

動物由来の成分を含まないより安全な製法で iPS 細胞から大量の再生 T 細胞を培養する

がんの CAR-T 細胞療法は、T 細胞を使った免疫療法としてより幅広い疾患に対して利用できると期待され、開発が進んでいます。予め T 細胞を作製し保存しておくことも一つの方法です。

iPS 細胞技術をつかうことで、T 細胞を予め作製しておくことはできます。しかし、T 細胞への分化効率が低いこと、大量生産ができないことが課題となっていました。T 細胞への分化誘導の過程には、各段階でフィーダー細胞を使う必要がありました。臨床応用するにあたっては、ウイルス汚染がない安全性の確保された細胞を使う必要があり、非常に高額となる、あるいは入手できない場合もありました。

そこで京都大学 CiRA 増殖分化機構研究部門、T-CiRA プログラムの入口 翔一 研究員、安井 裕 元研究員、河合 洋平 研究員、金子 新 教授らの研究グループは、臨床応用に適した条件で、ヒト iPS 細胞から高効率かつ大規模に T 細胞を作製する方法の開発に取り組みました。

研究結果

1) T 細胞分化培養条件の最適化

iPS 細胞から T 細胞へと分化させる段階を 4 つの段階に分け、各段階でマウスの細胞を使うかわりに、タンパク質や化合物などを利用して、分化させる方法を開発しました。さらに、大量の T 細胞を安定して得るために、T 細胞が成熟する場所である胸腺の細胞で、重要な役割を果たすと考えられる因子 (SDF1 α 、p38 阻害剤) を培養液中に追加しました。すると、SDF1 α および p38 阻害剤を追加した時に最も多くの T 細胞を得ることができました。

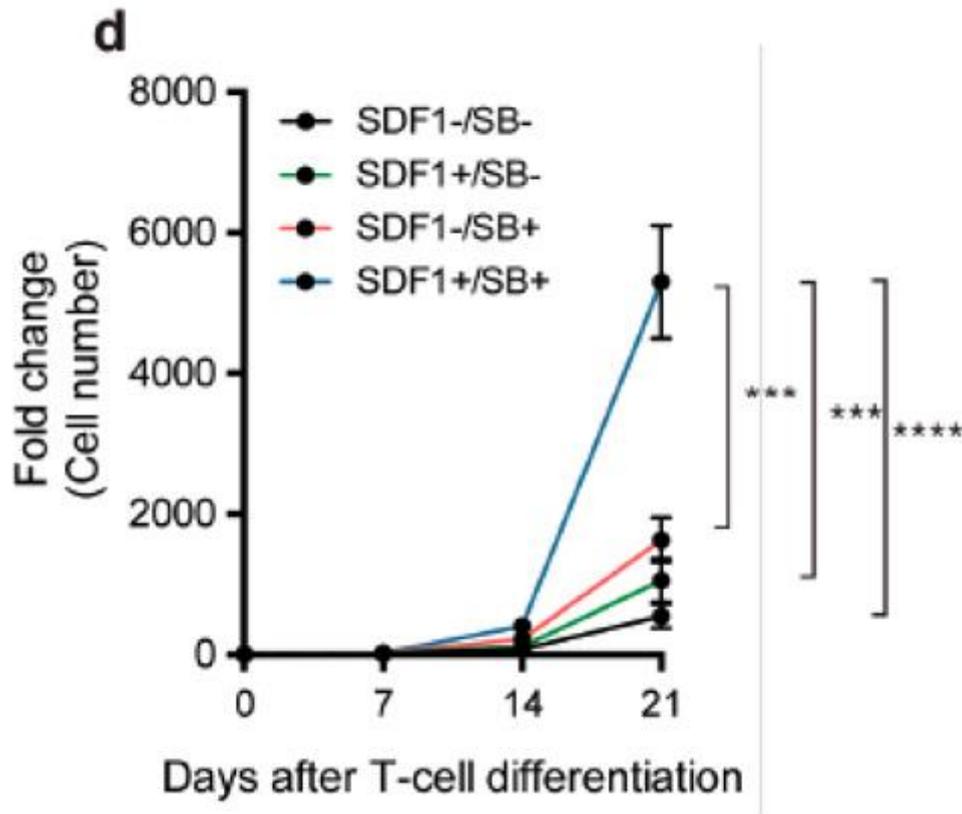


Fig. 1 T 細胞へと分化する細胞数

SDF1 α および p38 阻害剤 (SB203580) を添加した場合、分化誘導から 21 日目に細胞数が飛躍的に増加する。

2) 作製した T 細胞は正しく機能する

iPS 細胞に Wilms tumor 1 (WT1) を認識する T 細胞受容体の遺伝子を導入した細胞から、確立した方法を用いて T 細胞を作製しました。免疫不全マウスに WT1 発現細胞を投与し、作製した T 細胞 (WT1-iCD8 α β T) を移植したところ、移植しなかった場合 (HBSS) と比べて、がんの増大を抑制し、生存期間も長くなりました。つまり、がんを認識して攻撃する機能を持っていることが確認できました。

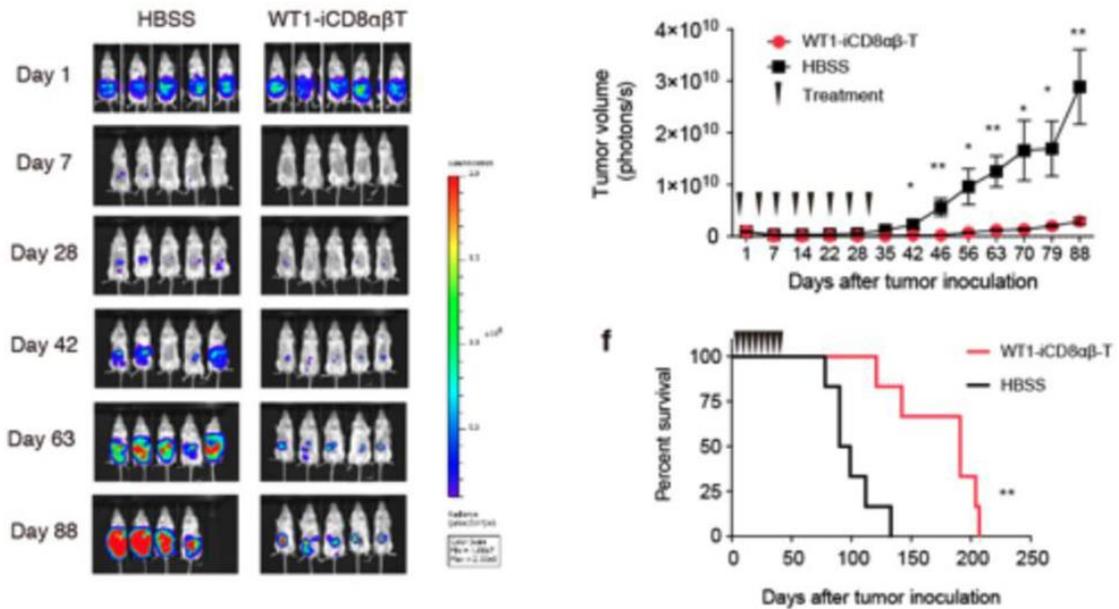


Fig. 2 T細胞の機能評価

左 図:マウス体内の腫瘍のサイズ

右上図:左図の腫瘍のサイズを計測したもの

右下図:移植後のマウスの生存曲線

3)再生 T 細胞は CART 細胞作製の原材料となりうる

今回確立した手法で作製した再生 T 細胞が CART 細胞作製の原材料となりうるか検証するため、再生 T 細胞に CAR-T 療法で使用されている CD19 タンパク質を認識するキメラ抗原受容体を遺伝子導入して、iCART 細胞を作製し、その抗腫瘍効果を評価しました。急性リンパ球性白血病細胞株を予め移植した免疫不全マウスに iCART 細胞を投与したところ、iCART 細胞を投与した個体は顕著な延命効果を認めました。本手法で作製した再生 T 細胞は CAR-T 細胞の作製する際の原材料にもなりうる事が確認できました。

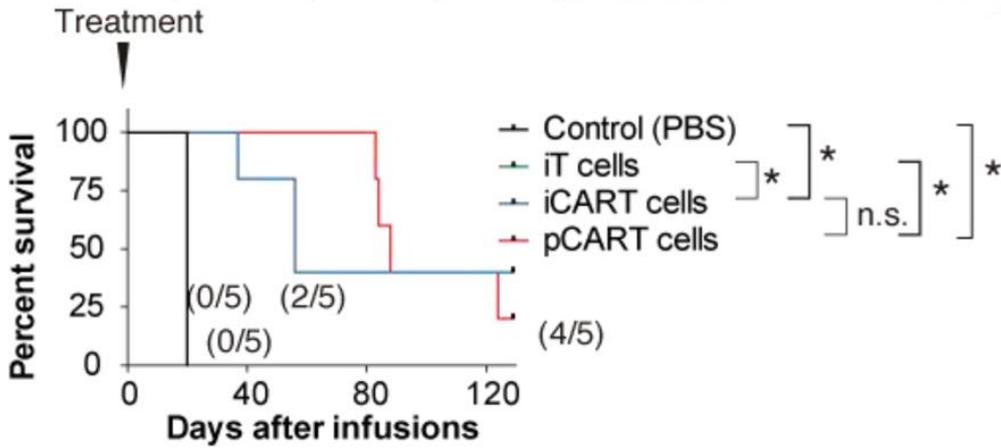
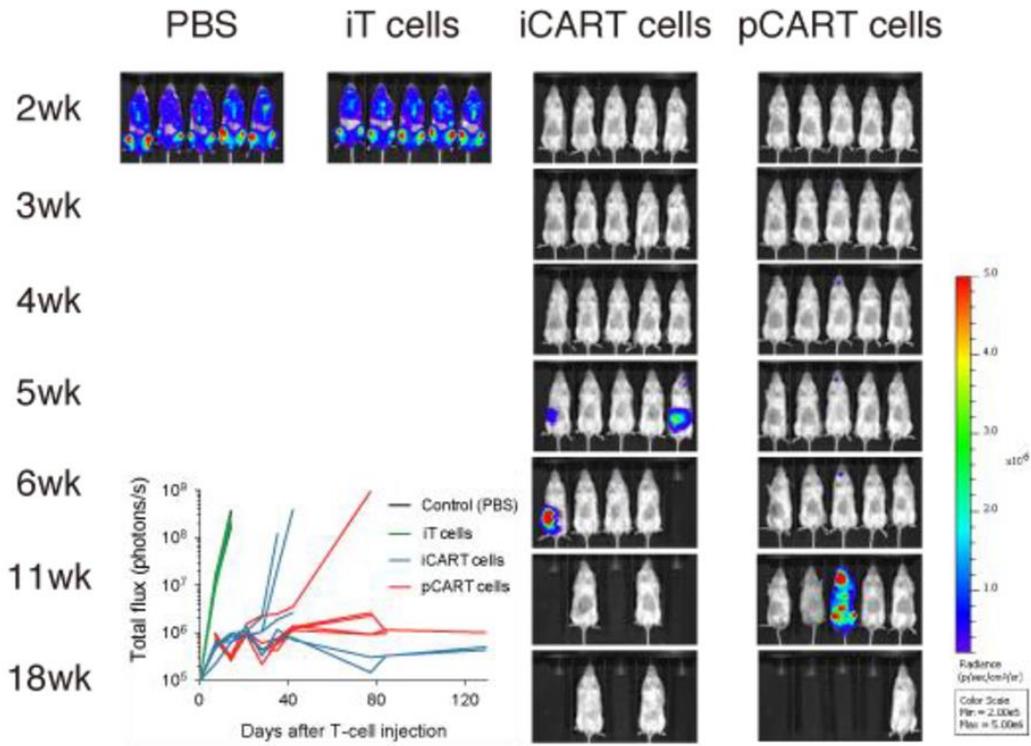


Fig. 3 iCART 細胞の抗腫瘍効果

上図:マウス体内の腫瘍サイズ

下図:移植後のマウスの生存曲線

まとめ

iPS 細胞を維持培養する段階から T 細胞を増殖させる段階まで、フィーダー細胞を使わない条件で実施したことで、T 細胞の大量培養をすることができるようになりました。さらに、SDF1 α と p38 阻害剤を T 細胞への分化段階で同時に添加したところ、T 細胞への分化が促進されました。こうして再生された T 細胞は、T 細胞として標的を認識して攻撃する機能を持っていることが確認できました。このシステムは医療用の多数の再生 T 細胞を生産することや、ヒトの T 細胞分化の研究にも利用できると考えられます。

論文情報

タイトル A clinically applicable and scalable method to regenerate T-cells from iPSCs for off-the-shelf T-cell immunotherapy

雑誌 Nature Communications

URL <https://www.nature.com/articles/s41467-020-20658-3>

日本語発表

<https://www.cira.kyoto-u.ac.jp/j/pressrelease/news/210118-190000.html>