臨床トピックス

キメラ抗原受容体遺伝子導入T細胞（CAR-T）療法

高 橋 義 行*

内 容 紹 介

がん治療において既存の治療と異なる機序として，がん免疫療法が期待を集めており，米国をはじめ世界中で臨床研究が進行中である。キメラ抗原受容体遺伝子導入T細胞（CAR-T）療法は，モノクローナル抗体の特異性とT細胞の高い傷害活性を併せもっている。化学療法抵抗性腫瘍にも治癒が得られる症例が報告され，成人領域のがんへの治療開発，治験も進んでおり，2019 年に日本でも初めて承認された CAR-T 製剤は，その高い治療効果と高額な薬価が注目されている。PiggyBac トランスポゾン法を用いた CAR-T 製剤は，名古屋大学発の特許出願技術が愛知県の企業にライセンスアウトされ，より安価な製剤として開発が進められている。

は じ め に

1960 年代後半に始まった骨髄移植は，当初その治療効果は移植前に行う超大量化学療法，あるいは放射線治療が白血病細胞やがん細胞を殺すためと考えられていた。ところが同種骨髄移植には，ドナーの免疫細胞が患者腫瘍細胞を殺す移植片対腫瘍（Graft versus Tumor：GVT）効果もあり，主にドナー由来T細胞が，腫瘍細胞を認識，傷害することで起こることが示された。筆者らは，GVT 効果を示した腫瘍患者においてドナー由来T細胞が認識する腫瘍特異抗原を同定し[1]，患者･ドナー間で HLA が部分的に異なる骨髄移植では，異なる HLA が腫瘍から欠失することで，腫瘍はその攻撃を逃れ再発するメカニズムであることなど，骨髄移植におけるがん免疫機序を報告してきた[2]。しかしながら骨髄移植の GVT 効果では，移植しない限りドナーの免疫細胞が患者の腫瘍を認識するかどうか分からないことや，同種抗原が腫瘍だけでなく正常組織にも発現する場合に，重篤な副作用につながる危険性が障壁となっていた。

「Cancer immunotherapy（がん免疫療法）」は化学療法，外科療法，放射線療法に続くがん治療の柱として確立された治療法であり，2018 年に京都大学の本庶佑先生がチェックポイント阻害薬開発への貢献によりノーベル医学生理学賞を受賞された。腫瘍特異的な抗原を標的としたがん免疫療法においても，明らかな治療効果や治癒が得られる症例が報告されるようになり，キメラ抗原受容体遺伝子導入T細胞（CAR-T）が 2017 年に米国食品医薬品局（FDA）に承認され，その後，欧州での承認に続いて日本でも 2019 年に承認されている。本稿では，CAR-T 療法の現状について解説する。

―Key words―
キメラ抗原受容体遺伝子導入T細胞，CAR-T，急性リンパ性白血病，がん免疫

* Yoshiyuki Takahashi：
名古屋大学大学院医学系研究科小児科学

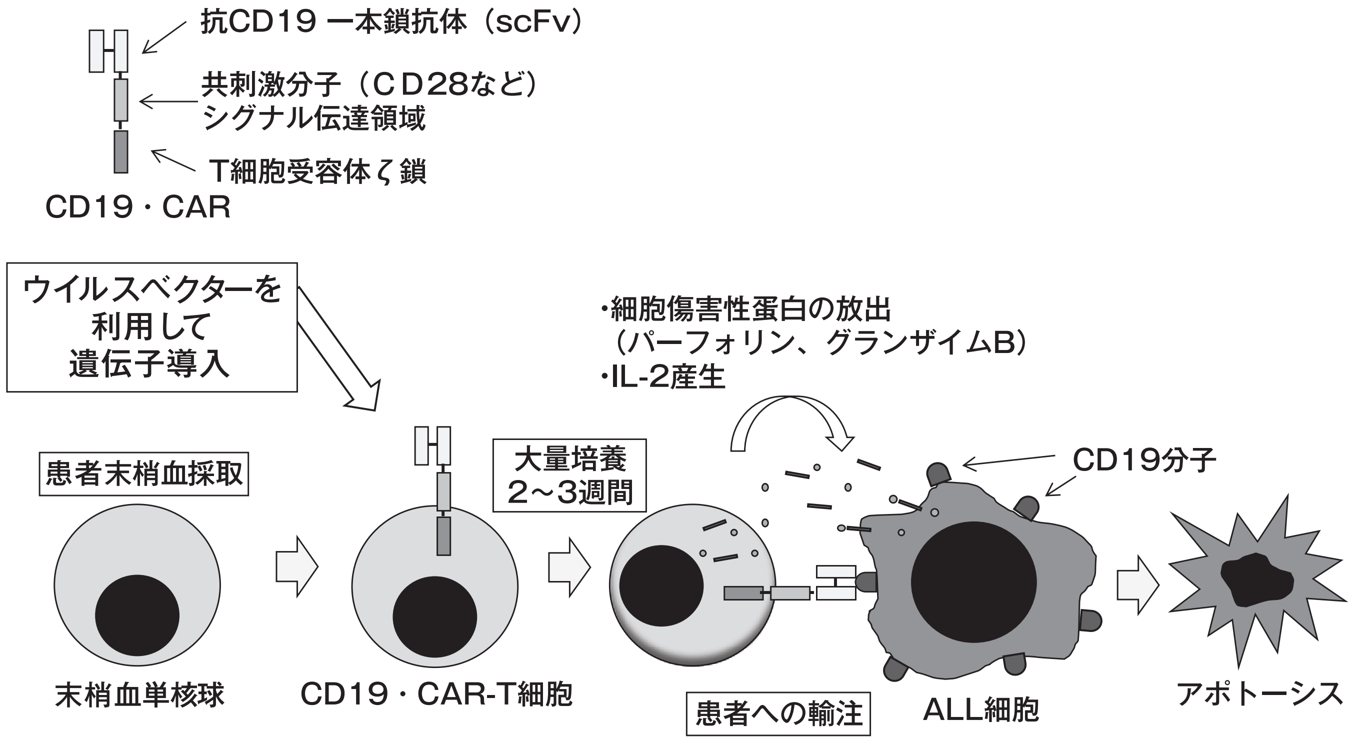

図１　CAR-T 療法の概要（CD19 を標的とした場合）
患者末梢血より採取したＴ細胞にCD19 に対するキメラ抗原受容体を遺伝子導入し，大量に培養し安全性試験後に患者へ輸注することで患者体内の急性リンパ性白血病（ALL）細胞は死滅する。

Ⅰ．キメラ抗原受容体遺伝子導入Ｔ細胞（CAR-T）療法

CAR-T 療法とは，遺伝子改変技術を用いて，抗体とＴ細胞を融合したがん免疫療法である。キメラ抗原受容体（Chimeric antigen receptor：CAR）は，がん細胞表面に発現する抗原分子に対してモノクローナル抗体の可変領域の軽鎖（VL）と重鎖（HL）を直列に結合させた単鎖抗体（scFV）を細胞外ドメインとして，Ｔ細胞受容体（TCR）ζ鎖を内部ドメインとしたキメラ遺伝子を導入する構造となっている。これによりCAR-T 細胞は，HLA 非拘束性に直接腫瘍細胞表面の抗原を認識し，活性化されたＴ細胞を傷害することができる（**図１**）。さらに，Ｔ細胞の活性化を増強するためにscFV とζ鎖の間に共刺激分子（CD28 や4-1BB）を組み込まれたものは，第２世代，第３世代CAR と呼ばれ，特に*in vivo* での細胞傷害活性と増殖能力が高い。現在臨床研究されているCAR は主に第２世代以降のものである[3]。がんに対するCAR-T 療法の臨床応用としては，当初小児がんを中心にその効果が示されてきた。

1．GD2・CAR-T 療法

米国ベイラー医科大学のグループが，小児神経芽腫細胞表面に高発現する糖脂質のひとつであるGD2 を標的としたキメラ抗原受容体（GD2・CAR）をEB ウイルス特異的細胞傷害性Ｔ細胞に遺伝子導入し，再発または化学療法抵抗性神経芽腫患者11 人に投与した。治療６カ月後の患者末梢血からもGD2・CAR-T 細胞は*in vitro* で培養増幅可能であり，神経芽腫細胞に対して傷害活性を有していた。治療前に評価可能な残存病変のあった８例のうち４例で腫瘍壊死または退縮が認められた[4]。一過性発熱以外に重大な有害事象を認めていない[4]。

2．CD19・CAR-T 療法

CD19 を発現するＢ細胞性造血器腫瘍に対しては，CD19・CAR-T 療法の有効性が相次いで報告されており[5〜9]，フィラデルフィア小児病院のグループは，30 例（小児25 例，成人５例）の化学療法抵抗性または同種移植後再発急性リンパ性白血病に対してCD19・CAR-T 細胞療法を行い，１サイクル後に27 例（90％）に完全寛解が得られ，22 例（73.3％）で微小残存腫瘍も陰性化したと報告している[6]。このコホートでは15 例（50％）が同種造血幹細胞移植を施行でき，６カ月無病生存率は67％であった[6]（**図２**）。驚くべきことに患者末梢血中のCD19・CAR 遺伝子は，輸注６カ月でも68％の患者で検出でき，長期寛解症例のうち，２年

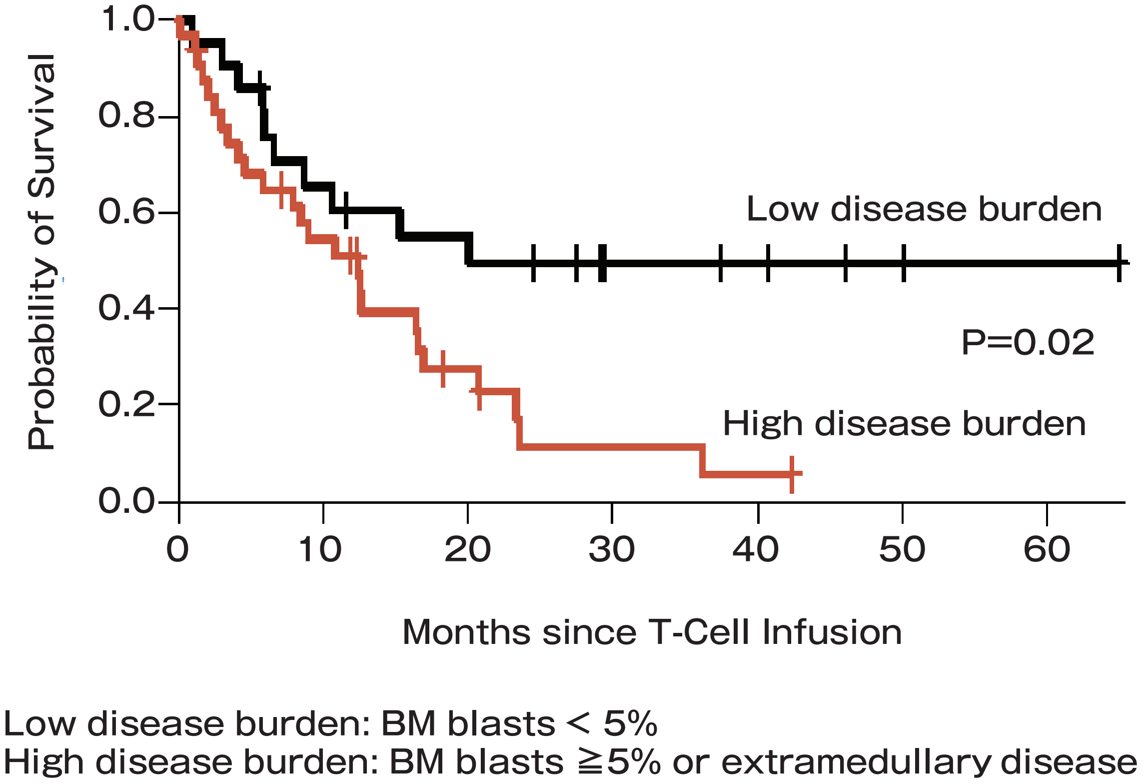

図２　成人 ALL に対する CD19・CAR-T 療法後長期経過
化学療法抵抗性または同種移植後再発 ALL に対して CD19・CAR-T 細胞輸注後の生存期間を示す。
（文献 10 より引用）

を超えて CD19・CAR 遺伝子が患者末梢血中に検出できた症例もみられた[6]。

主な副作用としては，サイトカイン放出症候群，脳症，B 細胞形成不全がみられ，特にサイトカイン放出症候群は重篤な場合があり注意が必要である。その多くは輸注 1 週間以内に起こる高サイトカイン血症に基づく発熱，capillary leak syndrome，低血圧，肺水腫，急性腎不全などで，8 例（27％）が重篤で集中治療室で人工呼吸管理，昇圧剤による血圧コントロールが必要であった[6]。サイトカイン放出症候群の重症例は，CD19・CAR-T 療法前に骨髄中白血病細胞が多い傾向があり，血中の IL-6 濃度が軽症例と比較して有意に高く，対策として IL-6 レセプター抗体（tocilizumab）が有効であることも分かってきた。

国際多施設共同治験としてノバルティスが治験を行い，2017 年に米国 FDA により世界初の CAR-T 療法製剤キムリア® が承認された。その後の欧州での承認に続き，2019 年には日本でも，25 歳以下の CD19 陽性急性リンパ性白血病（ALL）と成人びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫を対象として承認が得られている。ただし，その薬価は 1 回の投与が米国で約 5 千万円，英国で約 4 千万円，日本で 3,349 万円と高額であり，今後適応拡大や新たな CAR-T 製剤の承認が続けば，現在の保険医療制度の維持に影響が出るのではないかと懸念されている。

Ⅱ．CAR-T 療法後の長期経過

CD19・CAR-T は，化学療法抵抗性や骨髄移植後再発の ALL においても 80～90％の高い寛解率が得られている素晴らしい治療薬であるが，一方で CAR-T 療法のみで救命できるのか，その後に同種骨髄移植をすべきであるのかは議論となっている。米国スローンケタリングがんセンターから成人 ALL に対する CD19・CAR-T 療法後の長期予後について報告された。CAR-T 投与時に寛解状態（骨髄の白血病細胞が 5％未満）で投与した場合には半数近くが長期生存していたものの，非寛解（骨髄の白血病細胞が 5％以上）で CAR-T 治療を行った場合は，奏効した例でもその後に再発してしまい，ほぼ全例が亡くなることが示されている（**図２**）[10]。このことから，非寛解期に CAR-T 細胞を投与するのであれば 1 回の投与ではなく，複数回の投与か，移植へのブリッジングが必要かもしれない。また，寛解のうちにもっと早い段階で CAR-T 療法による治療ができれば救命率が高まることも示唆さ

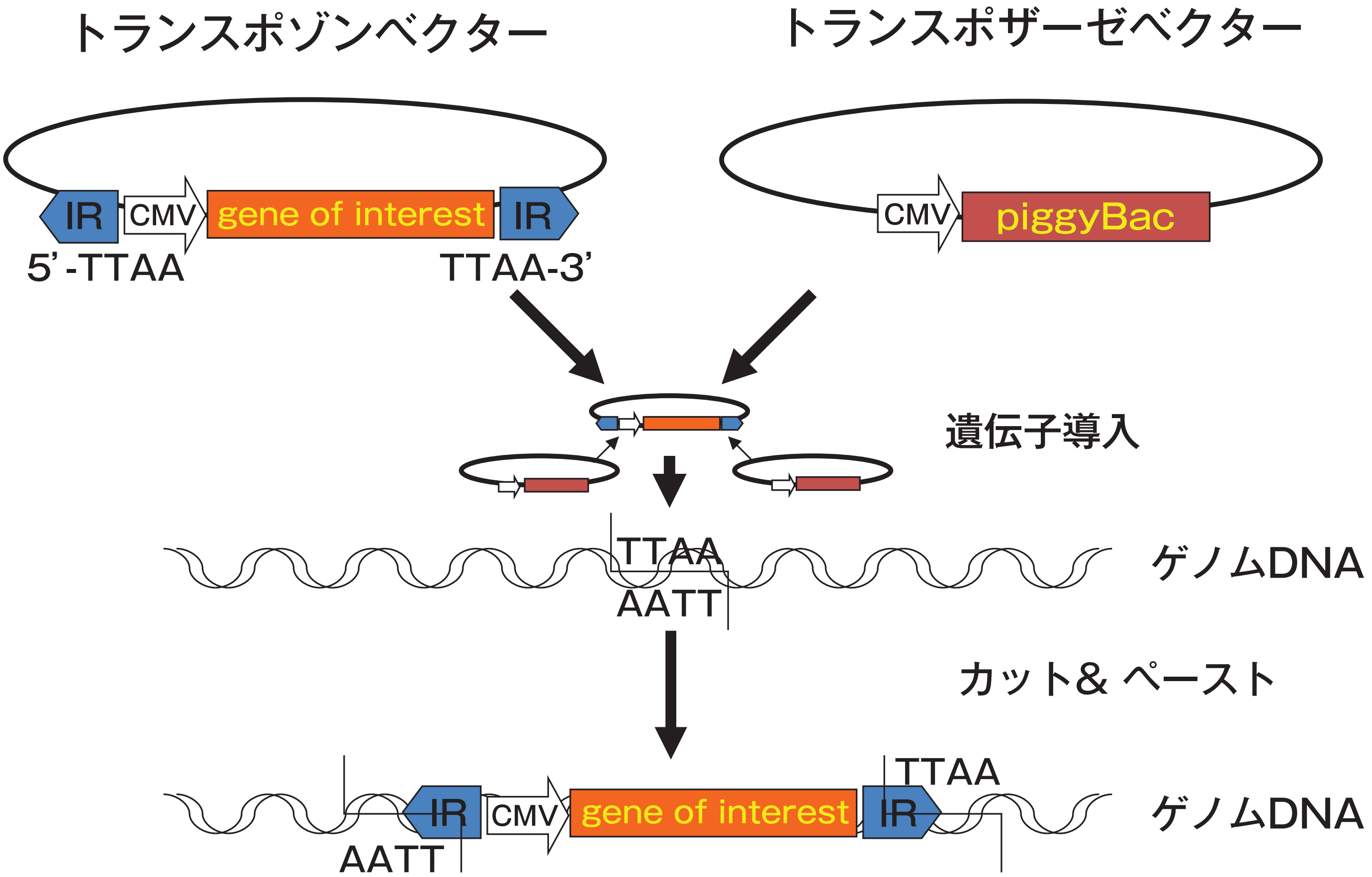

図3　PiggyBac トランスポゾン法遺伝子導入
PiggyBac トランスポゾン法は，目的遺伝子発現ベクター（トランスポゾンベクター）と遺伝子転移酵素ベクター（トランスポザーゼベクター）の2種類のDNA プラスミドを用いる非ウイルスベクター法であり，特異認識配列のペアで遺伝子転位を生じ，その遺伝子発現は安定かつ持続的である。

れる。CAR-T の複数回投与や，寛解のうちに早く投与するといった患者にとって理想的な治療戦略には，高額な薬価が障壁となってしまう。また，CAR-T 療法が骨髄移植へのブリッジングの位置づけとなる戦略もやはり医療費がより高額になってしまう。逆に，CAR-T 療法の治療費を下げることができれば，より理想的な治療戦略が可能となり，CAR-T 療法における問題点の解決策となり得る。

Ⅲ．非ウイルスベクター法を利用した CAR-T 療法の開発

再発・難治 ALL に対する CD19・CAR-T 療法は驚くべき奏効率である一方で，現在行われている CAR-T 療法では，患者自身の血液細胞を用いて個別につくらなければならないことに加えて，レトロウイルスベクターやレンチウイルスベクターといったウイルスベクターを用いるための専用施設が必要であることが，CAR-T 製剤の生産コストを押し上げている。

この問題を解決するため，筆者らは信州大学と共同して，ウイルスベクターを使わずに作成した CAR-T 療法を開発した。非ウイルスベクター遺伝子導入法である piggyBac トランスポゾン法は，遺伝子酵素（トランスポザーゼ）とその特異認識配列のペアで遺伝子転位を起こす方法であり（**図3**），これにより作成した CAR-T 細胞が *in vitro* で十分効果を示すことを報告している[11]。ベクターウイルスの精製やそのための専用施設が必要でないことから，製造コストがウイルスベクター法と比較してかなり抑えられるため，現在の高額な CAR-T 療法の薬価抑制の改善策として期待されている。

筆者らは次世代シークエンサー法による遺伝子挿入部位解析から，レトロウイルスベクター法よりも有意に癌原遺伝子内・近傍に導入されないことを報告しており[12]，安全性にも期待がかかる。開発当初 piggyBac トランスポゾン法の遺伝子導入効率は5％程度であったが，名古屋大学と信州大学が共同で出願中の特許技

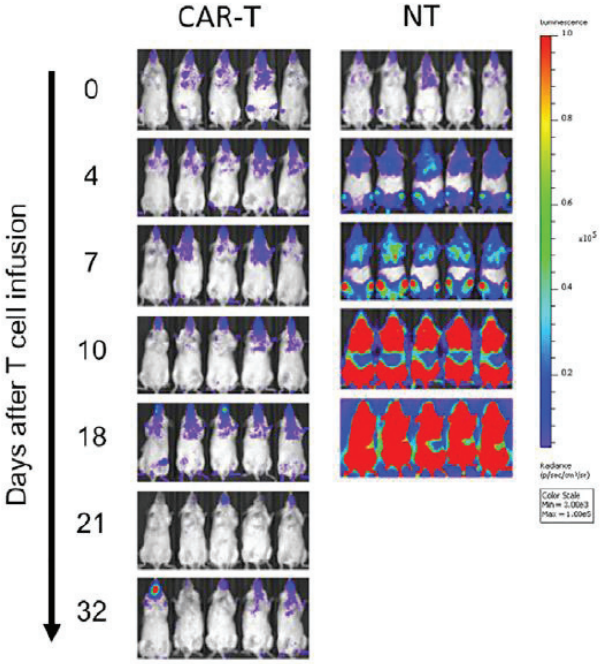

図 4　PiggyBac トランスポゾン法 CD19・CAR-T の効果
PiggyBac トランスポゾン法により製造した CD19・CAR-T 細胞は，免疫不全マウス体内で蛍光標識した CD19 陽性白血病細胞株に対して傷害活性を示し生存期間を延長した。
（文献 11 より引用）

術により 50〜70％に上昇し，もはやウイルスベクター法と遜色がなくなっている（**図 4**）[11]。

現在，名古屋大学病院では AMED 委託研究費および名古屋大学先端医療・臨床研究支援センターの支援を受けて，piggyBac トランスポゾン法を用いた CD19・CAR-T 療法の First-in-Human 臨床研究を実施中である（UMIN000030984）。2018 年には，名古屋大学・信州大学共同で特許出願した CAR-T 細胞の低コスト製造技術が，富士フィルムグループで愛知県蒲郡市に本社があるジャパン・ティッシュ・エンジニアリング（J-TEC）にライセンス契約されており，企業治験を準備中である。J-TEC は日本で複数の再生医療等製品の承認（自家培養皮膚，自家培養軟骨，自家培養角膜上皮）を得ている唯一の企業であり，これまで承認を得た再生医療等製品はいずれも患者から細胞を採取し，培養，加工した患者自家培養製剤である。CAR-T 製剤は，患者の末梢血より採取したリンパ球を培養，加工する自家製剤であるため，これまでの細胞製剤開発のノウハウを生かすことが可能で，piggyBac トランスポゾン法を用いた CD19・CAR-T 療法の安全性と有効性が確認できれば，同方法を用いたより安価な他の CAR-T 療法への応用も期待される。

お　わ　り　に

CAR-T 療法は，これまで助からなかった化学療法抵抗性 B 細胞性悪性腫瘍や骨髄移植後の再発例にも治癒が得られる治療法であり，日本でも 2019 年に承認されたばかりである。他のがん種への治療開発，治験も進んでおり，今後さらにがん免疫療法の進歩が期待されている。PiggyBac トランスポゾン法を用いた CAR-T 製剤は，名古屋大学発の特許出願技術が愛知県の企業にライセンスアウトされ，患者にも医療制度にも負担が少ない，より安価な製剤として開発が進められている。

文　献

1) Takahashi Y, et al：Regression of human kidney cancer following allogeneic stem cell transplantation is associated with recognition of an HERV-E antigen by T cells. J Clin Invest 2008；**118**：1099-1109.
2) Villalobos IB, et al：Relapse of leukemia with loss of mismatched HLA resulting from uniparental disomy after haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. Blood 2010；**115**：3158-3161.
3) Majzner RG, et al：Clinical lessons learned from the first leg of the CAR T cell journey. Nat Med 2019；**25**（9）：1341-1355.
4) Pule MA, et al：Virus-specific T cells engineered to coexpress tumor-specific receptors: persistence and antitumor activity in individuals with neuroblastoma. Nat Med 2008；**14**：1264-1270.
5) Brentjens RJ, et al：CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. Sci Transl Med 2013；**5**：177ra38.

6) Maude SL, et al：Chimeric antigen receptor T cells for sustained remissions in leukemia. N Engl J Med 2014；**371**：1507-1517.
7) Lee DW, et al：T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial. Lancet 2015；**385** (9967)：517-528.
8) Gardner RA, et al：Intent-to-treat leukemia remission by CD19 CAR T cells of defined formulation and dose in children and young adults. Blood 2017；**129**：3322-3331.
9) Kochenderfer JN, et al：Treating B-cell cancer with T cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors. Nat Rev Clin Oncol 2013；**10**：267-276.
10) Park JH, et al：Long-Term Follow-up of CD19 CAR Therapy in Acute Lymphoblastic Leukemia. N Engl J Med 2018；**378** (5)：449-459.
11) Morita D, et al：Enhanced Expression of Anti-CD19 Chimeric Antigen Receptor in piggyBac Transposon-Engineered T Cells. Mol Ther Methods Clin Dev 2018；**8**：131–140.
12) Hamada M, et al：Integration Mapping of piggyBac-Mediated CD19 Chimeric Antigen Receptor T Cells Analyzed by Novel Tagmentation-Assisted PCR. EBioMedicine 2018；**34**：18–26.