

COVID-19 治療用多能性幹細胞由来 T 細胞製剤の作製に初めて成功 -特許出願を完了し臨床試験に向けた開発が本格化-

詳しい内容について

1. 概要

河本宏教授（京都大学医生物学研究所）の研究室は、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）治療用T細胞製剤¹⁾の作製に成功し、このたび、特許出願を行いました。このT細胞製剤は、ES細胞²⁾から作られます。

COVID-19は、一時期ほどは脅威でなくなりましたが、高齢者や、基礎疾患を持っている患者、あるいは免疫不全状態の患者においては、依然として死にいたる事がある恐ろしい感染症です。

COVID-19に対して、様々な抗ウイルス薬が開発されましたが、特効薬と言えるほど切れ味の良いものはまだありません。抗体医薬は、感染初期にしか効果がなく、また変異株に対しては往々にして効果がなくなります。従って、重症COVID-19患者に使える治療薬の開発が望まれています。

河本宏教授の研究室は、多能性幹細胞であるiPS細胞（人工多能性幹細胞）³⁾あるいはES細胞を材料にしてキラーT細胞製剤を作製する技術を開発してきました。最初の臨床応用としては、血液がんを対象にした臨床試験に向けての開発を進めてきました。

そのような中、2020年に日本でもCOVID-19のアウトブレイクが始まりました。河本研は同年5月にT細胞製剤をCOVID-19に使う研究を開始しました。2020年夏には藤田医科大学の共同研究を開始し、2021年から大阪大学微生物病研究所、2022年から国立成育医療研究センターが加わりました。一連の研究はAMEDの新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業（2020年度単年度）の支援と、リバーセル株式会社⁴⁾の支援（2020年～）を受けています。

この共同研究により、ES細胞を材料としたCOVID-19治療用T細胞製剤（図1）の作製に成功し、このたび、京都大学、藤田医科大学、大阪大学、国立成育医療センターの4者による共願という形で出願を完了しました。材料として使うES細胞は、拒絶されにくいように、HLA⁵⁾の遺伝子を欠失させました。作製されたT細胞製剤は、1種類で日本人の約6割に使えます。

この技術に基づいた開発研究は、引き続き上記の出願人である4者およびリバーセルが共同で行い、臨床試験は藤田医科大学で行う計画です。対象となる患者としては、がん治療の中で免疫不全状態になったためにCOVID-19が難治性になった症例を想定しています。

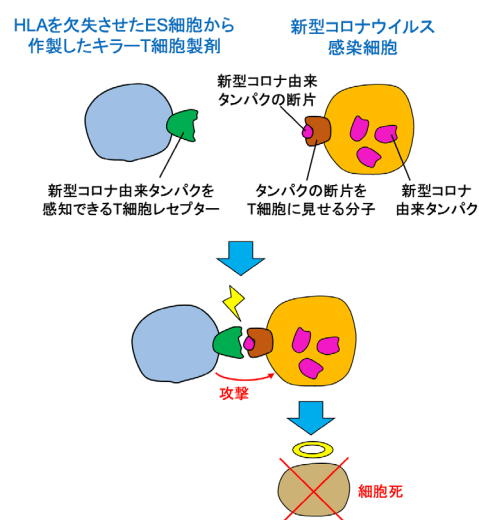


図1 COVID-19 治療用 T 細胞製剤が働く仕組み

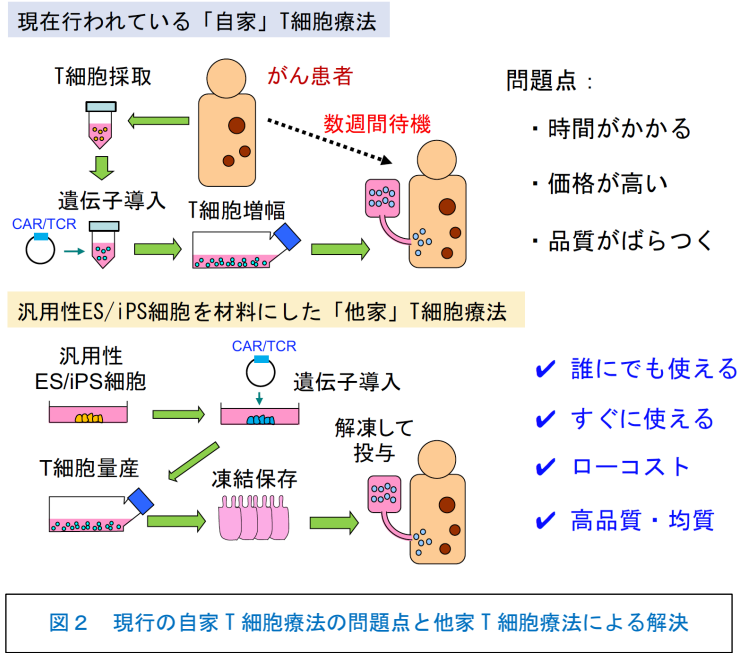
なおこの戦略は、プラットフォーム技術として、他のウイルスにも使えます。例えば造血幹細胞移植後に起こる致死的なウイルス感染症⁶⁾ に対するの開発も進めています。また、SARS、MERS、鳥インフルエンザなどにも T 細胞製剤を作製して備蓄しておけます。さらに、未知のウイルスに対しても使えるので、G7 が提唱する 100 日ミッション⁷⁾ にも対応できると考えています。人類をウイルス感染による死から救うブレイクスルーになればと願っています。

2. 背景

1) 新型コロナウイルス感染症の脅威はまだ続いている

COVID-19は、一時期ほどは脅威でなくなりましたが、高齢者や、基礎疾患を持っている患者、あるいは免疫不全状態の患者においては、依然として致死的な転帰をもたらす恐ろしい感染症です。

COVID-19に対して、様々な抗ウイルス薬が開発されましたが、特効薬と言えるほど切れ味の良いものはまだありません。抗体医薬は、感染初期にしか効果がなく、また変異株に対しては往々にして効果がなくなります。従って、重症COVID-19患者に使える治療薬の開発が望まれています。



2) 多能性幹細胞を用いた即納型「他家」T細胞製剤の開発

河本教授の研究室が開発を進めてきた技術を紹介します。

T細胞を体外に取り出してから活性化/増幅して戻す方法は、ある種のがんに有効である事が示されてきました。例えば患者の末梢血中のT細胞にがん抗原特異的なTCR遺伝子を導入するという方法（TCR-T細胞療法）⁸⁾ は、滑膜肉腫などに一定の効果がある事が報告されています。さらにキメラ抗原レセプター（chimeric antigen receptor: CAR）を末梢血T細胞に導入する治療法（CAR-T細胞療法）⁹⁾ は、B細胞性白血病やリンパ腫に著効を示し、日本を含む世界各国ですでに承認されています。

これらのT細胞を用いた細胞療法の有効性が示される一方で、課題も多く残されていました。原則的に自家の系で行われているために、i) 作製できる細胞数に限りがある、ii) 製造に時間がかかる、iii) コストがかかる、iv) 患者から品質の良いT細胞が得られるとは限らないので品質が不安定、などの課題です（図2上段）。

河本研究室は、ES細胞やiPS細胞などの多能性幹細胞からT細胞を作製する方法を用いることで、これらの問題を解決できると考えました（図2下段）。多能性幹細胞にはあらかじめTCR遺伝

子や CAR 遺伝子を導入しておきます。大量生産することにより必要なだけの細胞数を得ることができ、生産コストの低減が可能となります。さらに凍結保存できるのが T 細胞製剤の強みです。解凍後、すぐに投与できますので、必要な時に即座に投与することができます。特定の HLA 型を持つ iPS 細胞や、HLA を欠失させた ES/iPS 細胞を用いることで、拒絶反応の問題を軽減することができます。

3) 白血病を対象にした臨床試験に向けて

現在、河本研究室が主軸となり、WT1 抗原を発現する急性骨髄性白血病を対象として、医師主導治験に向けた開発研究を、京都大学医学部附属病院の先端医療研究開発機構 (iACT)、血液内科、細胞療法センター (C-RACT) などと共同で進めています (図 3)。この臨床研究では、iPS 細胞ストック事業¹⁰⁾ から提供を受けた iPS 細胞を材料細胞として使用する予定です。

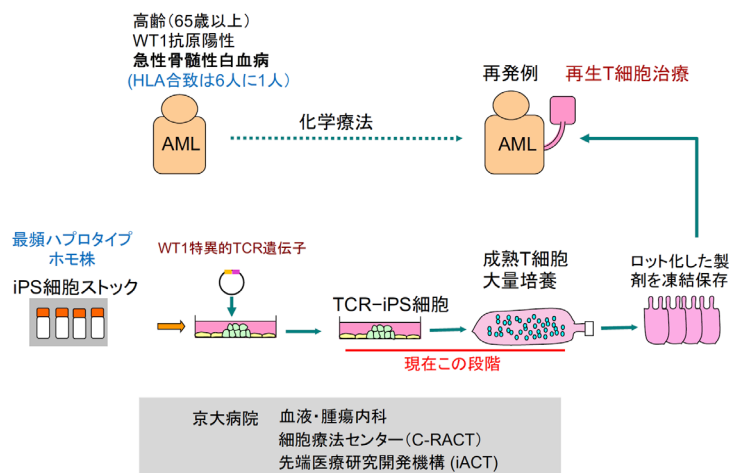


図 3 現在京大病院で進めている白血病を対象にした医師主導治験の概要

4) ウイルス感染症への応用：第三者のキラーT細胞が有効である証拠

ここからが本題です。河本研究室は、汎用性 T 細胞製剤を用いた治療法は、がんだけでなく、ウイルス感染症にも使えると考えてきました。CTL の本来の役割はウイルス感染細胞を殺傷する事ですから、むしろがんの場合よりも顕著な効果を期待できます。実際に、造血幹細胞移植後に起こる致死的なウイルス感染症⁶⁾ に対して「第三者の T 細胞を材料にして、体外でウイルス抗原特異的 T 細胞を増幅してから投与する」という方法¹¹⁾ で、有効性と安全性が示されています。

5) どうしてこれまでに世界でキラーT細胞製剤が開発されなかったのか？

2019 年末から、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) が世界中で猛威を奮いました。これに対して、予防薬としてワクチンが開発されました。また、治療薬として、抗ウイルス薬や抗体製剤が開発されました。しかし、T 細胞製剤は、開発されませんでした (図 4)。

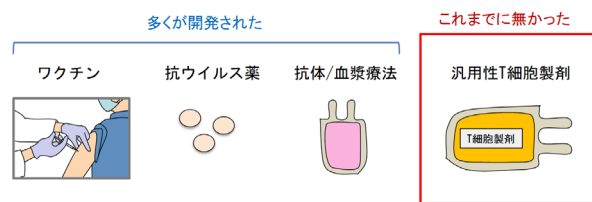


図4 新型コロナウイルス感染症に対するT細胞製剤はこれまでに開発されていない

どうしてT細胞製剤は開発されなかったのでしょうか。患者自身のT細胞に遺伝子を導入する治療法ががんに対して有効であるという話はすでに述べました(図2上図)。ただ、この方法だと投与するまでに数週間かかってしまうので、急性に進行する感染症に対しては、間に合わないのです(図5上段)。

では、先ほどの第三者の細胞を使う方法¹¹⁾は、どうでしょうか。この方法が使えるのは、患者が重度の免疫不全状態にあるからです。一方で、新型コロナウイルス感染症患者は、免疫がある程度低下しているケースはあるかもしれませんが、基本的には免疫能は正常です。従って、他人のT細胞を投与すると、すぐに拒絶されてしまいます。そのため、この方法も使えないのです(図5中段)。

そのような中で、私達の方法であれば、有効なT細胞製剤を作製することが可能です。拒絶されにくいように遺伝子を改変したES細胞に新型コロナ特異的TCR遺伝子を導入し、そのES細胞からキラーT細胞を再生します(図5下段)。

あらかじめ作って凍結保存しておけるので、患者に即座に投与できます。

ではどうして私達だけがこのような開発をできたのでしょうか。それは、これまでに開発してきた独自の技術に基づいているからと考えています。その技術の一つは「TCR遺伝子を多能性幹細胞に導入して材料となる細胞を作る」方法¹²⁾で、もう一つは、「多能性幹細胞から高品質なキラーT細胞を作る」方法¹³⁾です。これらの技術は、特許として、前者は日本・欧州・豪州、後者は日本・欧州・米国・豪州他で成立しています。

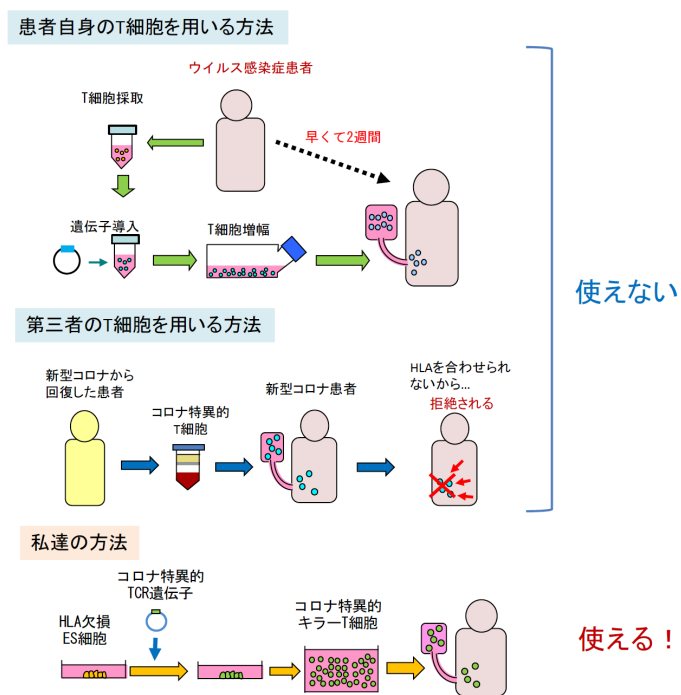


図5 新型コロナウイルス感染症に対するT細胞製剤の開発が難しい理由

なお、用いる ES 細胞は、拒絶されにくいように HLA を欠失させますが、拒絶を完全に防ぐには HLA を欠失させただけでは不十分で、数週間で拒絶されます。しかし、ウイルス感染症に対する勝負は一般に早く、移入した細胞が数週間生きていれば、それで十分だと考えています。

3. 研究手法と成果

1) 研究開発の経緯

河本研究室は、前述のように iPS 細胞由来キラー T 細胞製剤をもちいて血液がんを対象にした臨床試験に向けての開発を進めてきました。

日本では 2020 年から COVID-19 が席卷し始めました。河本研究室はいち早く再生 T 細胞の技術が使えると考え、2020 年 7 月から AMED の支援で開発研究を開始しました（2020 年度単年度、新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「新型コロナウイルス感染症（COVID-19）に対する汎用性 T 細胞療法の開発」研究代表者：河本宏）。引き続いて同年 8 月からは COVID-19 の臨床研究に強い藤田医科大学との共同研究を開始しました。同年 9 月からはリバーセル社による支援が始まりました。さらにこの共同研究には 2021 年から大阪大学微生物病研究所、2022 年から国立成育医療研究センターが加わりました。この共同研究により、ES 細胞を材料とした COVID-19 治療用 T 細胞製剤の作製に成功し、2024 年 7 月 19 日に、京都大学、藤田医科大学、大阪大学、国立成育医療センターの 4 者による共願という形で出願を完了しました。

2) 研究手法

2-1) 新型コロナウイルス特異的 TCR のクローニング

今回の特許出願に用いた新型コロナウイルス特異的 TCR 遺伝子のクローニングは、大阪大学微生物病研究所の山崎晶研究室と、藤田医科大学の河本研究室で行われました。ここでは藤田医科大学河本研の川瀬孝和准教授、美山貴彦講師らによって行われたクローニングについて概説します。

i) HLA タイピング

日本人に多いタイプの HLA に合う TCR をクローニングするために、まず新型コロナウイルスワクチン接種歴のある健常ボランティアドナーの HLA タイピングを行いました。その中で、日本人に多い HLA-A2402 あるいは HLA-A0201 を持っている人をドナーとしました。

ii) TCR のクローニング

それらのドナーから末梢血単核球を採取し、テトラマー¹⁴⁾ を用いてスパイクタンパク特異的な TCR を発現する T 細胞を分離しました。T 細胞をシングルセルレベルで精製した上で PCR で cDNA を増幅してクローニングしました。HLA-A2402 に対応する TCR を 3 種類、HLA-A0201 に対応する TCR を 2 種類、得ることができました。

2-2) T 細胞製剤の作製と細胞傷害活性の測定

大阪大学微生物病研究所および藤田医科大学でクローニングされた TCR を用いた T 細胞製剤の作製と、その細胞傷害活性の測定は、京大医研の河本研で行いました。

i) HLA を欠失させた ES 細胞の作製

材料として使う ES 細胞では、拒絶されにくいように、ゲノム編集法¹⁵⁾を用いて、ES 細胞株の HLA をノックアウト (KO) しました。クラス I を発現できなくするために B2M 遺伝子を、クラス II を発現できなくするために CIITA 遺伝子を KO しました。

ii) HLA-KO-ES 細胞から再生キラーT 細胞を作製

T 細胞に分化誘導させるためには、材料である ES 細胞に何らかの TCR を導入しておく必要があります。ここでは既知の TCR 遺伝子をレンチウイルスを用いて HLA-KO-ES 細胞に導入しました。この TCR 遺伝子はがん抗原である NY-ESO1 に特異的な TCR で、今回特にウイルス感染細胞を感知するのに役にたつ訳ではありません。こうして作製した ES 細胞から、キラーT 細胞を作製しました。

iii) 再生キラーT 細胞にコロナ特異的 TCR を発現させる

(2-1) でクローニングした TCR 遺伝子をレトロウイルスに組み込み、再生キラーT 細胞に導入しました (図 6、図 7)。従って、この T 細胞は NY-ESO1-TCR と新型コロナ TCR の 2 種類の TCR を出していますが、NY-ESO1-TCR は正常細胞には無害な TCR ですので、安全に使えます。なお、今回の実験では「再生 T 細胞にコロナ特異的 TCR 遺伝子を導入する」という方法をとったために、ES 細胞に既知の TCR 遺伝子を導入しましたが、今後の臨床試験に向けては新型コロナ特異的 TCR を直接 ES 細胞に導入する方法を取ろうと考えています。

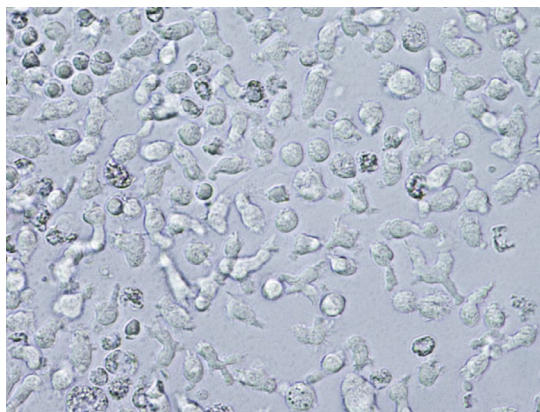
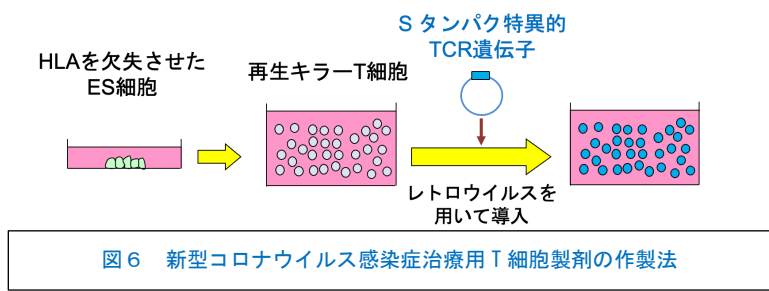


図 7 新型コロナウイルス感染症治療用 T 細胞

iv) 再生キラーT細胞による抗原特異的な細胞傷害活性の測定

(iv)で作製した再生キラーT細胞と、新型コロナウイルスのSタンパクを強制発現させた標的細胞（肺胞上皮細胞株）とを共培養し、10分毎に12時間後連続撮影しました。

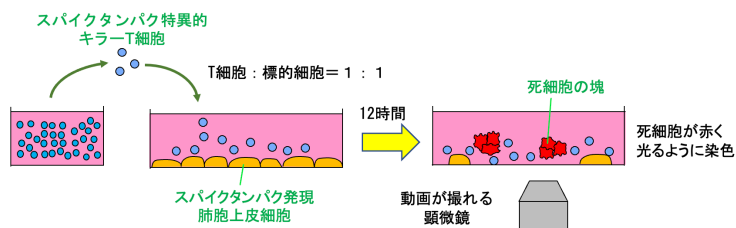
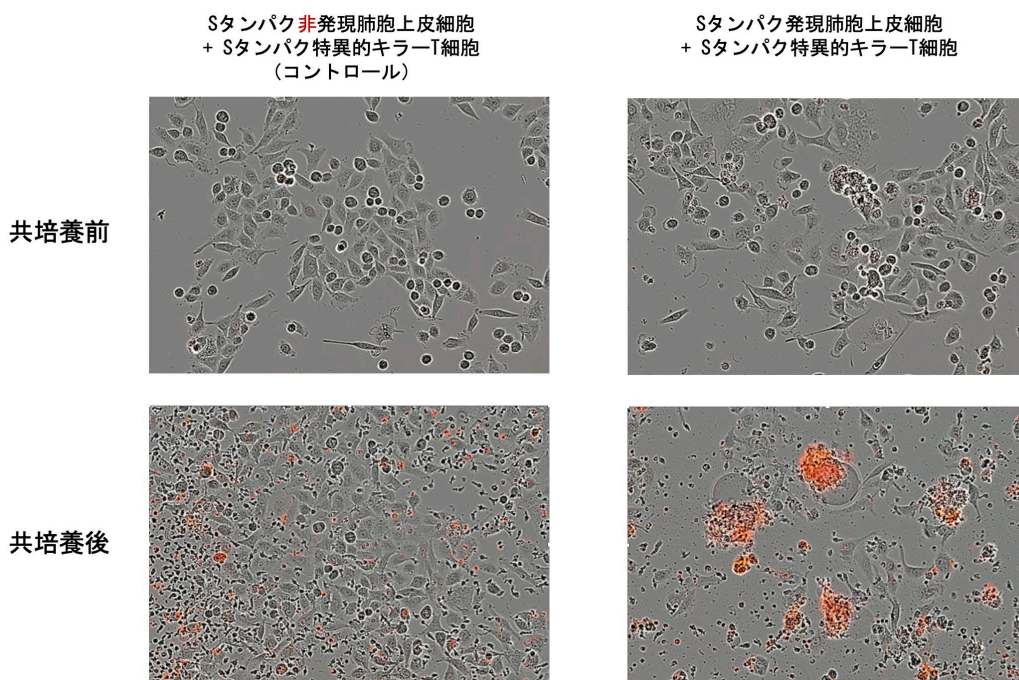


図8 新型コロナウイルス特異的T細胞製剤の作製法と細胞傷害活性の測定法

2) 結果

作製した再生キラーT細胞は、Sタンパクを発現した細胞のほとんどを殺傷しました(図9)。感染細胞を用いたテストではありませんが、新型コロナウイルス由来タンパクを発現した細胞を殺傷したということで、機能としては十分評価できたと考えています。なお、実際の感染細胞を用いて細胞傷害活性を測定する実験も進めております。



動画のリンク (コントロール実験) : https://www.infront.kyoto-u.ac.jp/wp-content/uploads/2024/07/pressrelease/h264_20240724_kawamoto_fig9-1.mp4

動画のリンク (本実験) : https://www.infront.kyoto-u.ac.jp/wp-content/uploads/2024/07/pressrelease/h264_20240724_kawamoto_fig9-2.mp4

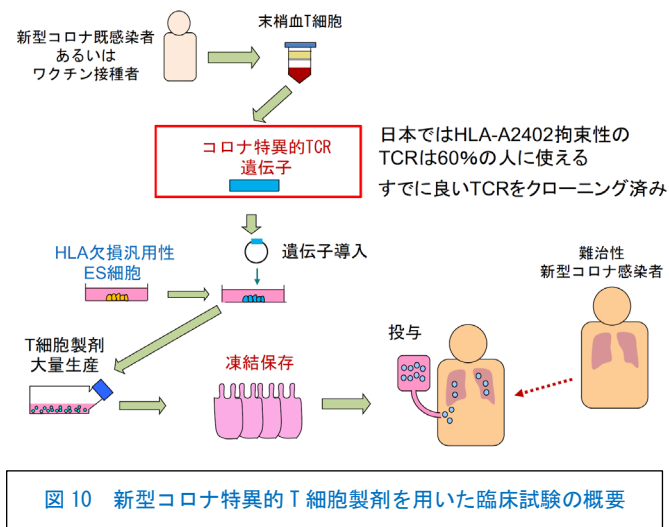
図9 作製したキラーT細胞によるウイルスタンパク発現肺胞上皮細胞の殺傷

死細胞の塊の脇に見られる丸い構造は「プレブ」と呼ばれ、細胞膜が風船のように膨れたもの。キラーT細胞は標的細胞に「アポトーシス」という形で細胞死を誘導する。プレブはアポトーシスによる細胞死に伴い出現する。

3. 波及効果・今後の予定

1) COVID-19 治療薬としての臨床試験に向けて

今回特許出願の中で示した T 細胞製剤は、研究用に作製したものであって、そのまま臨床試験で使えるわけではありません。出発点である ES 細胞は臨床応用にも使える細胞ですが、「HLA を欠損させる」「TCR 遺伝子を導入する」「T 細胞を作製する」などの工程を、臨床試験に使えるレベルで再度行う必要があります。従って、最初の臨床試験まで、3 年くらいは要すると考えています。



なお、臨床試験に向けては、コロナ特異的 TCR 遺伝子を直接 ES 細胞に導入し、その ES 細胞から作製した T 細胞を用いる予定です (図 10)。

有効性と安全性の検証に関しては、GMP グレードの細胞製剤施設で作製した細胞を用いて、あらためて行う必要があります。有効性についてはウイルス感染細胞を殺傷できるかという確認試験を行います。安全性については、(i) 投与した細胞が患者の細胞を攻撃してしまわないか、(ii) 投与した細胞ががん化しないか、という 2 点について検証する必要があります。(i) に関しては異なる HLA 型の細胞に反応しないということ、作製した T 細胞を様々な HLA 型の細胞と共培養することであらかじめテストをします。(ii) に関しては、作製した T 細胞を免疫不全マウスに輸注して、長期間の経過観察を行い、がん化が起こっていないかどうかを検証します。

こういった患者に使えるかですが、基本的には重症例、あるいは重症化のリスクが高いと判断された症例が対象になると考えています。最初の臨床試験は、免疫不全状態になった患者で起こる難治性の COVID-19 を対象にして、藤田医科大学の血液内科で施行する計画です。免疫不全状態以外のケースとしても、基礎疾患のある患者や高齢の患者の場合は、現在でも急性で致命的な経過を辿る例は多く、次のステージとしては、そのような例を対象に臨床試験を進めていければと考えています。

2) COVID-19 治療薬としての今後の開発の進め方

今回の細胞製剤は、HLA が欠失しているので、細胞そのものはどんな患者であっても即座に拒絶されるような事なく使用できます。一方で発現する TCR は特定の HLA 分子を持っている人にしか使えないという制約があります。そのような制約は、「拘束性」という言葉で表されます。今回細胞傷害活性を示した実験で使用した TCR は HLA-A2402 拘束性を持つものと、HLA-A0201 拘束性を持つものが含まれています。

胞療法の開発」(代表:川瀬孝和)として支援を受けています。COVID-19 治療薬の開発と並行してこの開発研究も進めています。

3-1) 骨髄移植後のウイルス再活性化の治療に用いる

- ・サイトメガロウイルス、EBウイルス
 - ・移植3500例のうち1000例以上で発症、300例以上が死亡(日本)
- 救える可能性

2022年度よりAMEDの新興再興感染症の支援(代表:川瀬孝和)

コロナと並行してこの事業も進めている

3-2) SARS, MERS, エボラ、鳥インフルなど既知のウイルスに対して T細胞製剤を備蓄しておく

3-3) 次のパンデミックの時はすぐ発動できるよう準備しておく

図 12 ウイルス感染症用 T 細胞製剤の応用例

3-2) 既知の凶悪なウイルスによるアウトブレイクに備える

例えば、SARS、MERS、鳥インフルエンザなどに対して、あらかじめ T 細胞製剤を作製して、凍結保全して備蓄しておくことができます。前項で述べたように、日本人の場合、頻度の高い順のベスト 10 の HLA に対応する TCR を発現する T 細胞製剤を 10 種類用意しておけば、90%以上の人をカバーできます。他の国でも、多くの場合、10 種類備蓄しておけば 90%以上をカバーできます。

3-3) 未知のウイルスによるパンデミックの時に使えるシステムにする

図 7 で示した方法は、既知のウイルスに対する治療戦略ですが、同じ方法を未知のウイルスによるアウトブレイクが生じた際に、迅速に「治療薬」として作製することも考えています。現在、未知のウイルスによるアウトブレイクが起こると、そのウイルスの遺伝子の解析は、即座に行われます。その情報に基づいて、標的となる抗原ペプチドを作製し、それに反応する T 細胞を健常人から誘導して TCR を同定すれば、G7 が主導する「100 日ミッション」⁶⁾にも合わせられると考えています。

4) ES 細胞を用いた再生医療の事業化としてのインパクト

本邦の再生医療業界ではもっぱら iPS 細胞が出発点の細胞として用いられていますが、本事業では、ES 細胞を用いました。これは、ES 細胞を用いた方がメリットがある¹⁶⁾と判断したからです。本事業をきっかけに、ES 細胞を用いた再生医療が活性化するのはと期待しています。

5) 医生物学研究所ならではの成果として

最後に、この成果は、医生物学研究所だからこと達成できたという事を強調しておきたいと思えます。当研究所は、これまでに、ウイルス学、再生医学、免疫学の研究で世界を牽引してきた実績があります。これらの3領域以外にも、組織工学、神経科学、細胞生物学などの領域にも強く、さらに最近では構造生物学、理論生物学なども取り入れ、学際的な研究を進めています。今回の研究成果は、免疫学-再生医学-ウイルス学の融合によってなされたものであり、医生物学研究所ならではの強みが発揮されたと言えます。

<用語解説>

1) COVID-19治療用T細胞製剤

キラーT細胞は、T細胞レセプター (TCR) という分子を使って、ウイルス感染細胞を見つけ出して殺傷します。藤田医科大学の河本研究室と大阪大学微生物病研究所の山崎晶研究室は、新型コロナウイルスに感染したことを感知するT細胞レセプターを複数個同定しました。一方で京都大学の河本研究室は、国立成育医療研究センターのES細胞を材料にして、まず拒絶されにくくするためにHLAを欠失させ、その後NY-ES01抗原特異的TCRを導入し、そのES細胞からキラーT細胞を作製しました。そのキラーT細胞に新型コロナウイルス感染を感知できるTCR遺伝子を導入しました。そのようにして作製したキラーT細胞は、新型コロナウイルス由来の成分を細胞内に出している標的細胞を殺傷することができました。このデータを用いて、COVID-19治療用T細胞製剤特許を本年7月に申請しました。京都大学、藤田医科大学、大阪大学、国立成育医療センターの4者による共同出願です。

2) ES細胞 (embryonic stem cell: 胚性幹細胞)

ES細胞は、個体発生の初期に形成される胚盤胞の中の内部細胞塊を取り出して培養した細胞で、ほとんど全ての組織に分化する能力を持っています。1981年にマーティン・エヴァンズ (ケンブリッジ大学) によってマウスのES細胞が作製され、1998年にジェームズ・トムソン (ウィスコンシン大学) によってヒトのES細胞が作製されました。それ以後は、再生医療の材料として広く用いられてきました。次項のiPS細胞は、ES細胞と同様の細胞を作る事を目指して作製されたものです。

ES細胞は、日本では現在2カ所、すなわち医生物学研究所と国立成育医療研究センターで樹立されています。

3) iPS細胞 (induced pluripotent stem cell: 人工多能性幹細胞)

iPS細胞は、分化した体の細胞を「初期化」する事によって作製される多能性幹細胞です。iPS細胞はほとんど全ての組織に分化する能力を持っています。すでに存在していたES細胞と同等の細胞を作ることを目指して、体細胞を初期化することにより、作製されました。2006年に山中伸弥教授

(京都大学)によって初めてマウスのiPS細胞の作製が報告され、2007年にはヒトのiPS細胞の作製も報告されました。それ以後、前項で述べたES細胞と共に、再生医療の材料として、また薬剤の毒性テスト、疾患モデル培養系などに広く用いられてきました。当初の発表では、初期化のためには、山中因子と呼ばれる4種類のタンパク質を発現させました。

4) リバーセル株式会社

リバーセルは、京都大学の河本宏教授が開発した汎用性即納型キラーT細胞製剤を用いた治療法の臨床応用を目指すベンチャー会社です。2019年10月に河本宏教授を創業者として、創立されました。

T細胞の一種であるキラーT細胞は、がん細胞やウイルス感染細胞を見つけ出して殺傷する能力を持っています。リバーセルは、主にこのキラーT細胞を扱っています。以下、単にT細胞と表します。リバーセルは、T細胞を薬剤として「誰にでも」「すぐに」「低価格で」届けるための事業を展開しています。T細胞製剤は、ES細胞やiPS細胞のような多能性幹細胞から再生することにより、量産が可能になります。この時の材料として、患者の免疫系に拒絶されない汎用性のiPS細胞を用いれば、誰にでも投与できるT細胞製剤を作製できます。そのようなT細胞をあらかじめ大量に作製して凍らしておくことにより、患者が必要とした時に解凍して投与することができます。また、大量生産することにより、コストを下げることも可能になります。

現在、京都大学の河本研究室は、この汎用性再生T細胞製剤を用いて、WT1抗原を標的にした急性骨髄性白血病の治療戦略を開発中であり、リバーセルはこの開発を支援しています。この戦略は、京都大学医学部附属病院の血液・腫瘍内科、細胞療法センター(C-RACT)、先端医療研究開発機構(iACT)との連携の下に、同病院での治験に向けて準備を進めています。

また、河本教授は藤田医科大学にも研究室を持っており、藤田医科大学の河本研究室は、この汎用性再生T細胞製剤を用いて、新型コロナウイルス感染症およびサイトメガロウイルス感染症の治療に用いる再生T細胞製剤の開発を進めています。リバーセルはこの開発も支援しています。

5) HLA

HLAは、白血球の血液型にあたります。体の細胞の表面に出ている分子です。一人の人が6種類のHLA(A, B, C, DP, DQ, DR)を持っており、それぞれが人類全体で見ても数百種類もあるので、その組み合わせ数は膨大になり、HLA型が他人と一致する確率は低くなります。投与された細胞と患者のHLAが一致しない場合、投与された細胞はすぐに患者の免疫系によって拒絶されます。しかし、HLAの発現を無くす処置を行うと、その細胞は免疫系に認識されにくくなり、拒絶されにくくなります。本事業では、COVID-19治療用T細胞製剤の材料細胞として、HLAの遺伝子を改変する事により欠失させたES細胞を用いる予定です。

ただし、HLAを欠失させるだけで、T細胞製剤を誰にでも使えるようになるかというと、そうではありません。投与する細胞自体は、誰に投与しても拒絶されにくくなりますが、用いるTCRは、HLAによる制約を受けます。例えば、初めに臨床試験に用いる予定のTCRは、HLA-A2402を持っている人にしか使えません。もともと、日本人の中ではHLA-A2402を持っている人は多く、約60%の人が持っています。つまり、単一の製剤だけで日本人の6割をカバーできることになります。

6) 造血幹細胞移植後に起こる致死的なウイルス感染症

白血病などの血液がんに対して、骨髄移植や臍帯血移植などが施行されますが、前処置によって患者は一旦重度の免疫不全状態になります。その際に、サイトメガロウイルスやEBウイルスのような多くの人に潜伏しているウイルスが再活性化して、致死的な感染症を起こすことがあります。

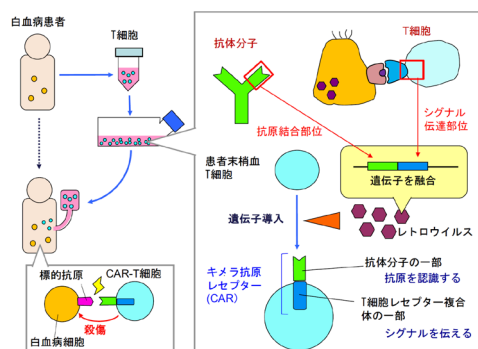
7) 「100日ミッション」

新たな感染症について、世界保健機関（WHO）が「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」を宣言してから100日以内に、迅速診断薬の承認、安全で有効なワクチンの承認、治療法の確立などの実用化を達成しようという国際的な目標。2021年6月にG7サミットで提唱されました。

8) TCR-T細胞療法

患者の末梢血中のT細胞を取り出して、がん抗原特異的なTCR遺伝子を導入し、患者に戻すという方法。T細胞がもともと持っていたTCRの発現を、siRNAなどの方法を用いて抑制し、導入したTCRだけが発現するような措置が取られる事もあります。

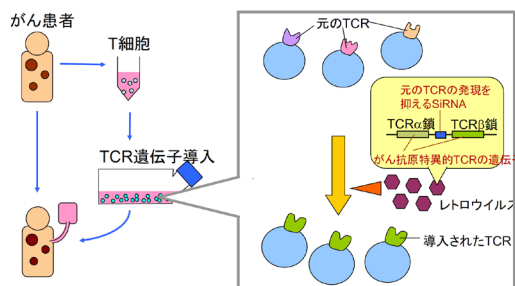
文献：Robbins PF, et al. J Clin Oncol. 2011; 29: 917-24.



9) CAR-T細胞療法

キメラ抗原レセプター (chimeric antigen receptor: CAR) は、抗体分子の先端部や TCR 遺伝子のシグナルを伝える部分などを結合して作られた人工的なレセプター。これをレトロウイルスなどのベクターに組み込み、患者から取り出した T 細胞に導入して、発現させます。すると、CAR を発現した T 細胞は、標的細胞を見つけて、攻撃できるようになります。

文献：Grupp SA, et al. N Engl J Med. 2013; 368: 1509-18.



10) iPS 細胞ストック事業

再生医療に使う材料の細胞として、免疫拒絶されにくいHLA型を有するiPS細胞を樹立して配布する事業。かつては京都大学iPS細胞研究所が運営していましたが、現在は公益財団法人京都大学iPS細胞研究財団が運営しています。

11) ウイルス感染症に対して第三者の T 細胞が有効であることを示すデータ

(6) で解説した造血幹細胞移植後に起こる致死的なウイルス感染症に対して、第三者（患者でも骨髄ドナーでもない第三者という意味）の末梢の T 細胞から体外でウイルス特異的 T 細胞を増幅して、投与するという方法です（下図）。多くの報告で奏効率 90-100%であることが示されています（表 1）。また、重大な有害事象もほとんど起こっていません。したがって、有効性と安全性が示されていると言えます。

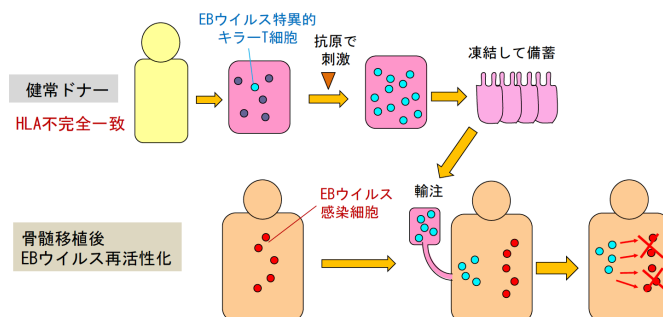


表 1 第三者のウイルス特異的 T 細胞による治療は著効を示す

参考文献	対象ウイルス	患者数	効果
1	全体	50	奏効率 74%
	EBV	9	2 CR, 4 PR, 3 NR
	CMV	23	9 CR, 7 PR, 2 NR, 4 NE
	AdV	18	7 CR, 7 PR, 3 NR, 1 NE
2	全体	54	奏効率 92%
	EBV	2	2 CR
	AdV	9	6 CR, 1 PR, 2 NR
	CMV	19	9 CR, 10 PR
	BKV	20	9 CR, 11 PR
	HHV-6	4	3 PR, 1 NE
3	全体	30	奏効率 93%
	CMV	28	22 CR, 4 PR, 1 NR
	EBV	1	1 NR
	AdV	1	1 CR
4	全体	30	奏効率 100%
	CMV	27	25 CR, 2 PR
	EBV	3	3 CR

BKV, BKウイルス; CMV, サイトメガロウイルス; AdV, アデノウイルス; HHV-6, ヒトヘルペス6型; EBV, EBウイルス; CR, complete responses; PR, partial responses; NR, no response; NE, not evaluable.

1. Blood. 2013;121(26):5113-23.
2. J Clin Oncol. 2017;35(31):3547-3557.
3. Blood Adv. 2017;1(24):2193-2205.
4. Blood Adv. 2022;6(17):4949-4966

12) 「TCR 遺伝子を多能性幹細胞に導入して材料となる細胞を作る」方法

i) 名称：抗原特異的 T 細胞受容体遺伝子を有する多能性幹細胞の製造方法

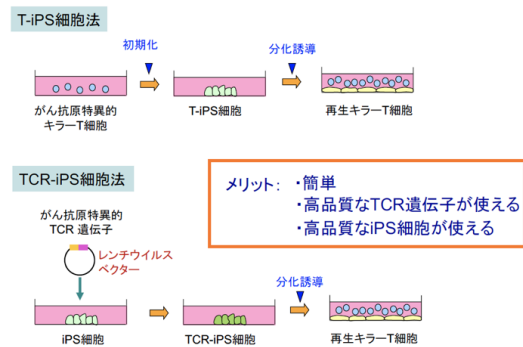
ii) 出願：PCT/JP2015/070623 WO 2016010154 A1

iii) 出願人：河本宏

iv) 発明者：河本宏、増田喬子、前田卓也、桂義元

v) 発明の解説

a) iPS 細胞に T 細胞レセプター (TCR) 遺伝子を導入して作製した細胞を材料にして T 細胞を作製するという発明。汎用性他家 T 細胞療法の基本特許になります。欧州、豪州、日本で成立。中国、米国は審査中。世界の各地域で成立したということは、同様の先行論文や先行特許が無い事、つまり特許の先見性、独創性を示しています。

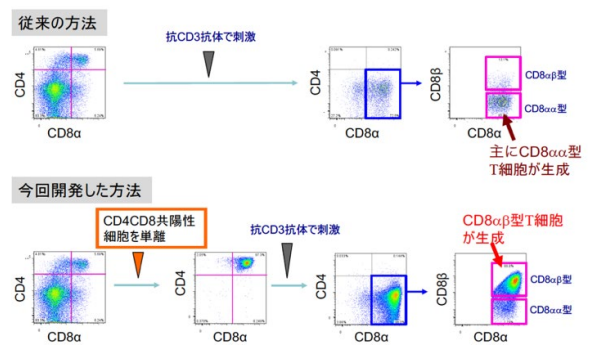


13) 「多能性幹細胞から高品質なキラーT 細胞を作る」方法

- i) 名称：抗原特異的 CD 8 陽性 T 細胞を誘導する方法
- ii) 出願：PCT/JP2017/015358 W02017179720 A1
- iii) 出願人：京都大学
- iv) 発明者：河本宏、増田喬子、前田卓也
- v) 発明の解説

iPS 細胞から高品質なキラーT 細胞を分化誘導する技術。iPS 細胞から T 細胞を分化誘導するとある時点で CD 4 陽性 CD 8 陽性 (ダブルポジティブ：

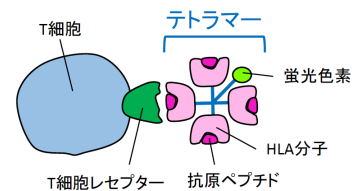
DP) という未成熟 T 細胞が生成します。従来法ではそのまま TCR に刺激を入れていましたが、これでは CD8 $\alpha\alpha$ 型という TCR 刺激が伝わりにくい細胞しかできませんでした。本発明では DP 細胞を他の細胞から単離してから刺激を加え方法を考案。こうすることにより CD8 $\alpha\beta$ 型の高品質なキラーT 細胞を作製することが可能になりました。米国、欧州、豪州、日本で成立しています。



そのまま TCR に刺激を入れていましたが、これでは CD8 $\alpha\alpha$ 型という TCR 刺激が伝わりにくい細胞しかできませんでした。本発明では DP 細胞を他の細胞から単離してから刺激を加え方法を考案。こうすることにより CD8 $\alpha\beta$ 型の高品質なキラーT 細胞を作製することが可能になりました。米国、欧州、豪州、日本で成立しています。

14) テトラマー

特定の T 細胞レセプター (TCR) に抗原特異的に結合できる試薬。TCR は HLA の上に提示されたペプチドを認識するので、ペプチドを乗せた HLA を可能型にして蛍光標識でラベルすると、特定の TCR を発現する T 細胞を染色する事ができる。ペプチドを乗せた HLA は通常 4 個が繋がられるので、テトラマーと呼ばれます。



15) ゲノム編集

特定の酵素をハサミのように使ってゲノムを構成する DNA 鎖を切り貼りする技術。標的の遺伝子の機能を失わせたり、標的部位に DNA 鎖を挿入したりすることができます。

16) ES細胞とiPS細胞：それぞれのメリット、生命倫理についての議論、展望

16-1) ES細胞の方にメリットがある点：特許による縛りがない

iPS細胞には、商業利用をしようとする、何らかの特許がかかります。例えば、iPS細胞ストック事業のiPS細胞を商業的に再生医療で使おうとすると、iPS細胞を作る際の一部の技術について特許料などを支払う必要があります。一方、ES細胞は、商業的な利用であっても、原則無償で使えます。これは事業会社にとって大きなメリットと言えます。また、できるだけ安価に届けられる事は、最終的には患者にもメリットになります。

16-2) iPS細胞の方にメリットがある点

iPS細胞の大きなメリットとして、自分の体の細胞から作製できることがあげられます。自分のiPS細胞から臓器や組織を再生した場合、移植しても拒絶されません。このような移植を「自家移植」といいます。ただし、個々のケースで品質を管理するとコストがかかりすぎるために、実際の臨床では主に他人のiPS細胞を使う方法が使われています。このような他人由来の臓器や組織を移植する方法を「他家移植」といいます。

再生医療の分野の中で「他家移植」を基本型とした戦略では、日本ではiPS細胞を用いるケースが、ES細胞に比べるとはるかに多くなっています。iPS細胞がよく使われている理由としては、一つには日本発の技術であるから国が力を入れたという点もあるかと思いますが、主には「拒絶されにくいHLA型のiPS細胞を使用できる」というメリットがあるからと考えられます。例えば、iPS細胞ストック事業¹⁰⁾が提供すし、多くのプロジェクトで利用されているHLA型のiPS細胞株は、日本人のおよそ6人に1人の割合で使えます。ES細胞の場合は、そのような株の作製は困難です。

また、iPS細胞だからこそできる研究として、「疾患特異的iPS細胞」と呼ばれる細胞を使った疾患研究があります。患者の細胞からiPS細胞を作製して、そのiPS細胞から臓器/組織を再生することにより、病態を再現しようという方法です。遺伝性疾患の病態解明や、効果のある薬剤の選択に使われます。

16-3) 生命倫理についての議論

iPS細胞は血液細胞などから作れるのに対し、ES細胞は、受精卵から少し発生が進んだ段階の「胚盤胞」という組織を材料に使います。このように胚発生の途中の細胞を使うことから「胎児に成長するはずの胚を壊している」という言説が流布しました。しかし、ES細胞の材料に使う受精卵は、不妊治療のために作製されたけど、最終的に不要になった「余剰胚」を使っています。また、この「余剰胚」にしても、頻々と材料にされる訳ではありません。一度ES細胞ができると、半永久的に使えますので、材料として使う余剰胚の数は、ごく限られています。

作製過程の問題とは別に、そもそも多能性幹細胞が有する生命倫理上の課題があります。それは、「一つの個体になりうる能力を有している」ということです。マウスを用いた研究の話ではありますが、iPS細胞でもES細胞でも、四倍体胚補完法という方法を用いれば、一つの個体を作る事

ができます。さらに、これもマウスを用いた研究の話ではありますが、すでに体外で多能性幹細胞から精子や卵子を作製できるようになっており、ヒト細胞を用いた発生学の基礎研究および生殖医療への応用については、今後の議論が必要な喫緊の課題になっています。他にも、例えばヒト多能性幹細胞から作製した大脳皮質のオルガノイド（ミニ臓器モデル）で脳波が発生したという報告があります。再生神経組織が意識を持つにはまだまだ遠いとは思われますが、この「意識」という課題についても、議論の継続が必要かと思われま

す。このように、生命倫理的な議論は、iPS細胞およびES細胞を用いる研究の両者に、同等に求められています。

16-4) 展望

ES細胞とiPS細胞は、それぞれのメリットについて紹介したように、使用目的によって、それぞれ一長一短があります。また、共に生命倫理に関する議論が必要であることも論じました。ES細胞とiPS細胞とは、再生医療の発展の中で、両輪として使われるようになると期待されます。