

○成富洋一、佐藤優香、後藤久美子、平塚大士、正瑠美子、  
小野里恵、西垣扶佐子、木村博信、田村康一

株式会社ヘリオス・神戸研究所

## 目的

現在、我々は難治性固形腫瘍の治療を目的として、*NKG2D*, *IL-15*, *CD16*, *CCL19*, *CCR2B*遺伝子を導入したiPSC由来NK細胞(HLCN061)を開発している。今回、HLCN061の体内動態特性と抗腫瘍効果について検討した。

## 実験方法

【実験動物】 NOD. *Cg-Prkdc<sup>scid</sup>Il2rg<sup>tm1Sug</sup>/ShiJic* (NOG) マウスを用いた。

【体内動態の評価】 iPSC由来NK細胞(iNK)、*IL-15*遺伝子のみ導入したiNK(IL-15-iNK)およびHLCN061を $1.0 \times 10^6$ または $5.0 \times 10^6$  cells/mouse、それぞれNOGマウスに単回静脈内投与(iv)した。投与後採取した血液、臓器からDNAを抽出、得られたDNAからヒト特異的なAlu配列によるqPCRを用いて血液・臓器中濃度を測定した。

【抗腫瘍効果の評価】 Luciferase遺伝子を導入したヒト肺がん細胞株H1975-Lucを $3.0 \times 10^5$  cells/mouse ivし肺同所生着モデルを作製した。H1975-Luc移植後7日目からiNK、IL-15-iNKおよびHLCN061を $1.0 \times 10^7$  cells/mouse、iv 3回隔日投与した。Luciferinを3 mg/mouse腹腔内投与後、in vivo imaging system (IVIS) で発光輝度を測定することにより抗腫瘍効果を評価した。

## 結果

### (1) iNK、IL-15-iNK、HLCN061の体内動態

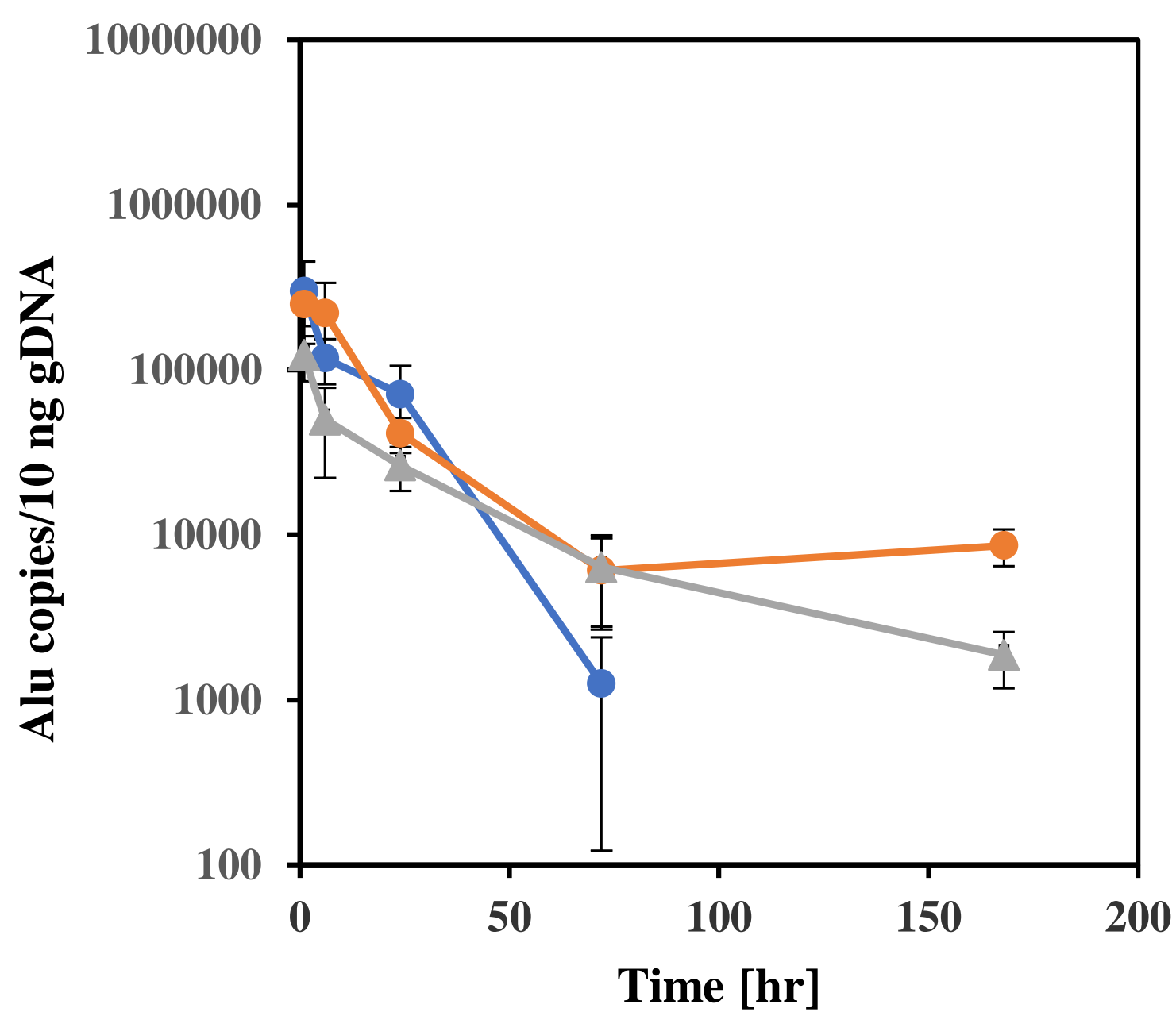


Table 1 NOGマウスにおけるiNK、IL-15-iNK、HLCN061の血中濃度半減期

	$t_{1/2\beta}$ (hr)
iNK	9.63
IL-15-iNK	77.0
HLCN061	38.5

Fig. 1 NOGマウスにおけるiNK、IL-15-iNK、HLCN061血中濃度推移

Mouse : female Dose:  $1.0 \times 10^6$  cells/mouse  
Mean  $\pm$  SD (n=3 or 5) ● : iNK, ● : IL-15-iNK, ▲ : HLCN061  
LLOQ: 1000copies

### (3) iNK、IL-15-iNK、HLCN061の抗腫瘍効果

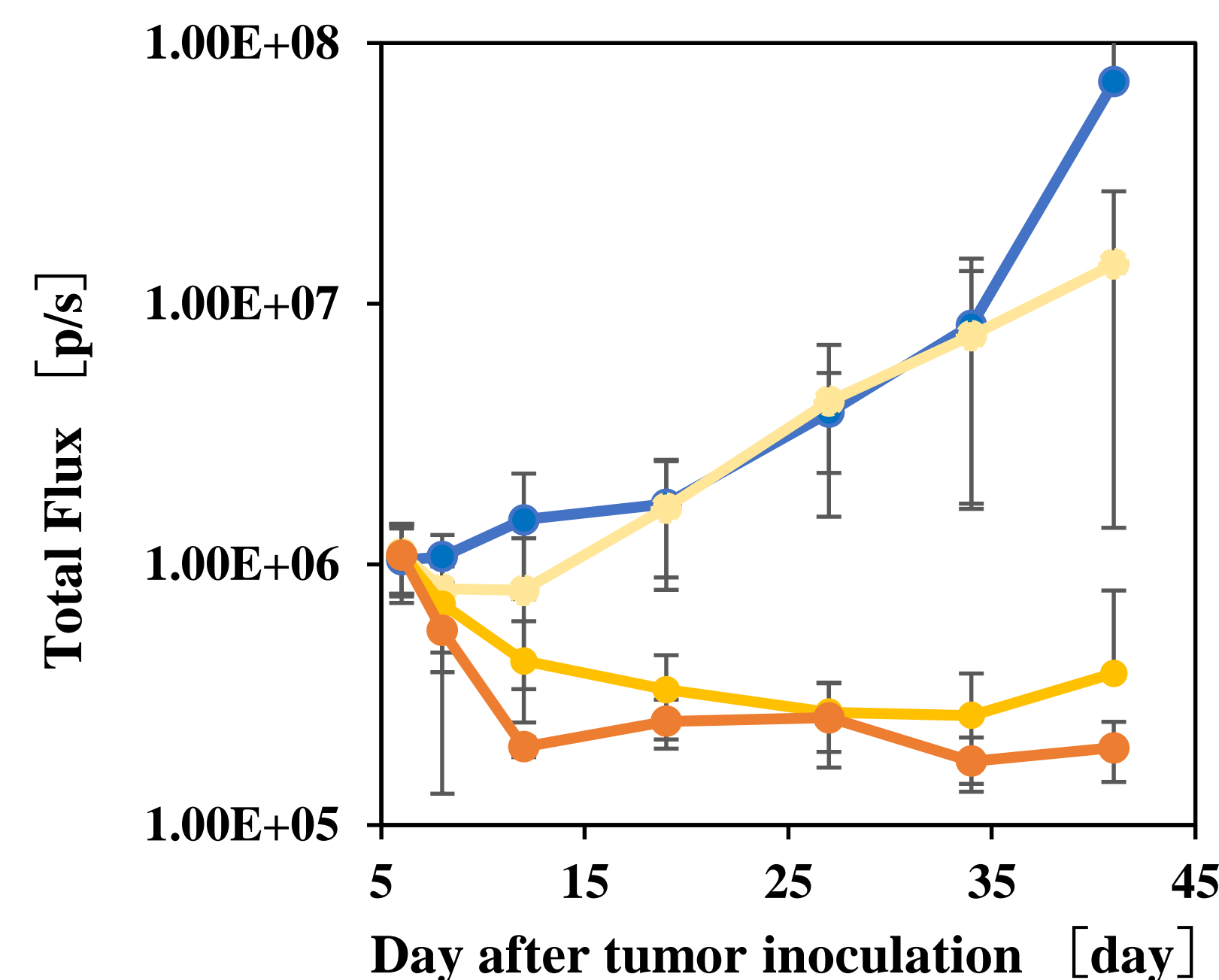


Fig. 4 H1975肺同所生着モデルにおけるiNK、IL-15-iNK、HLCN061の抗腫瘍効果

Mouse : female Dose:  $1.0 \times 10^7$  cells/mouse at day 7, 9 and 11  
Mean  $\pm$  SD (n=6) ● : control, ● : iNK, ● : IL-15-iNK, ● : HLCN061

### (2) HLCN061の生体内分布

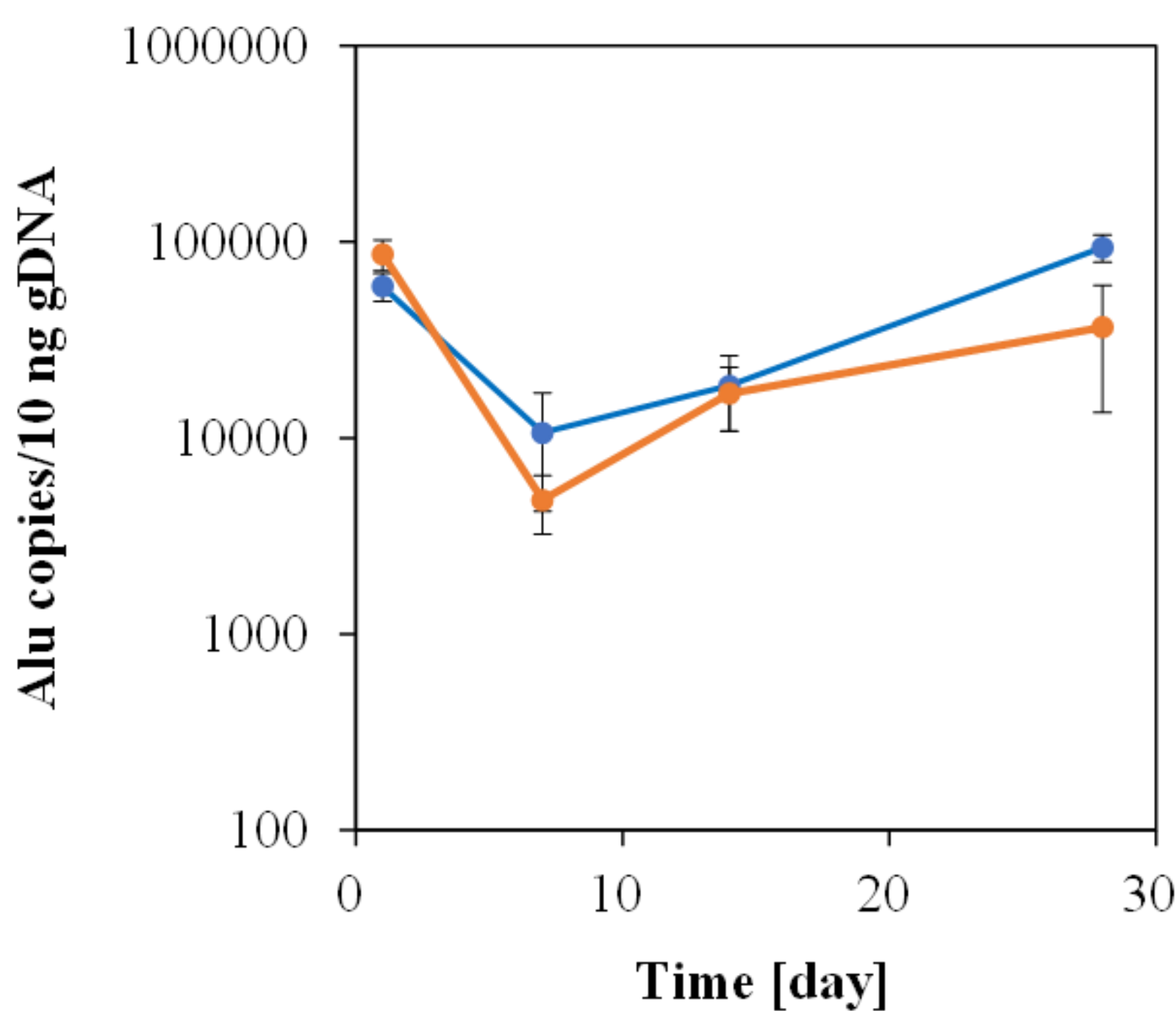


Fig. 2 NOGマウスにおけるHLCN061血中濃度推移

Dose:  $5.0 \times 10^6$  cells/mouse  
Mean  $\pm$  SD (n=3)  
● : Male, ● : Female  
LLOQ: 2000copies

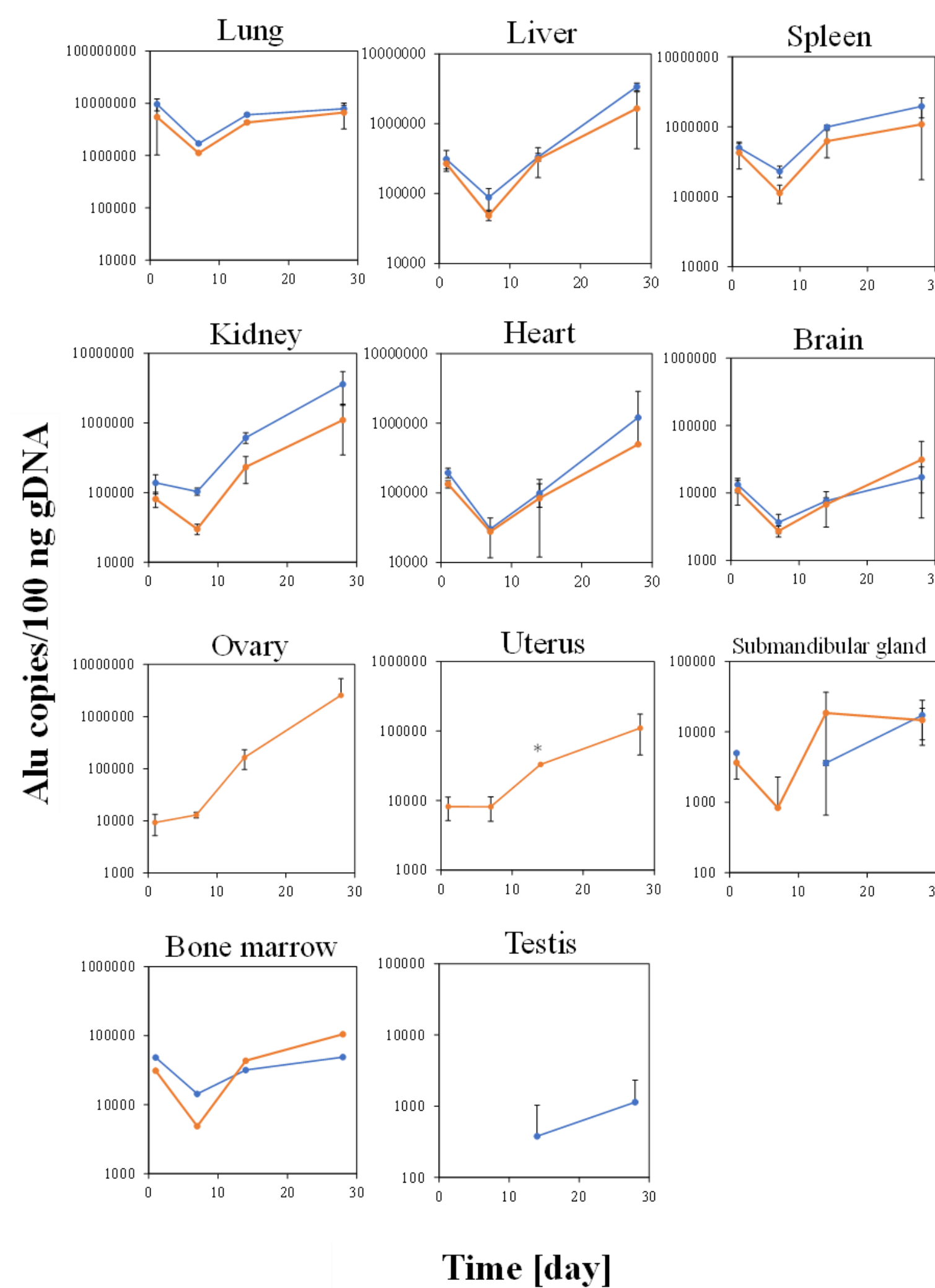


Fig. 3 NOGマウスにおけるHLCN061臓器中濃度推移

Dose:  $5.0 \times 10^6$  cells/mouse Mean  $\pm$  SD (n=3)  
Bone marrow (pooled) \*n=2 ● : Male, ● : Female  
LLOQ: 10000copies (heart), 2000copies (other organs)

## まとめ

(1) 投与後7日までのIL-15-iNKおよびHLCN061の半減期はiNKに比べて長く、IL-15による持続性の改善が示唆された (Fig. 1, Table 1)。

(2) HLCN061の血中濃度は投与後7日で最も低い値を示した後、14、28日で上昇した。HLCN061は肺、肝臓、脾臓、腎臓等に主に分布し、その臓器中濃度は血液と同様の推移を示した (Fig. 2, 3)。

(3) iNKの抗腫瘍効果は短期間で減弱したのに対し、IL-15-iNK およびHLCN061は長期間増殖抑制を示し、NK細胞における抗腫瘍効果に体内動態の差異が影響しているものと考えられた (Fig. 4)。