

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
 - ・ iPS-MLによる腹膜播種癌腫瘍治療法の開発
 - ・ iPS細胞におけるHLA関連遺伝子改変技術の開発
 - ・ iPS-MLを用いたアルツハイマー病治療法の開発

(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
 - ・ マウス多能性幹細胞由来樹状細胞によるがん抗原特異的T細胞の活性化の検討
 - ・ T細胞由来のiPS細胞を用いた癌治療法の開発

§ 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)

iPS-MLによる腹膜播種悪性腫瘍治療法の開発

ヒトiPS細胞からミエロイド系血液細胞を大量生産する技術(iPS-ML)を活用し、代表的な難治性癌である胃癌腹膜播種および膵臓癌の細胞治療技術を開発する研究を行っている。昨年度までの研究により、ヒトiPS細胞由来のミエロイド系(CD11b陽性)細胞にcMycとBMI1等を発現させることにより増殖能力を有する細胞を作成する方法を開発した。この技術により、より少ない費用と労力で大量のミエロイド細胞を作成できるようになった。iPS-MLに抗腫瘍効果が期待できる各種の分子

を発現させた iPS-ML をエフェクター細胞とした癌治療法の開発を目的として研究を行った。本年度は、xeno-graft マウスモデルを用いた治療効果の検討を行った。ヒトの iPS-ML は、ヒトの胃癌細胞株を腹腔内に生着させた SCID マウスに腹腔内投与すると、腫瘍局所に集積し組織内へ浸潤した。さらに、インターフェロン β を発現させた iPS-ML の投与により、マウス腹腔内でヒトの胃癌および膵臓癌に対する治療効果が得られた。

iPS 細胞における HLA 関連遺伝子改変技術の開発

再生医療を目的とした患者毎の個別の iPS 細胞作製は、医療経済的に成立しないとする見方がある。また、癌治療の場合等では、診断後に患者個別の iPS 細胞の樹立と治療用細胞作成のための分化誘導培養を行うような時間的な余裕はない。この問題を解決する手段として、集団中で頻度の高い HLA を網羅した iPS 細胞のバンク (HLA ハプロタイプ iPS 細胞ストック) を設立される予定である。しかしながら、頻度の低い HLA ハプロタイプでは、ホモ接合のドナーを得ることが難しく、日本人集団の 10% 程度は、バンクではカバーできないと考えられる。本グループでは、ヒト iPS 細胞において HLA クラス I の発現に関わる TAP の遺伝子改変を行って低頻度 HLA ハプロタイプの問題を解決するべく研究を行った。

ヒトの iPS 細胞において TAP2 の遺伝子を欠損させた。TAP2 遺伝子標的破壊は、相同組換えベクターと標的配列特異的 DNA 切断酵素 (ZFN) を同時に導入することにより行った。そして、TAP 欠損 iPS 細胞および分化細胞 (iPS-ML) において、アロ免疫応答を回避にできることを確認した。本来 HLA-A*02:01 を有しない (HLA-A*02:01 -negative のドナーに由来する) iPS 細胞において TAP2 を欠損させ、iPS-ML を作成後に HLA-A*02:01 を導入し、この細胞から ML-DC を作成した。この ML-DC に腫瘍抗原 MART1 由来の HLA-A*02:01 結合性ペプチドを負荷したものを刺激細胞として、HLA-A*02:01 を有するアロドナーに由来する CD8T 細胞から、悪性黒色腫関連抗原である MART1 に特異的な細胞傷害性 T 細胞 (HLA-A*02:01/MART1 特異的な CTL) を誘導することができた (図 1)¹。

図 2 に、TAP 欠損 iPS-ML を用いた細胞

図 1: TAP 欠損 iPS 細胞由来の樹状細胞によるアロドナー由来 T 細胞刺激

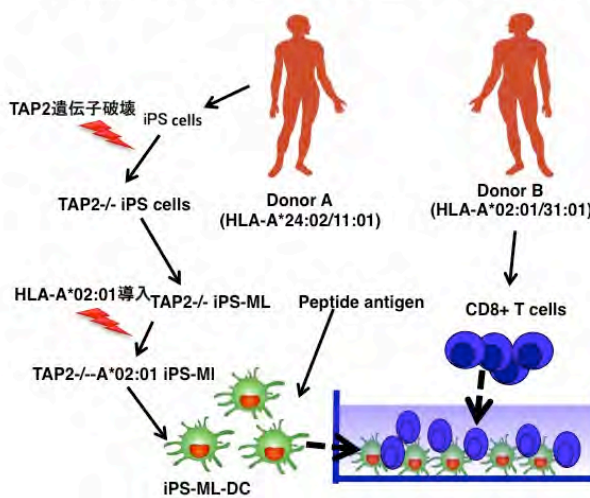
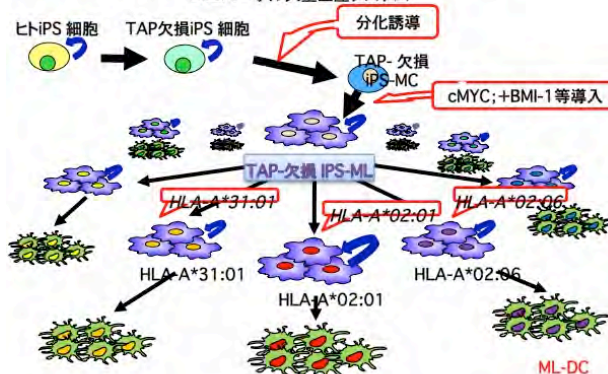


図 2: TAP 欠損 iPS-ML を用いた樹状細胞およびマクロファージのユニバーサル大量生産システム



治療用の iPS-ML と樹状細胞の供給システムの概念図を示している。TAP2 欠損 iPS 細胞から、iPS-ML を作成し、これに各種の HLA クラス I 遺伝子を導入した後に大量に増殖させて凍結保存しておく。がん患者に対する樹状細胞ワクチンとして使用する場合は、IL-4 を添加して 3 日ほど培養し樹状細胞 (ML-DC) へ分化させ、治療に用いる。iPS-ML を大量に生産し、クオリティーチェックを行ってまとめて凍結保存することにより、製造コストを大幅に削減することが可能となる。

iPS-ML を用いたアルツハイマー病治療法の開発 (モデルマウスを用いた脳実質内アミロイド β 現象効果の検討)

アルツハイマー病の原因物質である β アミロイドタンパクを分解するプロテアーゼである Neprilysin (CD10) あるいは Insulin Degrading Enzyme (IDE) を発現する iPS-ML を作成した。これらの iPS-ML が、培養系において β アミロイドタンパクを分解することを確認している。さらに、モデルマウス (β アミロイド前駆体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た。その結果、マウス脳内へこの iPS-ML を移入することにより、マウス脳間質液中の可溶性 β アミロイドタンパクを減少させることが可能である、という結果を得た。

マウス多能性幹細胞由来樹状細胞によるがん抗原特異的 T 細胞の活性化の検討, T 細胞由来の iPS 細胞を用いた癌治療法の開発 (植村グループ)

腫瘍抗原を負荷したマウスの ES 細胞由来の樹状細胞をマウス個体に投与することにより、腫瘍抗原特異的 T 細胞の誘導が可能であることを見いだした。また、抗原特異的なヒト T 細胞から iPS 細胞作成をおこなった²。

§ 3. 成果発表等

(3-1) 原著論文発表

1. Haruta M, Tomita Y, Yun A, Matsumura K, Ikeda T, Takamatsu K, Haga E, Koba C, Nishimura Y, Senju S. TAP-deficient human iPS cell-derived myeloid cell lines as unlimited cell source for dendritic cell-like antigen presenting cells. *Gene Ther.* (epub ahead of print) (DOI:10.1038/gt.2012.59)
2. Nishimura T, Kaneko S, Kawanaka-Tachikawa A, Tajima Y, Goto H, Zhu D, Nakayama-Hosoya K, Iriguchi S, Uemura Y, Shimizu T, Takayama N, Yamada D, Nishimura K, Ohtaka M, Watanabe N, Takahashi S, Iwamoto A, Koseki H, Nakanishi M, Eto K, Nakauchi H. Generation of Rejuvenated Antigen-Specific T Cells by Reprogramming to Pluripotency and Redifferentiation. *Cell Stem Cell* **12**, 114-126, 2013 (DOI:10.1016/j.stem.2012.11.002)

(3-2) 知財出願

- ① CREST 研究期間累積件数(国内 3 件)