

66	人工ナノ粒子による新規がん免疫療法の開発	籠谷 勇紀
----	----------------------	-------

【目的】 がんに対する免疫療法の中でも、がん抗原を特異的に認識・攻撃できるキメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor) 導入 T 細胞を輸注する CAR-T 細胞療法は、難治がんを治癒に導き得る治療法として期待されている。しかし今のところ固形がんを含む多くの悪性腫瘍においてその治療効果は不十分であり、この原因として種々の免疫抑制環境による T 細胞機能の阻害が知られている。別の観点からの問題として、CAR-T 細胞を患者から個別に作製・準備するための極めて高い製造コストがあり、より規格化・一括化された製造方法の確立が現実的に必要である。CAR と類似した原理で細胞製剤を用いずに免疫応答を誘導する治療法として、抗 CD3 抗体とがん抗原に対する抗体を連結することにより、内在性の非特異的 T 細胞に抗腫瘍効果を誘導する二重特異性抗体 (Bispecific Tcell engager : BiTE) が開発されており、コスト・安定供給性という面から優れているが、抗腫瘍効果が弱い。本研究ではこれらの治療モダリティの短所を克服して、効果、汎用性に優れる治療薬の導出に向けた基盤技術開発を目的とした。

【方法】 我々は、がん抗原特異的な T 細胞の活性化に加えて、共刺激シグナルやサイトカインシグナルを一括して付与できる人工ナノ粒子を開発した。ナノ粒子表面に BiTE と同様の原理でがん細胞と T 細胞を引き寄せるためのがん抗原特異的な抗体と抗 CD3 抗体、共刺激分子、サイトカイン分子を発現させる目的で、これらを細胞表面に安定発現させた細胞株を準備して細胞膜小胞として単離した上で、PLGA などの粒子表面上に再構成した。この技術を背景として、固形がんにおける腫瘍微小環境を制御する目的で、免疫チェックポイント分子に対する阻害抗体、免疫抑制シグナル解除に寄与するサイトカイン分子を追加搭載したナノ粒子を作製した。同ナノ粒子が生体内の免疫細胞に対して有効な抗腫瘍効果を引き起こせることを示すために、固形がんマウスモデルを用いて検討を行った。一方、実用化に向けた検討では、ナノ粒子を作製する手順をより簡略化する目的で、(ナノ粒子コアを使用せずに) 細胞膜断片から作製する膜小胞のみを使用した場合の免疫応答効果を検証した。

【結果】 製法については、PLGA 上に細胞膜断片を被覆した場合と、膜小胞として得られたものを比較して、*in vitro* における機能では遜色ないことを確認した。また膜小胞の単離工程で、従来超遠心で分離していたところを磁気ビーズによる分離方法を試し、より簡便に分離を行えることを確認した。固形がんに対する治療効果の改善については、免疫チェックポイント分子 (PD1/PDL1, CTLA など) に対する阻害抗体、及び免疫微小環境に改変に寄与することが知られているサイトカイン分子を表面に搭載したナノ粒子を作製して、マウス固形腫瘍モデルに局所注射を行った。腫瘍微小環境における作用を観察する目的、本実験ではマウス T 細胞に対するナノ粒子を別途作製し、大腸癌細胞株 CT26 を皮下移植する腫瘍モデルを用いて効果検証を行った。これまでに作製した BiTE 分子と共刺激分子のみを含むナノ粒子においても無治療と比較して有意な治療効果が示されたが、微小環境改変シグナルを搭載することで、さらに高い治療効果を示した。さらに、腫瘍内に存在する免疫細胞の構成を調べると、CD8 陽性 T 細胞の増加、免疫抑制マクロファージの減少などが見られたことから、目的とする微小環境改変効果が確かに得られていることが確認された。

難治がんに対する多様な免疫応答を誘導するナノ粒子の開発

