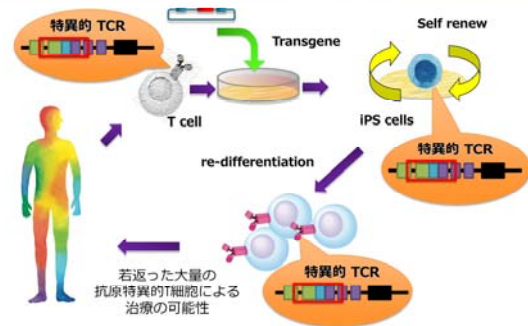


### 図3.2 効果的かつ持続する免疫応答には、若いT細胞 (ナイーブ、メモリーT細胞) が必要

次に、iPS細胞について解説されました。iPS細胞のゲノム配列は元の細胞から変化しないので、T細胞から作製されたiPS細胞はTCRの遺伝子の再構成が終わった状態であり、元のT細胞と同じであることに思い至り、iPS細胞からT細胞をつくる研究を行うことにしたと述べられました。患者からT細胞を採取することができれば、がんを特異的に認識するTCRの情報が残っていることが期待でき、iPS細胞を作製し、T細胞をつくれば「数」と「若さ」の両方を確保できると説明されました [図3.3]。

抗原特異的なCD8 T細胞からT-iPS細胞を樹立する方法について説明されました。CD8 T細胞はiPS細胞になりにくい細胞であり苦労したものの、患者から採血し、フローサイトメ

### T-iPS細胞を用いた「数」と「若さ」の確保



### 図3.3. T-iPS細胞を用いた「数」と「若さ」の確保

トリー法でソートしたT細胞からiPS細胞をつくることができることを示されました。遺伝子再構成されたTCRのゲノム配列をシーケンシングで調べ、iPS細胞でも元のT細胞の配列が保存されていることを示されました。

続いて、iPS細胞からのT細胞の再生について説明されました。最初は、末梢血中のCD8αβ T細胞とは少し異なるCD8αα T細胞ができたことを述べられました。このCD8αα T細胞は生体内では局所に存在することが知られ、テロメアの伸長(若返り)と良好な増殖能、そして抗原特異的なキラー活性も示すことを説明されました。CD8分子はT細胞と標的細胞との結合を強固にする機能を持ち、特にその機能はCD8αβ分子のβ鎖がもっているため、αα鎖は役に立っていない上、αα鎖がシグナルを弱めてしまうとも言われているので、αβ鎖の方が望ましいことが予想されると述べられました。CD4/CD8両陽性のT細胞からの最後の分化のところを最適化し、CD8αβ T細胞を効率的に誘導することもできるようになったことを説明されました。CD4/CD8両陽性の過程を経ることで、遺伝子の再構成が生じ、抗原特異性が変化することが分かったため、その再構成を起こす酵素(RAG2)をノックアウトし、抗原特異性を維持するT細胞をつくることができたことを述べ、このCD8αβ T細胞のTCR結合能が向上していることも説明されました。以上の成果を基に、患者検体から樹立した抗原特異的T-iPS細胞から誘導分化したCD8αβ T細胞によるがん細胞の殺傷と進展抑制を示されました。

自分自身の細胞からiPS細胞を樹立し、治療に利用する方法はコストや時間の面で考える必要があることを述べられ、それを克服するために、iPS研究所では日本人に適合しやすいようなiPS細胞をバンクとして用意しておいて必要に応じて使う方法を提唱していることを説明されました。

iPS細胞由来のCAR-T細胞を利用した検討結果を示され、講演をしめくられました。

#### 4. 玉田 耕治先生のご講演「遺伝子改変免疫細胞を利用した最新のがん治療戦略」



#### ご講演中の玉田先生

最初に、がん免疫療法の歴史を概説され、従来の治療法と現在の治療アプローチの違いを説明されました [図4.1].

#### がん免疫療法の歴史

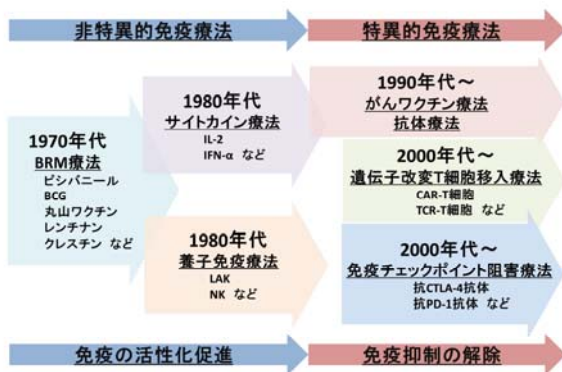


図4.1 がん免疫療法の歴史

続いて、免疫チェックポイント阻害剤と遺伝子改変したT細胞を利用したがん免疫療法のコンセプトを説明されました [図4.2]。免疫チェックポイント阻害剤は、がんを認識するT細胞ががんを傷害しようとしている状態でT細胞にブレーキがかかっているため、そのブレーキを外してがんを傷害するという考え方であること、しかしながら、進行した多くのがんの患者では免疫チェックポイント阻害剤は2割程度しか効か

ないこと、その理由として免疫系が弱っているためブレーキを外してもがんを傷害する活性を持たないT細胞しか残っていない可能性が高いことを説明されました。そこで、発想を転換し、体内に残っているリンパ球の遺伝子を組み換えて強い傷害活性を有する細胞に変換し、がんを効率的に攻撃するサイボーグのような細胞を患者に投与するという考え方が遺伝子改変T細胞を利用するがん免疫療法であると説明されました。免疫チェックポイント阻害剤が効かない患者にどうすれば有効な治療法を提供できるのか、という課題にアプローチするための戦略であると述べられました。

#### T細胞受容体の遺伝子導入によるがん免疫療法

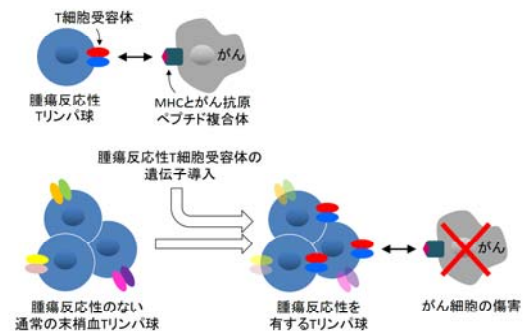


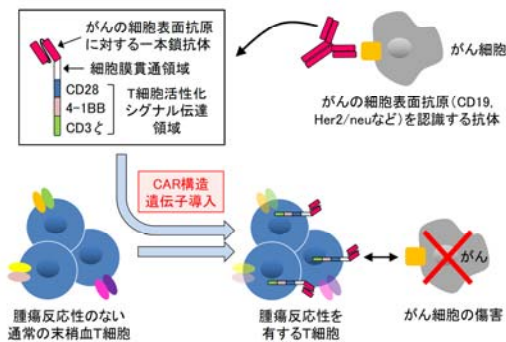
図4.2 T細胞受容体の遺伝子導入によるがん免疫療法

遺伝子改変したT細胞を利用する方法の一つとして、HLAに提示されたがん抗原ペプチドを認識できるT細胞受容体の遺伝子をTリンパ球に導入する方法があることを述べられました。この手法は現在世界中で検討されていること、標的となるがん抗原は多く存在し、それらは共通しているものもあれば、個人によって異なる場合があることが説明されました。個人で異なるがん抗原の場合、それぞれのがん細胞の遺伝子を次世代シーケンサーで解析することによって、その患者のがん抗原ペプチドを予測し、その患者のがん抗原に特異的なT細胞受容体の遺伝子を導入したT細胞を作製して投与する方法が考えられ、このようなアプローチは高度な個別化医療となりうるということが説明されました。

もう一つの方法として、がん細胞表面の抗原に対する抗体にT細胞を活性化する複数の刺激分子をつないだ人工的なキメラ抗原受容体 (Chimera Antigen Receptor: CAR) を

患者T細胞に遺伝子導入して作製するCAR-T細胞について述べられました。CAR-T細胞はがん細胞表面の抗原を認識すると刺激分子のシグナルにより細胞が活性化し、がんを傷害することを示されました [図4.3]。刺激分子の違いで第一世代から第三世代へと複雑になっていること、現在の臨床試験は第二世代が中心で、一部は第三世代になっていることを述べられ、急性リンパ性白血病に対して副作用は認められるものの極めて有効な臨床効果を示し、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration, FDA)から承認を得るに至ったことを解説されました。

#### CAR (Chimeric Ag Receptor) 遺伝子導入による腫瘍反応性T細胞の誘導



#### 図4.3 CAR (Chimera Antigen Receptor) 遺伝子導入による腫瘍反応性T細胞の誘導

しかしながら、CAR-T細胞療法は急性リンパ性白血病のような血液がんには極めて有効であるが、固形がんに対しては優れた有効性は得られていないというのが現状であると述べられました。どうして血液がんでは効くの、固形がんでは効きにくいのか、どうすれば固形がんにも効くようなCAR-T細胞をつくれるのかに注目して研究を進めていると述べられました。

固形がんに対してCAR-T細胞が効果を示しにくい理由として、二つの問題を上げられました。問題の一つは、標的となる腫瘍抗原であり、血液がんでは利用されるCD19はB細胞系腫瘍では大部分のがん細胞にほぼ均一に発現している優れた標的分子であるのに対して、固形がんはがん組織の不均一性が高く、大部分のがん細胞に共通して発現している標的分子の同定が難しいことを指摘されました。また、

もう一つの問題はがん局所への送達性であり、静脈内投与したCAR-T細胞が自然にコンタクトする可能性が高い血液系腫瘍に対して、固形がんではその局所に到達したうえで浸潤し、がん微小環境での免疫抑制を克服して増殖してがん細胞を傷害しなければ効果が得られないことであると述べられました [図4.4]。

#### 固形がんに対するCAR-T細胞療法の現状

- 早期臨床試験の段階である
- 画期的な臨床効果は得られていない

#### 固形がんに対するCAR-T細胞開発に何が重要か?

- 優れた標的抗原: がん特異性が高く、固形がんの不均一性を克服できる標的の同定
- 腫瘍局所への送達性: CAR-T細胞が固形がん局所に効率的に集積し、がん組織の中で増殖・生存すること

#### 図4.4 固形がんに対するCAR-T細胞療法の現状

固形がんに対するCAR-T細胞の送達性を向上させる試みは現在多くの研究者により検討されており、玉田先生らの研究グループは、リンパ節などの2次リンパ組織におけるT細胞領域形成のメカニズムに着目し、特定のサイトカインやケモカインを産生するCAR-T細胞を作製すれば、がんの局所に集まる仕組みをつくれるのではないかと考え、検討を進めていることが述べられました。これまでの研究成果では、IL-7やCCL19といったサイトカイン、ケモカインを産生するCAR-T細胞はがん細胞に対して優れた反応性を示し、その増殖能や遊走能が向上していることが示されていると述べられました。また、セルソーター (SH800, ソニー) でソーティングしたT細胞や腫瘍細胞を用いた検討により、作製したCAR-T細胞の固形がんモデルに対する治療効果やメカニズムを解析していることが述べられました。

最後に、安全性向上のためにCAR-T細胞の機能を制御する技術が開発されていることや免疫チェックポイント阻害剤とCAR-T細胞療法の組み合わせの可能性についても述べられ、講演を締めくくられました。

## ■ Contact

ソニーイメージングプロダクツ&ソリューションズ株式会社  
ライフサイエンス営業部  
〒243-0014 神奈川県厚木市旭町4-14-1  
TEL:0120-667-010  
FAX:0120-388-060  
E-mail: cytometry@sony.co.jp

<http://www.sony.co.jp/LS>

