

令和 4 年 5 月 24 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17599

研究課題名(和文) 小児悪性固形腫瘍に対するNK細胞を用いた国産型新規養子免疫治療の開発

研究課題名(英文) Development of a new adoptive immunotherapy using NK cells for pediatric malignant solid tumors

研究代表者

川久保 尚徳 (Kawakubo, Naonori)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：90711185

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：小児悪性固形腫瘍細胞株の中で、神経芽腫(IMR-32)、骨肉腫(HS-OS-1)、肝芽腫(huh6)、横紋筋肉腫(RH30)に対するAdoptcell-NKで活性化させたNK細胞の細胞障害活性をin vitroで確認した。3D培養下で活性化NK細胞が腫瘍のsphere内に侵入し腫瘍細胞を攻撃しsphereを破壊する現象を確認した。特にIMR-32とHS-OS-1に関してはsphere内への浸潤効率は高く臨床応用が期待される結果であった。また、in vivo実験において神経芽腫ゼノグラフトモデルマウスにおいて高活性NK細胞による抗腫瘍効果を確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高活性NK細胞を用いることで小児固形悪性腫瘍に対する細胞障害活性を広く確認することができた。この高活性NK細胞製剤は既に非臨床試験が終了しており、製剤化に成功しているため、今回の前臨床試験の結果を持って小児固形悪性腫瘍を対象としたNK細胞を用いた新規免疫治療の治験を開始する予定である。

研究成果の概要(英文)：Natural Killer(NK) cell activated by Adoptcell-NK showed remarkable cytotoxic activity against neuroblastoma (IMR-32), osteosarcoma (HS-OS-1), hepatoblastoma (huh6), rhabdomyosarcoma (RH30) cell line. We confirmed the phenomenon that activated NK cells invade the sphere of the tumor under 3D culture, attack the tumor cells, and destroy the sphere. In particular, IMR-32 and HS-OS-1 have high infiltration efficiency into the sphere and are expected to be clinically applied. In addition, in vivo experiments confirmed the antitumor effect of highly active NK cells in neuroblastoma xenograft model mice.

研究分野：小児外科学分野

キーワード：神経芽腫 高活性NK細胞 小児悪性固形腫瘍 肝芽腫 横紋筋肉腫

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

小児悪性固形腫瘍は化学療法・放射線治療の進歩により、成績が飛躍的に改善している。だが、転移例などのいわゆる高リスク群はいまだに予後不良であり、高リスク神経芽腫の治癒率は40%程度、骨肉腫肺転移は20%程度、高リスク横紋筋肉腫は20%程度である。手術・化学療法・放射線治療など、つらく長い治療を行っても腫瘍が進行し、毎年多くの患者が厳しい最期をむかえている。新規治療法の開発は喫緊の課題である。

新規治療法として本研究者が着目しているのは、自然免疫細胞のNatural Killer(NK)細胞である。小児悪性固形腫瘍に対するNK細胞治療の研究は神経芽腫領域を中心に進んでいる。神経芽腫表面に発現するジアシルガングリオシド(GD2)をtargetにした抗GD2抗体は、高リスク神経芽腫における維持療法として欧米で標準治療となっている。この抗GD2抗体がNK細胞をeffectorとしたADCC活性で腫瘍を攻撃していることが分かっており、神経芽腫が潜在的にNK細胞のtargetになることが知られている(図1 N Engl J Med 2010 363(14):1324-34)。

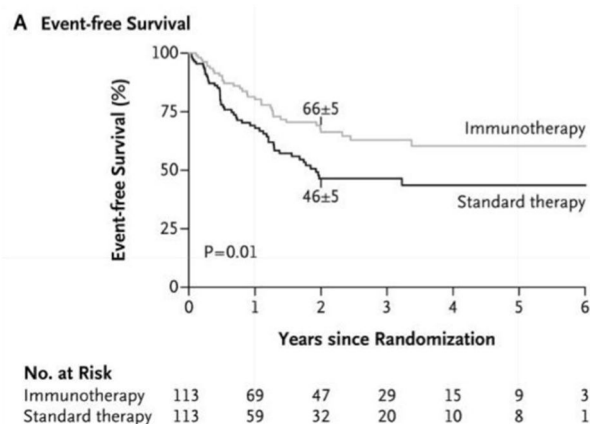


図1 高リスク神経芽腫に対して免疫治療群の予後が改善

また、小児のその他の癌腫においても、末梢血幹細胞移植を施行した患者において腫瘍細胞のHLA型と末梢血KIR型が不一致である「KIR/HLAミスマッチ」がある患者の予後が良好であると報告されており、これはKIR/HLAのミスマッチを利用したNK細胞の活性化が関与していると考えられており、小児悪性固形腫瘍におけるNK細胞、特にKIR/HLAミスマッチが期待できるallogenic移植の可能性は強く期待される状況である(Pediatr Blood Cancer 2009;53 120-124)。しかし、これまでに臨床応用可能なNK細胞の培養法が確立していなかったため、研究の進捗がなく、小児悪性固形腫瘍におけるNK細胞療法の開発は進まない状況であった。

### 2. 研究の目的

本研究者は小児悪性固形腫瘍の根絶を目標として、前臨床試験を計画している。

これまでにNK細胞を用いた小児悪性固形腫瘍に対する前臨床試験・少数での臨床試験の報告は認めるが、いずれもNK細胞単独での効果は限定的であり、活性化の手法に課題があったものとする。

申請者と研究協力施設である九州大学薬学研究院革新的バイオ医薬創生学講座（米満吉和教授）と九大発ベンチャーである GAIA-Biomedicine で開発された高活性 NK 細胞(Adoptcell<sup>R</sup>-NK) は簡便な手法で高活性かつ高容量の NK 細胞培養が可能 となっている。本研究者はこの高活性 NK 細胞を用いて小児悪性固形腫瘍における細胞障害活性を確認し、臨床試験への応用を目指すことを目的としてかき実験を計画した。

### 3 . 研究の方法

#### 1 ) in vitro 実験

高活性 NK 細胞をヒト神経芽腫細胞株(IMR-32)、ヒト骨肉腫細胞株(HS-OS-1)、ヒト繊維形成性小円形細胞細胞腫瘍株(JN-DSRCT-1)、ヒト肝芽腫細胞株(Huh-6)、ヒト横紋筋肉腫細胞株(Rh-30)を 3D 培養して得られた細胞塊(sphere)と共培養した。いずれの細胞株においても、NK 細胞を PKH で標識してその動態を確認した。

#### 2 ) in vivo 実験

マウス神経芽腫細胞株(Neuro-2A)を同系統マウスに皮下移植して作成した担がんマウスに上記と同様に作成した高活性 NK 細胞を投与（経静脈投与/皮下投与）し、その抗腫瘍効果を検討した。

### 4 . 研究成果

#### 1 ) in vitro 実験

高活性 NK 細胞は IMR-32、HS-OS-1、JN-DSRCT-1、Huh-6、Rh-30 いずれにおいても高い抗腫瘍効果を示し、赤く標識された NK 細胞が細胞塊に集積し破壊することが確認できた。

特にこの抗腫瘍効果は IL-2 併存下で増強されることが判明し、実臨床でも IL-2 併用による相乗効果が期待できるものと考えられた。

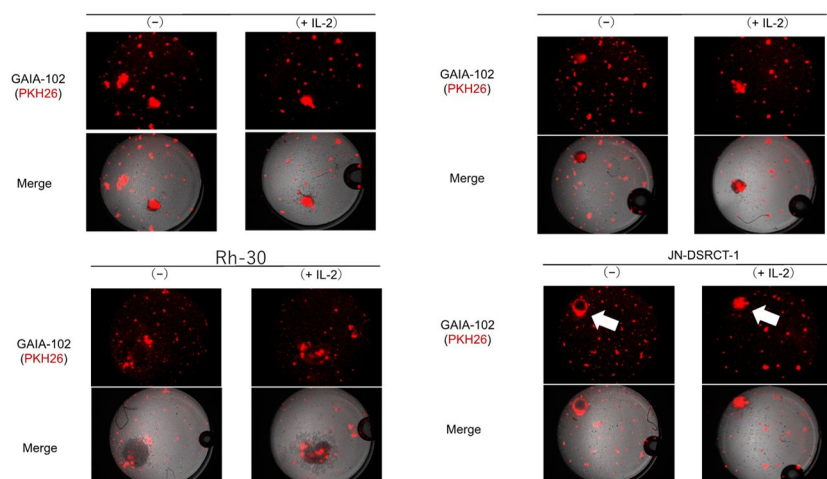


図2 in vitro 実験のまとめ

## 2) in vivo 実験

上記で述べた実験系で、Control 群と比較して、腫瘍内投与群・経静脈投与群いずれも有意に腫瘍体積の減少を確認した。また、腫瘍内投与群と経静脈投与群を比較した場合、腫瘍内投与群の方が高い抗腫瘍効果を示す傾向にあった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 川久保尚徳
2. 発表標題 A new class NK cells that can eliminate neuroblastoma
3. 学会等名 第62回日本小児血液がん学会学術集会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川久保尚徳
2. 発表標題 NK様CD3陰性細胞（GAIA-102）を用いた小児悪性固形腫瘍に対する革新的養子免疫治療の開発
3. 学会等名 第58回日本小児外科学会学術集会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	原田 結  (Harada Yui)	九州大学・薬学研究院革新的バイオ医薬創生学講座・准教授  (17102)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------