

平成 29 年 6 月 21 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26461574

研究課題名(和文) 難治性急性骨髄性白血病に対するFLT3を標的とした遺伝子改変T細胞療法の開発

研究課題名(英文) Gene-modified T cell therapy for refractory acute myeloid leukemia harboring a FLT3/ITD mutation

研究代表者

中沢 洋三 (NAKAZAWA, Yozo)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：60397312

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：FLT3/ITD遺伝子変異を有する急性骨髄性白血病(AML)患者の生命予後は不良である。FLT3/ITD遺伝子変異AML細胞株(MV4-11)はGM-CSF受容体(GMR)を高発現する。そこで、GMRと特異的に結合するキメラ抗原受容体(CAR)を構築し、GMR CARを発現する遺伝子改変T細胞を樹立した。GMR CAR-T細胞とMV4-11細胞を1:5の比で混合し5日間培養したところ、GMR CAR-T細胞はMV4-11細胞の98%を死滅させた。GMR CAR-T療法はFLT3/ITD遺伝子変異陽性AMLの治療に有用である可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Patients with FLT3/ITD-mutated acute myeloid leukemia (AML) have a poor prognosis. A FLT3/ITD-mutated AML cell line, MV4-11, highly express GM-CSF receptors (GMR). We developed T cells engineered to express a chimeric antigen receptor (CAR) targeting the GMR. GMR CAR T cells eliminated MV4-11 cells up to 98% after a 5 days-coculture at a T cells: leukemia cells ratio of 1:5. Adoptive immunotherapy using GMR CAR T cells may a promising option for AML harboring a FLT3/ITD mutation.

研究分野：小児血液学

キーワード：キメラ抗原受容体 T細胞療法 がん免疫療法 急性骨髄性白血病

1. 研究開始当初の背景

FLT3/ITD 遺伝子変異を有する急性骨髄性白血病(AML)患者の生命予後は不良である。特に同種造血幹細胞移植後に再発をきたした患者に対しては治療法がない。

現在、FLT3 チロシンキナーゼ阻害剤(TKI)の開発が進められているが、TKI 治療中に FLT3/ITD 変異 AML 細胞は様々な TKI 耐性遺伝子変異を獲得するため、単剤での治療効果は限定的と考えられている。

再発・治療不応性急性リンパ性白血病(ALL)に対しては、CD19 抗原を標的とした人工 T 細胞受容体である、CD19 特異的キメラ抗原受容体(CAR)を用いる遺伝子改変 T 細胞療法(CAR-T 療法)が極めて有効であることが米国の臨床試験で示され、米国においては2017年中に薬事承認されることが見込まれている。

研究代表者らは、CAR-T 細胞が、TKI 耐性遺伝子変異を獲得した ALL 細胞に対しても強力な抗白血病効果を発揮することを報告している(Saito S, Nakazawa Y, et al. Cytotherapy, 2014)。

2. 研究の目的

本研究は、難治性の FLT3/ITD 遺伝子変異 AML に対する新規治療法として、AML 抗原を標的とする CAR-T 細胞の開発を目的とした。

3. 研究の方法

FLT3/ITD 遺伝子変異を有する AML 細胞株 MV4-11 は、その細胞表面上に GM-CSF 受容体(GMR、CD116)をほぼ 100%発現する。そこで、GM-CSF 受容体(GMR)と特異的且つ高親和性に結合する遺伝子配列をモチーフに、既報の CD19 トランスポゾンベクターを鋳型として、GMR を標的とする CAR トランスポゾンベクターを構築した(GMR CAR)。続いて、研究代表者が開発した非ウイルス遺伝子改変法および T 細胞培養法を用いて、GMR CAR 発現 T 細胞を大量培養した。

FLT3/ITD 遺伝子変異 AML に対する GMR CAR-T 細胞の抗白血病効果を評価するために、GMR CAR-T 細胞と MV4-11 細胞を 1:5、1:50 および 1:100 の比で混合し、サイトカイン無添加の条件で 5 日間培養した。

4. 研究成果

GMR CAR-T 細胞は、MV4-11 細胞を各々 98% (1:5)、70% (1:50)、60% (1:100) ときわめて高率に殺傷させた。GMR CAR を用いた CAR-T 療法は FLT3/ITD 遺伝子変異を有する難治性 AML に対して有効な治療となる可能性が示唆された。

本研究成果は、日本医療研究開発機構(AMED)の平成 29 年度革新的がん医療実用化研究事業に採択された(CD116 陽性骨髄系腫瘍を標的とした非ウイルス遺伝子改変キメラ抗原受容体 T 細胞の非臨床試験:研究代表者 中沢洋三)。今後は、AMED 事業として非臨床試験を行い、平成 32 年度に第 相医師主導治験を開始する予定である。

将来的には、急性骨髄性白血病の治療薬として GMR CAR-T 細胞の薬事承認を目指す。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 4 件)

Nakazawa Y, Matsuda K, Kurata T, Sueki A, Tanaka M, Sakashita K, Imai C, Wilson MH, Koike K.

Anti-proliferative effects of T cells expressing a ligand-based chimeric antigen receptor against CD116 on CD34(+) cells of juvenile myelomonocytic leukemia. J Hematol Oncol. 2016;9:27. (査読あり)

中沢洋三、鈴木 哲、西尾信博: 養子免疫療法における細胞プロセッシングのレギュレーション. 臨床血液 .57:2373-80, 2016(査読あり)

中沢洋三：小児血液腫瘍に対するキメラ抗原受容体を用いた遺伝子改変T細胞療法の開発。臨床血液，57:701-8，2016（査読あり）

中沢洋三．キメラ抗原受容体(CAR)遺伝子改変T細胞療法．がん分子標的治療．13:59-65，2015(査読なし)

〔学会発表〕(計8件)

Shigeru Nakano, Daisuke Morita, Kazuyuki Matsuda, Hideki Ohnota, Kazuhiro Hongo, Kenichi Koike, Yozo Nakazawa. Development of T cells redirected GM-CSF receptor with a ligand-based CAR for myeloid neoplasms. 第78回日本血液学会．平成28年10月13日 15日、パシフィコ横浜、横浜．

中沢洋三．血液腫瘍に対するCAR-T療法の現状と今後の展開．第8回血液疾患免疫療法学会学術集会．平成28年9月3日、北海道大学、札幌．

Shigeru Nakano, Daisuke Morita, Kazuyuki Matsuda, Hideki Ohnota, Kazuhiro Hongo, Kenichi Koike, Yozo Nakazawa. Ligand-based chimeric antigen receptor-modified T cells targeting CD116 for the treatment of acute myeloid leukemia. 第22回日本遺伝子細胞治療学会．平成28年7月28日 30日、虎ノ門ヒルズフォーラム、東京．

中沢洋三．難治性がんに対するキメラ抗原受容体を用いた遺伝子改変T細胞療法．第4回日本免疫・細胞治療学会学術集会．平成27年12月5日ベルサール九段、東京．

中沢洋三．Gene-modified T-Cell Therapy using Chimeric Antigen Receptors for Childhood Neoplasms．

第57回日本小児血液がん学会学術集会．平成27年11月27日 29日、甲府富士屋ホテル、甲府．

中沢洋三．Gene-modified T-cell therapy using chimeric antigen receptors．for childhood hematological malignancies．第77回日本血液学会学術集会．平成27年10月16日 18日、金沢．

中沢洋三．Cancer immunotherapy using chimeric antigen receptors: advances, issues, and future directions．第21回日本遺伝子治療学会学術集会．平成27年7月24日 26日、大阪国際会議場、大阪．

中沢洋三．キメラ抗原受容体(CAR)を用いた遺伝子改変T細胞療法．第18回日本がん免疫学会総会．平成26年7月30日 8月1日、ひめぎんホール、松山．

〔図書〕(計2件)

中沢洋三．CD19に対するキメラ抗原受容体発現T細胞療法の長期予後への効果．金倉 謙，木崎昌弘，鈴木律朗，神田善伸（編）．EBM 血液疾患の治療2017 - 2018．P530-535．中外医学社．東京、2016

中沢洋三．キメラ抗原受容体(CAR)遺伝子導入T細胞輸注療法．共著．次世代のがん治療薬・診断のための研究開発．P192-199．技術情報出版．東京、2016

〔産業財産権〕
出願状況(計1件)

名称：遺伝子改変細胞及びその作製方法
発明者：中沢洋三、松田和之、中野茂
権利者：信州大学、(株)キッセイ薬品工業
種類：特許
番号：特願2016-182293
出願年月日：2016年9月16日
国内外の別：国内

6 . 研究組織

(1)研究代表者

中沢 洋三 (NAKAZAWA, Yozo)

信州大学・学術研究院医学系・教授

研究者番号：60397312