

千住 覚

熊本大学 大学院生命科学研究部 免疫識別学分野・准教授

iPS 細胞由来の樹状細胞とマクロファージを用いた医療技術の開発

## § 1. 研究実施体制

### (1) 「千住」グループ

① 研究代表者: 千住 覚 (熊本大学、准教授)

② 研究項目

- ・動物血清およびフィーダー細胞を使用しないヒト iPS 細胞からの樹状細胞およびマクロファージ分化誘導法の開発
- ・免疫不全マウスへのヒト腫瘍細胞移植系を用いた、iPS 細胞由来マクロファージによるがん治療効果の確認
- ・マウスモデルを用いた iPS 細胞由来マクロファージによるアルツハイマー病治療法の検討
- ・ZFN を用いたヒト iPS 細胞における HLA 置換技術の開発

### (2) 「植村」グループ

① 主たる共同研究者: 植村 靖史 (愛知県がんセンター研究所、主任研究員)

② 研究項目

- ・TAP 欠損樹状細胞によるがん抗原特異的細胞障害性 T 細胞の誘導および増殖

## § 2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

### 「千住」グループ

#### 動物血清およびフィーダー細胞を使用しないヒト iPS 細胞からの樹状細胞およびマクロファージ分化誘導法の開発

ヒト iPS 細胞から樹状細胞およびマクロファージへの分化誘導法を開発し、さらに、動物血清およびフィーダー細胞の使用を伴わない iPS 細胞からの樹状細胞およびマクロファージの分化誘導培養法を開発した。さらに、大量の分化細胞(樹状細胞およびマクロファージ)をより簡便に安定して得られる方法の開発を試みた。その結果、ヒト iPS 細胞由来のミエロイド系(CD11b 陽性)細胞に、

cMycとPolycomb分子であるBMI1等を強制発現させることにより増殖能力を増強させ、より少ない費用と労力で安定的に分化細胞が得られることとなり、本研究プロジェクトの最終目標である細胞医療としての実用化を目指す上で非常に大きな進歩となった。さらに、BMI1 以外に、EZH2 やMDM2 など BMI-1 以外の細胞老化を抑制する因子を cMYC と同時に導入することによっても、増殖性を有するミエロイド系血液細胞を作成できることを見だし、これを iPS-ML (iPS cell-derived myeloid/macrophage cell line) と名付けた(論文投稿中)。

### **免疫不全マウスへのヒト腫瘍細胞移植系を用いた、iPS 細胞由来マクロファージによるがん治療効果の確認**

以前より、細胞表面上に抗 CD20 および抗 Her2/neu 抗体 (FcR-fusion 単鎖抗体:scFv) を発現するヒト iPS 細胞由来マクロファージ(iPS-MP)を作製し、scid マウスにヒトの白血病細胞株あるいは胃癌細胞株を移植した xeno-graft を用いてその抗腫瘍活性を検討している。平成 23 年度は、より効果の高い治療法を開発するべく、単鎖抗体導入に加えてさらにインターフェロンなどの抗腫瘍活性分子を高発現する iPS-MP を作製した。そして、scid マウスの腹腔内にヒトの胃癌および膵臓癌細胞を生着させた後にこのような遺伝的改変マクロファージを用いて治療を行うことにより、癌細胞の増殖を抑制できるという結果を得た。

### **マウスモデルを用いた iPS 細胞由来マクロファージによるアルツハイマー病治療法の検討**

iPS 細胞由来のマクロファージを用いてアルツハイマー病の原因物質の一つである  $\beta$  アミロイドを除去し、疾患の治療することを目指して研究を行っている。以前の研究において、アルツハイマー病の原因物質である  $\beta$  アミロイドタンパクに特異的な単鎖抗体を発現するマクロファージを作製した。そして、in vitro の解析においてこのマクロファージが  $\beta$  アミロイドタンパクに特異的な強力な貪食能力を有していることを確認している。平成 23 年度は、さらに、 $\beta$  アミロイドタンパクを分解する活性を有していることが知られているプロテアーゼを強制発現させたマクロファージを作成した。in vitro での検討により、これによってマクロファージによる  $\beta$  アミロイドタンパクを分解する活性が増強することを確認した。また、モデルマウス(アミロイドベータトランスジェニックマウス)を用いて、in vivo における治療効果の検討を行っており、マウスの側脳室内へのカテーテル留置による脳内への持続細胞注入システム、および、脳内アミロイドベータ量減少を指標とする効果判定系を確立した。

### **ZFN を用いたヒト iPS 細胞における HLA 置換技術の開発**

TAP1 と TAP2 分子の複合体である TAP は、MHC クラス I による抗原提示経路へペプチドを供給するトランスポーターである。TAP1 あるいは TAP2 を欠損した細胞では、細胞内でプロテアソームにより産生されたペプチドが供給されないため、MHC クラス分子に結合するペプチドを細胞外から添加しない限り、細胞表面での安定した MHC クラス I の発現が妨げられる。我々は、このことを利用して、ヒト iPS 細胞から一種類の HLA クラス I 分子のみを発現する細胞を作成することを考え

た。すなわち、iPS 細胞において、gene targeting により TAP1 あるいは TAP2 の遺伝子を破壊し、さらに、任意の HLA クラス I 遺伝子を導入する。このような遺伝的改変 iPS 細胞に由来する樹状細胞に外来性にペプチドを添加することにより、特定の HLA-ペプチド複合体のみを発現する樹状細胞を作成することができると考えた。本年度の研究では、ZFN(zinc-finger nuclease)を用いて、ヒト iPS 細胞において TAP2 遺伝子を欠損させることに成功した。さらに、この細胞に外来性に HLA-A\*0201 遺伝子を導入して樹状細胞へ分化させ、これを刺激細胞とすることにより、in vitro の実験で、アロのドナーに由来する HLA-A\*0201 拘束性 CD8 細胞を特異的に刺激し活性化できることを見いだした。この結果は、TAP 欠損ヒト iPS 細胞に各種の HLA クラス I の遺伝子を導入した細胞バンクを作成し、この細胞バンクから樹状細胞ワクチンを作成すれば、全てのヒトに対して対応可能となることを示すものである。

「植村」グループ

TAP 欠損樹状細胞によるがん抗原特異的細胞障害性 T 細胞の誘導および増殖  
マウスの TAP1 欠損 ES 細胞から樹状細胞を作成し in vitro での T 細胞刺激能力などについて、機能解析を行った。そして、TAP1 樹状細胞にペプチドを添加したものを刺激細胞とすることにより、ペプチド特異的な T 細胞を刺激し増殖させることが可能であることを見いだした。

### § 3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### ●論文詳細情報

1. Senju, S., Haruta, M., Matsumura, K., Matsunaga, Y., Fukushima, S., Ikeda, T., Takamatsu, K., Irie, A., and Nishimura, Y. "Generation of dendritic cells and macrophages from human induced pluripotent stem cells aiming at cell therapy" *Gene Therapy* 18: 874-883, 2011 (DOI: 10.1038/gt.2011.22)

#### (3-2) 知財出願

- ① 平成 23 年度特許出願件数(国内 0 件)
- ② CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)