

## 関連文献、被引用数情報からCAR-T細胞療法実用化の流れを探る

近年、核酸医薬品、遺伝子治療、再生医療等、新しい創薬基盤技術を活用して開発された医薬品が上市されています。このような新しい技術が実用化されるためには、多くの場合、科学技術の進展が必要であり、製薬企業はアカデミアやベンチャーと提携することによるオープンイノベーションを推進しています。今回、新規の創薬基盤技術としてキメラ抗原受容体遺伝子改変T細胞療法(CAR-T細胞療法)を採り上げ、技術的進展と実用化の過程を関連文献の報告数および被引用数の切り口で分析することを試みました。

### 1 背景・目的

2017年以降、キメラ抗原受容体(Chimeric antigen receptor, CAR)をT細胞に導入した遺伝子改変T細胞(以下、CAR-T細胞)製品、Kymriah、Yescartaが欧米にて上市され、国内においてもそれぞれ承認取得および臨床開発段階です(表1)。CAR-T細胞療法は、患者のT細胞を取り出して遺伝子組み換え技術を用いて遺伝子を導入、体内に戻してがん細胞を攻撃させるという、これまでの低分子薬や抗体医薬とは異なる新しい創薬手法を用いていること、治療困難な疾患に対して高い効果を示すこと、薬価が高額であること等から大きな注目を集めています。またKymriah、Yescartaに続く多くのCAR-T細胞療法の開発がグローバルに進められています。

表1 現在上市されているCAR-T細胞2製品

ブランド名	上市年/国	適応症(初回承認時)	製造販売/国籍
Kymriah	2017/米 2018/欧 (承認/日)	小児急性リンパ性白血病、急性リンパ性白血病	Novartis/スイス
Yescarta	2017/米 2018/欧 (PhaseII/日)	びまん性大細胞型B細胞リンパ腫、縦隔B細胞性リンパ腫	Gilead Sciences/米

出所：各種公開情報を基に作成(2019年4月12日時点)

近年では、新しい技術創出の主たる担い手となっているアカデミアやベンチャーを起源とする医薬品が増加し、医薬品開発におけるこれらの果たす役割が大きくなっています。製薬企業各社もアカデミアやベンチャーと提携することによるオープンイノベーションを推進していることから、科学技術の進展から実用化に至る過程の最新動向を把握することは、産業化のプロセスを担う製薬企業にとって重要と考えます。

そこで今回、CAR-Tをその例として採り上げ、実用化の過程を科学文献情報の切り口で分析することを試みました。科学文献は研究者がその成果を報告する主要な媒体であり、KymriahおよびYescartaの実用化の過程を辿ることで、関連する技術の確立から実用化までにどの程度の時間を要したのか等を調査しました。

### CAR-T細胞療法について [1] [2]

CARは、特定の抗原を認識するモノクローナル抗体の抗原認識部位と、T細胞活性化レセプター(T-cell receptor, TCR)の細胞内ドメインを、遺伝子組み換え技術を用いて連結したものであり、主にはウイルスベクターを用いてT細胞に導入されます。これが遺伝子改変T細胞(CAR-T細胞)と呼ばれます。

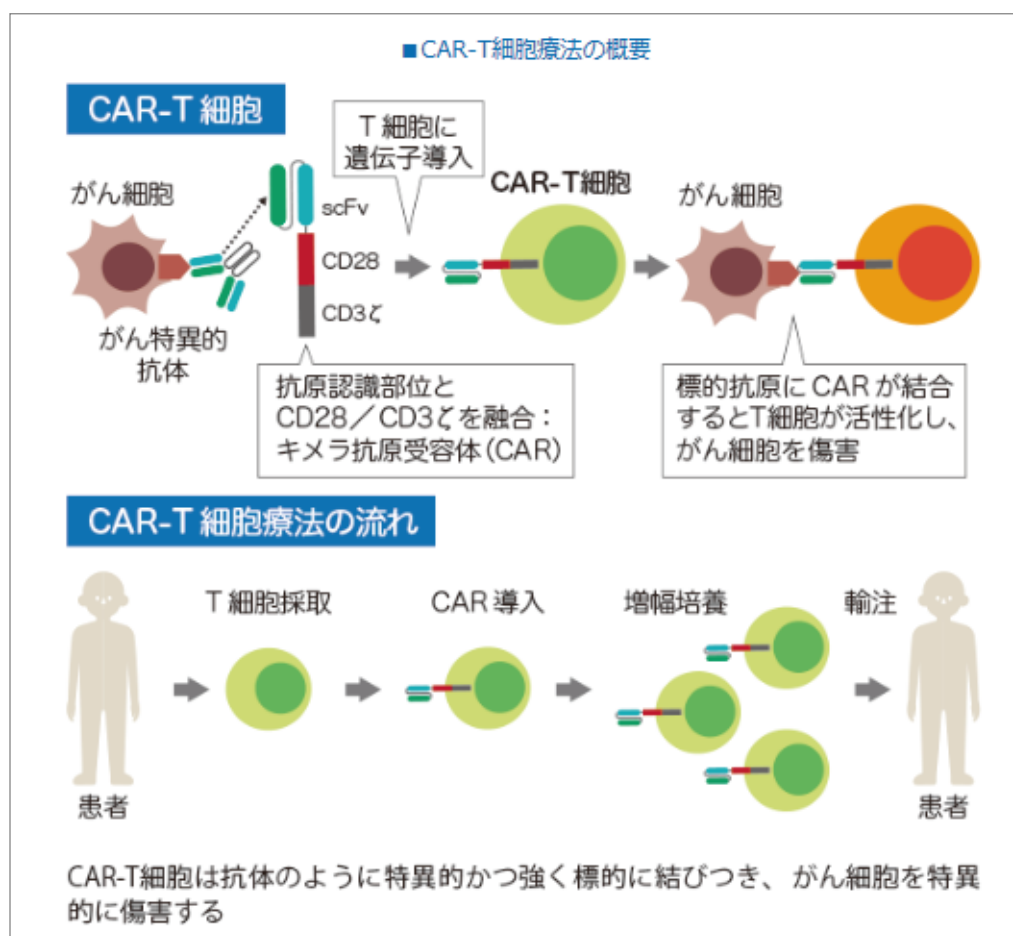
[1] 齋藤章治、中沢洋三(2018)「CAR-T療法の現状と今後の展望」『信州医学雑誌』第66巻第6号、425-433頁

[2] Michel Sadelain et al. (2009) The promise and potential pitfalls of chimeric antigen receptors, *Curr Opin Immunol*, Vol. 21 (2), pp. 215-223

CAR-T細胞の細胞表面には抗体の抗原認識部位が発現し、これが標的抗原と結合することで、そのシグナルがTCRの細胞内ドメインを介して細胞内に伝わり、T細胞による殺細胞作用が発揮されます。

CAR-T細胞の原理は、1989年にEshharが最初に報告し、1993年にはモノクローナル抗体の抗原認識部位(重鎖と軽鎖の可変領域部分の配列をつないだsingle chain variable fragment (scFv))とTCRの細胞内ドメインCD3 $\zeta$ を連結させた第1世代のCAR-T細胞が報告されました[3]。その後、T細胞の殺細胞作用を強めるため、T細胞活性化の第2シグナルであるCD27、CD28、4-1BB、OX40等を直列につなげた第2世代のCAR-T細胞が開発されました(図1上)。現在、CD28と4-1BBを直列につなげる等、第3世代の開発が進められていますが、Kymriah、Yescartaは、第2世代のCAR-T細胞に位置づけられます。

図1 CAR-T細胞(上)とCAR-T細胞療法の流れ(下)



出所：国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)2017年度 研究事業成果集、多発性骨髄腫に対する「CAR-T細胞療法」 [https://www.amed.go.jp/pr/2017\\_seikasyu\\_02-01.html](https://www.amed.go.jp/pr/2017_seikasyu_02-01.html) (参照：2019年2月1日)

CAR-T細胞療法の具体的な流れは図1下の通りです。患者からT細胞を採取し、ウイルスベクターを用いてCARを導入、増幅培養させた後に患者に投与します。

2000年以降、CD19を発現するB細胞性の血液がんに対するCAR-T細胞療法の臨床成績が米国国立がん研究所(National Cancer Institute、NCI)、ペンシルバニア大学、スローン・ケタリング記念がん病院から報告され、既存治療で効果を示さない再発難治性の患者に対しても高い有効性を示すことが明らかになりました。

CAR-T細胞の課題として、血液がん細胞表面に存在するCD19抗原の消失あるいはCAR-T細胞の患者体内での持続性等に

[3] ZELIG ESHHAR et al. (1993) Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the  $\gamma$  or  $\zeta$  subunits of the immunoglobulin and T-cell receptors, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 90, pp. 720-724

よる効果の減弱や、サイトカイン放出症候群(cytokine releasing syndrome、CRS)および脳浮腫等の中中枢神経合併症が報告されています。これらの課題を解決するCAR-T細胞や、固形がんをターゲットとしたCAR-T細胞の開発も進められています。

## 2 調査方法

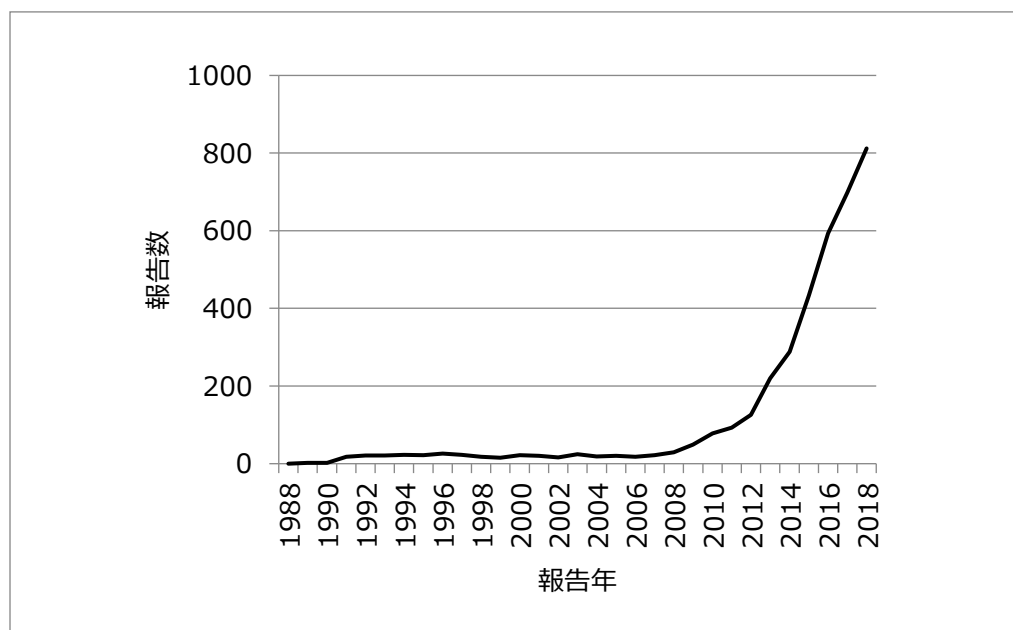
分析にはクラリベイト・アナリティクス社が提供する学術研究情報データベースであるWeb of Science Core Collection (Science Citation Index Expanded、SCIE。以下、Web of Science)を用いました。本データベースには国際的に影響力の高いジャーナルや学術書、会議録、研究データ等が収録されており、CAR-T細胞に関連したキーワードを含む文献情報等を抽出し[4]、報告数の年次推移、被引用数等を調査しました。データベースを用いた情報収集の対象期間は1988～2018年としました。関連データは2019年2月に取得しました。

## 3 調査結果

### 3.1 キーワードを用いたCAR-T関連文献調査

CAR-T細胞に関連した報告を抽出することを目的に、CAR-T細胞に関連性が深いと考えられる用語“chimeric/antigen/receptor/antibody/T-cell”を組み合わせでデータベース検索[5]したところ、ヒットした報告数は1988～2018年で3771件でした。報告年の推移で見ると1989年および1990年に2件、1991～2008年まで10～30件の間を推移し、2009年(49件)頃から急激に増加、2018年は812件でした(図2)。

図2 CAR-T細胞関連キーワードを用いて抽出した報告の年次推移



出所：Web of Science Core Collection (Science Citation Index Expanded、SCIE)

次に、年代別の報告数と被引用数との関係を図3に示します。被引用数は、その報告が後続の研究に与えたインパクトの大きさを示す指標となります。図3における被引用数の上位10件[6]は、表2の通りでした。

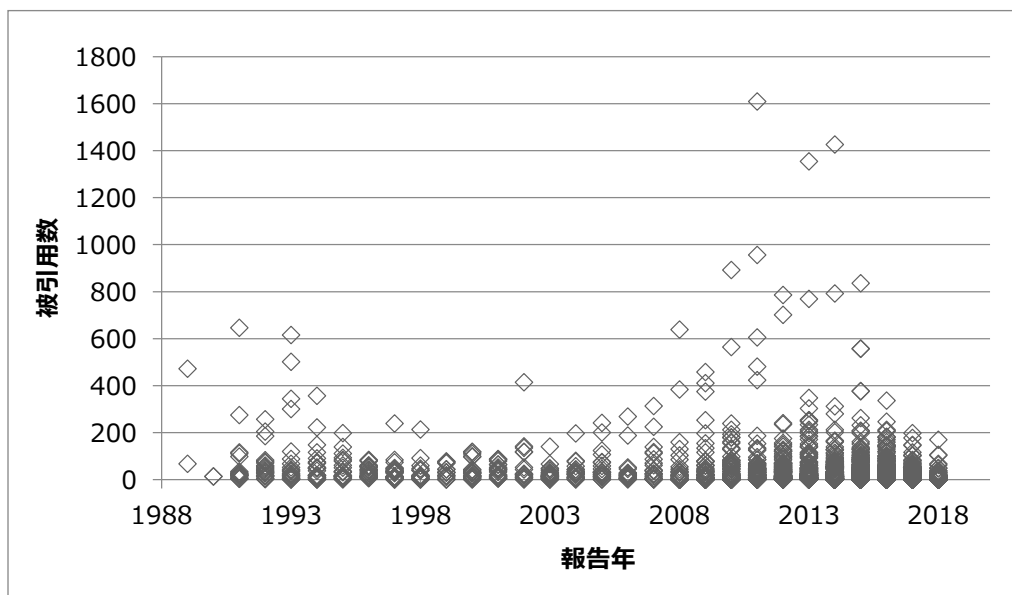
[4]本調査では、タイトル、抄録、著者キーワード、Keywords Plus®(コンピュータプログラムを用い、引用文献のタイトルから出現頻度の高いキーワードを自動抽出して作成させる索引用語)を検索の対象範囲としています。

[5]以下(1)～(3)の論理和をとりました。

(1) (chimeric\* near/3 antigen\* near/3 receptor\*)、(2) ((chimeric antigen) and "T-cell receptor")、(3) ((chimeric antibody) and "T-cell receptor")

[6]複数の研究分野を対象に比較する場合には、研究成果の質を測る指標として、被引用数の上位からの割合(上位1%、10%など)が広く知られていますが、本調査では、対象を特定の領域に限定していることから、被引用数を指標としました。

図3 CAR-T細胞関連キーワードを用いて抽出した報告の報告年と被引用数のプロット



[注] 被引用数が少ない報告が多い部分は、複数のマークが重なりラダー状に見えます。  
出所：図2に同じ

表2 被引用数上位10件

タイトル	第一著者	雑誌名	出版年	被引用数
Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells in Chronic Lymphoid Leukemia	Porter, David L	N. Engl. J. Med.	2011	1597
Chimeric Antigen Receptor T Cells for Sustained Remissions in Leukemia	Maude, Shannon L	N. Engl. J. Med.	2014	1398
Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for Acute Lymphoid Leukemia	Grupp, Stephan A	N. Engl. J. Med.	2013	1339
T Cells with Chimeric Antigen Receptors Have Potent Antitumor Effects and Can Establish Memory in Patients with Advanced Leukemia	Kalos, Michael	Sci Transl Med	2011	944
Case Report of a Serious Adverse Event Following the Administration of T Cells Transduced With a Chimeric Antigen Receptor Recognizing ERBB2	Morgan, Richard A	Mol. Ther.	2010	880
T cells expressing CD19 chimeric antigen receptors for acute lymphoblastic leukaemia in children and young adults: a phase 1 dose-escalation trial	Lee, Daniel W	LANCET	2015	815
Efficacy and Toxicity Management of 19-28z CAR T Cell Therapy in B Cell Acute Lymphoblastic Leukemia	Davila, Marco L	Sci Transl Med	2014	779
Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response	Restifo, Nicholas P	Nat. Rev. Immunol.	2012	775
CD19-Targeted T Cells Rapidly Induce Molecular Remissions in Adults with Chemotherapy-Refractory Acute Lymphoblastic Leukemia	Brentjens, Renier J	Sci Transl Med	2013	757
B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells	Kochenderfer, James N	BLOOD	2012	692

出所：図2に同じ

これらの内容はいずれも2010年以降に発表されたものであり、CAR-T細胞に関する臨床効果、安全性報告もしくはレビューでした。このことは、近年得られた臨床での成果がその後の研究に大きな影響を与えていることを示しています。

一方、本調査期間の前半10年(1988～1997年)にも、同年代のほかの報告に比べ相対的に被引用数が多い報告(200～)が集中していました。そこで、1988～1997年の分布に着目し、この期間で被引用数が上位10件の報告を抽出しました(表3)。これらの報告には、Eshharによる第1世代のCAR-T細胞の報告に加え、CD28等T細胞活性化の第2シグナルを用いた第2世代のCAR-T細胞の開発に関する研究成果の報告が含まれています。しかしながら、Poussier(1992)、Cope(1997)による報告についてはCAR-Tとの関連性が低く、ノイズであると考えました。

表3 被引用数上位10報(1988～1997年)

タイトル	第一著者	雑誌名	出版年	被引用数
The cytoplasmic domain of the T-cell receptor zeta-chain is sufficient to couple to receptor-associated signal transduction pathways	Irving, BA; Weiss, A	CELL	1991	646
Specific activation and targeting of cytotoxic lymphocytes through chimeric single chains consisting of antibody-binding domains and the gamma-subunit or zeta-subunit of the immunoglobulin and T-cell receptors	Eshhar, Z	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	1993	615
Induction of alloantigen-specific hyporesponsiveness in human lymphocytes-T by blocking of CD28 with its natural ligand B7/BB1	Tan, P	J. Exp. Med.	1993	501
Expression of immunoglobulin-T-cell receptor chimeric molecules as functional receptors with antibody-type specificity	Gross, G	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	1989	471
B7 and interleukin-12 cooperate for proliferation and interferon-gamma production by mouse T-helper clones that are unresponsive to B7 costimulation	Murphy, EE	J. Exp. Med.	1994	356
T-cell activation by clustered tyrosine kinases	Kolanus, W	CELL	1993	343
CD28-B7 interactions allow the induction of CD8+ cytotoxic T-lymphocytes in the absence of exogenous help	Harding, FA	J. Exp. Med.	1993	300
T-Cell and basophil activation through the cytoplasmic tail of T-cell-receptor zeta-family proteins	Letourneur, F	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	1991	274
Thymus-independent development and negative selection of T-cells expressing T-cell receptor-alpha/beta in the intestinal epithelium - evidence for distinct circulation patterns of gut-derived and thymus-derived lymphocytes-T	Poussier, P	J. Exp. Med.	1992	257

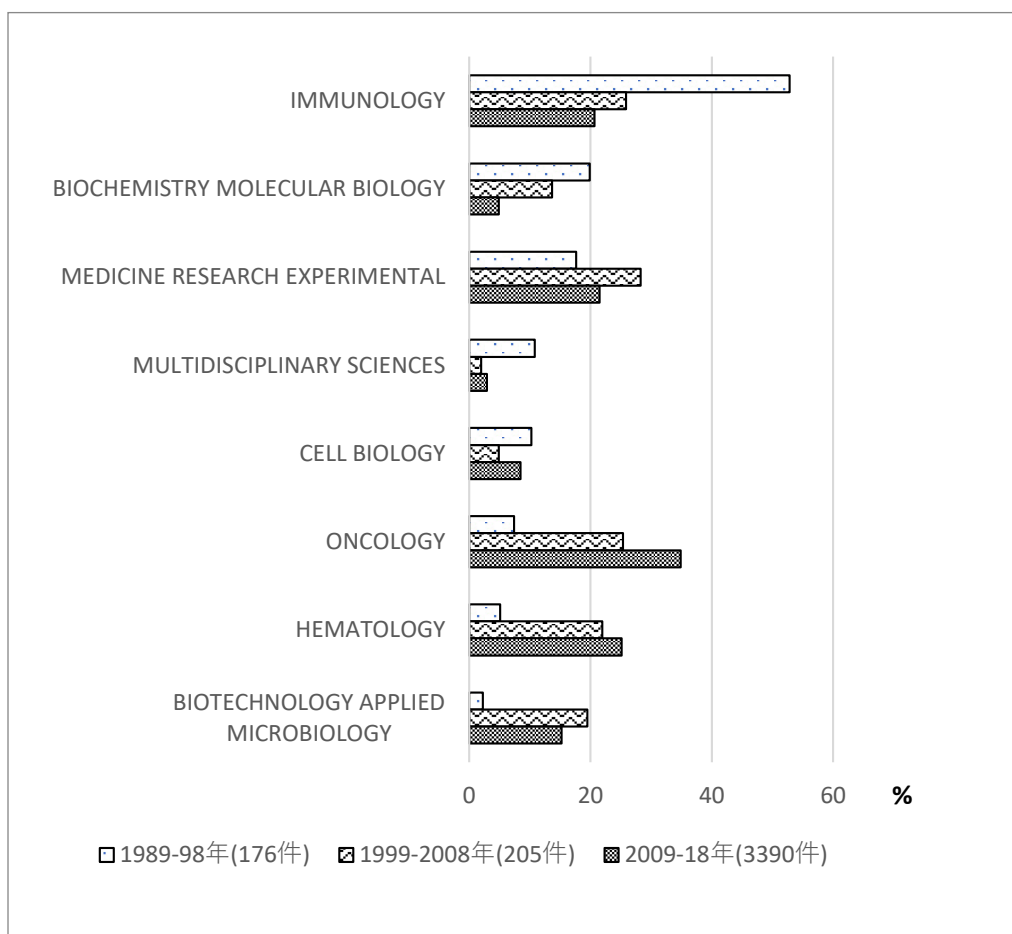
出所：図2に同じ

### 3.2 研究分野の推移

報告年代と研究分野の関係を調査するため、Web of Scienceの分類[7]を基に、本調査対象期間で最初の報告が見られた1989年以降10年ごとに、掲載された論文が関係する分野を調査しました(図4)。

[7] Web of Scienceでは、学術誌の種類を関連分野に分類しています。1つの学術誌に対し、最大6の分野、平均的には3程度が割り当てられています。

図4 関連文献における各研究分野の占める割合(年代別)



[注] 括弧内の数値は当該期間における報告数を示しています。いずれかの年代において上位5に含まれる分野を抽出しました。  
出所：図2に同じ

これを見ると、1989～98年では“IMMUNOLOGY”および“BIOCHEMISTRY MOLECULAR BIOLOGY”分野の割合が高いですが、1999年以降その割合は減少し、1999年以降では“ONCOLOGY”、“HEMATOLOGY”分野の割合が高くなっています。このように、研究分野の推移からも、免疫学的なメカニズムの研究あるいは遺伝子組み換え技術を活用したCAR-T細胞の設計等の分子生物化学的分野から、がん、血液がん分野での臨床応用に展開されたことがうかがえます。

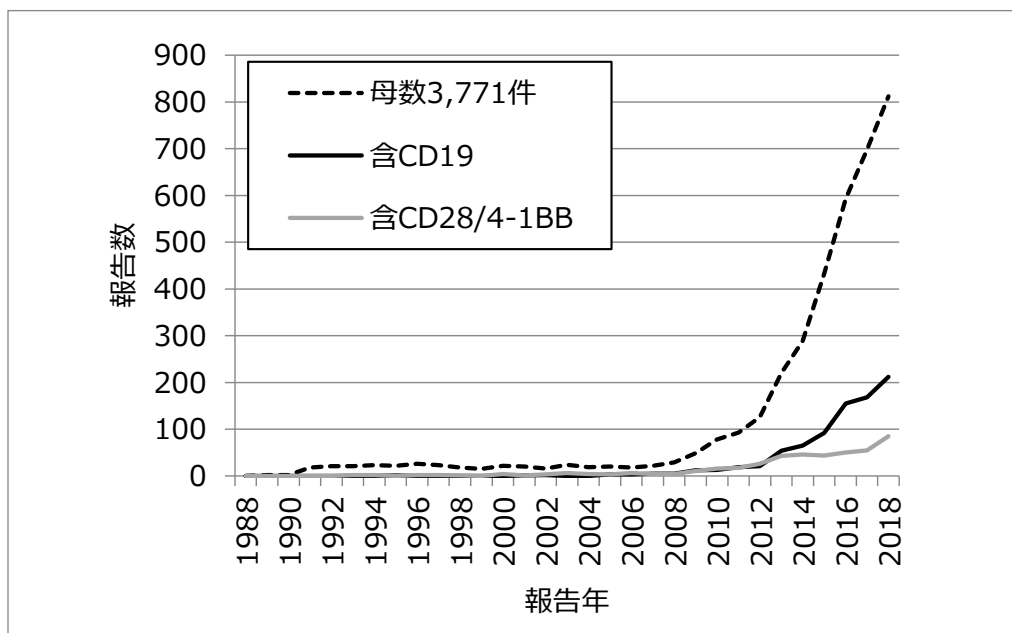
### 3.3 CAR-T細胞の実用化に関連した技術的進展との関係性

CAR-T細胞がKymriah、Yescartaとして実用化に至った技術的背景として、CD28、4-1BBを活用した細胞内シグナルの増強 [8] (第2世代CAR-T細胞の開発)と標的抗原としてCD19を選択したことが挙げられます。そこで、図2で示したCAR-T細胞関連報告3771件を母集団として、これらの用語を用いてヒットする報告をそれぞれ抽出し [9]、報告数の推移 (図5) および被引用数 (図6) を調査しました。

[8] 細胞内シグナルを増強させる共刺激ドメインとして、Kymriahでは4-1BBが、YescartaではCD28が使用されています。

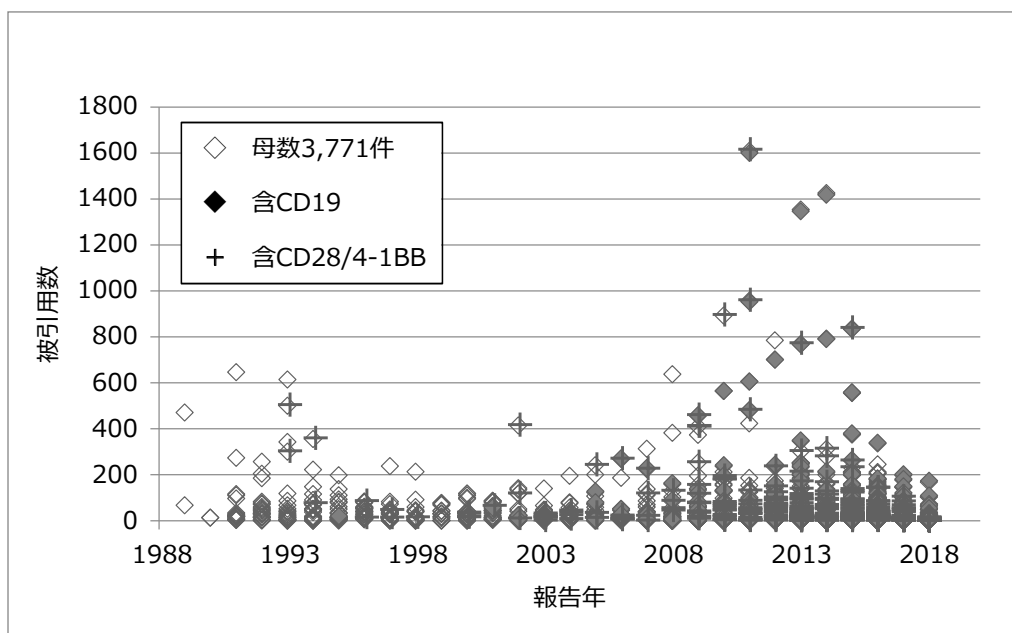
[9] 前述の脚注 [5] の検索結果に対し、それぞれ“CD19”、“CD28 or 4-1BB”の論理積をとりました。

図5 CD19およびCD28/4-1BBでヒットする文献数



出所：図2に同じ

図6 CD19およびCD28/4-1BBでヒットする文献発表年と被引用数の関係



[注] 被引用数が少ない報告が多い部分は、複数のマークが重なりラダー状に見えます。

出所：図2に同じ

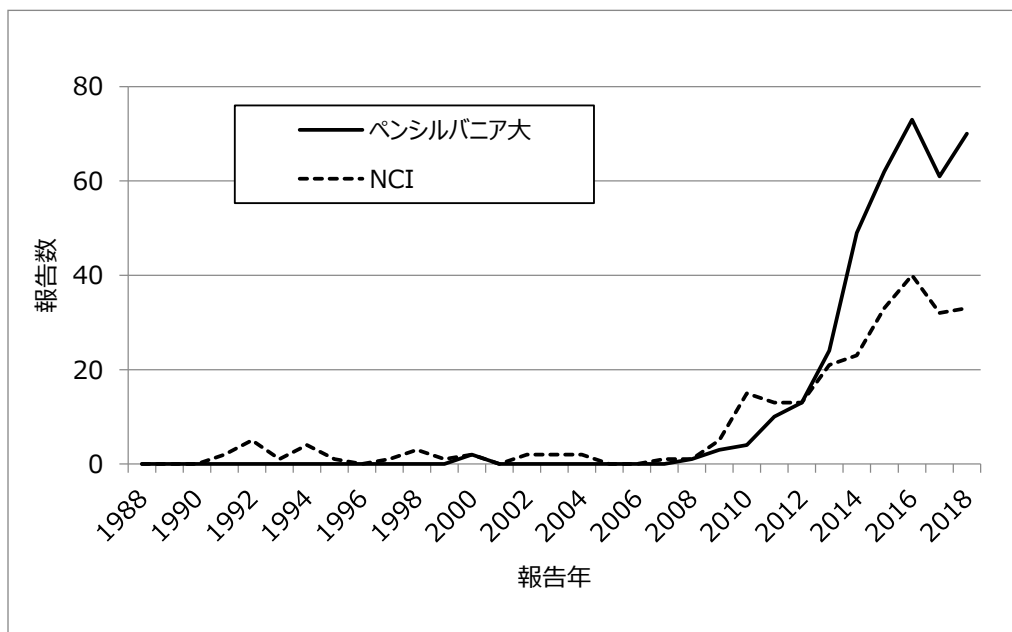
CD28もしくは4-1BBを含む報告は3771件中437件ヒットし、1990年頃から被引用数の多い報告が見られます。一方CD19を含む報告は831件ヒットしましたが、その報告の多くは2000年代以降の報告でした(図5)。母集団との重なりで見た場合、直近10年程度で被引用数の多い報告の多くはCD19に関連したものであることがわかります(図6)。

このように、被引用数の多い報告はCAR-T細胞開発の初期段階では、CD28や4-1BB等、第2世代のCAR-T細胞が開発された前後、直近ではCD19が見いだされて以降に多く確認されました。

### 3.4 研究機関、関連研究者からの調査

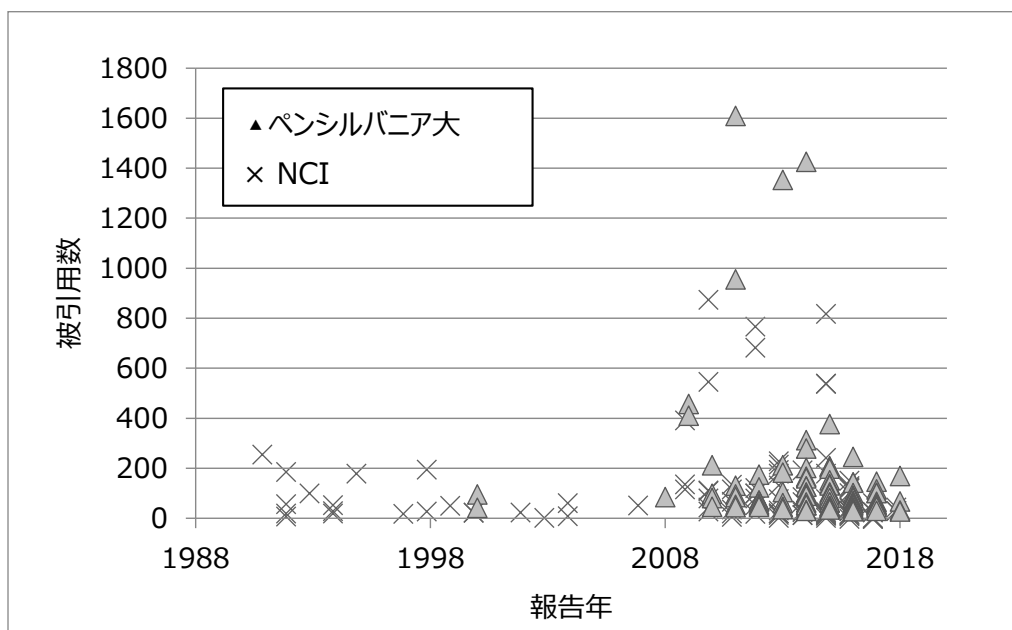
Kymriahはペンシルバニア大学にて創製され、2012年にNovartisがライセンス導入しました。一方Yescartaは2012年10月、Kite Pharma(2017年にGilead Sciencesが買収)がNCIと共同研究開発契約にて導入しました。そこで、前述のCAR-T細胞関連報告3771件を母数とし、これら2つの研究機関による報告数および被引用数を調査しました(図7、8)。

図7 ペンシルバニア大学およびNCIによる報告数の推移



出所：図2に同じ

図8 ペンシルバニア大学およびNCIによる報告の被引用数



出所：図2に同じ

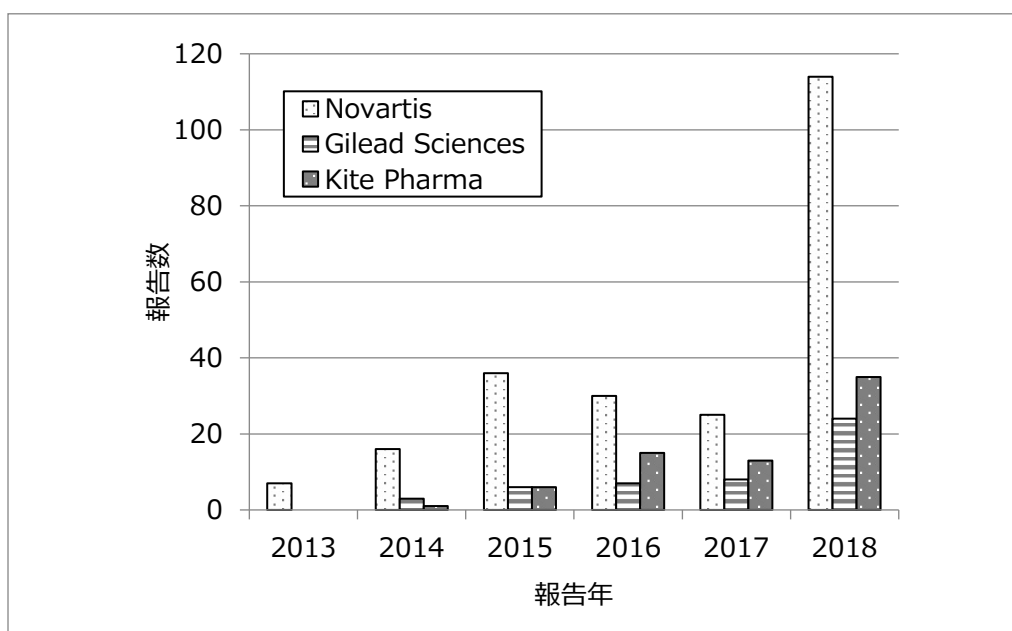


ペンシルバニア大学による報告は、372件存在し、最も早い報告で2000年に2件でしたが、以降7年間は報告がなく、2008年以降、継続的かつ多数の報告が見られます。一方、NCIでは全体の報告件数は256件でペンシルバニア大学に比べると少ないものの、1991年以降、継続的に報告が見られ、CAR-T細胞実用化に至る経緯に違いが見られました。

### 3.5 製薬企業による研究費の助成状況

Web of Scienceでは、2008年以降の文献情報に助成金登録情報の索引づけがされています。そこでCAR-T細胞2製品に関連した企業の関与を確認するため、CAR-T細胞関連報告3771件のうち2008年以降に報告された3419件について、Novartis、Gilead Sciences、Kite Pharmaによる研究費の助成状況を確認[10]したところ、それぞれ97件、18件、23件の報告が見られましたが、いずれも2013年以降に報告された研究に対しての助成であり、アカデミアとのライセンス契約を締結した後の報告でした(図9)。

図9 Novartis、Gilead Sciences、Kite Pharmaによる研究費助成を受けて実施された研究の件数



[注] CAR-T関連用語で抽出した3771件の報告を母数としています。  
出所：図2に同じ

## 4 まとめと考察

アカデミアやベンチャーで生まれたシーズや技術をいつ、どのタイミングで製薬企業に移行するのかが、アカデミアと製薬企業双方にとって重要なポイントです。今回の調査では、CAR-T細胞に関連した文献数や被引用数の推移等から、CAR-T細胞の技術確立から実用化までの流れを追うことを試みました。

CAR-T細胞に関連した用語から抽出された3771件の分析から、1989～2006年は年間の報告数は少ないものの、1990年代前半に被引用数の多い報告が認められました。この理由として、Eshharによる第1世代のCAR-T細胞技術の確立と第2世代の技術開発が進んでいたことが考えられます。

CAR-T2製品が創製された2つの研究機関を切り口とした場合、ペンシルバニア大学では1990年代の報告は見られず、2008年頃から多くの報告が見られる一方、NCIでは1990年代前半より継続して報告していました。このようにCAR-Tの実用化に重要な役割を果たした2つの研究機関に異なる特徴が見られたことは興味深いことです。ペンシルバニア大学では、臨床応用から積極的に開発に着手し、NCIでは、基礎的な段階からCAR-Tの開発に着手していたことも考えられます。

[10] 助成金提供機関の名称に“novartis”“gilead”“kite”を含む報告をそれぞれ抽出しました。

なお本調査の限界として、目的に合った文献を抽出するためのキーワード選択が挙げられます。すなわち、キーワードの条件を厳しくすればノイズは減るが抽出力は低下し、条件を緩くすればその逆となります。本調査ではCAR-Tに密接に関連していると考えられるchimeric/antigen/receptor/antibody/T-cellの組み合わせで母集団を抽出し、CAR-T療法の進展を調査しました。これらのキーワードを用いて抽出した場合、特にCAR-Tという呼び方が定着していない年代では、目的とする論文のヒット率が落ちる(ノイズが増える)可能性が考えられました。

CAR-Tの発明から実用化に至る過程においてはT細胞による殺細胞メカニズム、遺伝子改変技術、がん免疫に関する知見、疾患領域(血液がん)、細胞培養技術等、さまざまな基礎となる分野の知見や技術的進展が必須であったことはいうまでもありませんが、加えてT細胞に抗体受容体を発現させるという発想、CD28や4-1BB等を用いた第2世代の開発、CD19をターゲットにした展開等が重要な役割を果たしました。そして1993年のEshharによる報告から2017年のKymriah、Yescartaの承認まで20年以上の年月を要しています。

製薬企業は積極的にアカデミアやベンチャーで生まれたシーズの獲得を目指す一方で、新規性の高い技術の評価が困難となる場合もあり、また開発段階が早期であるほど、医薬品開発に伴う不確実性も高まります。

製薬企業が外部のシーズを導入する際のコストは、開発段階とトレードオフの関係にあります。すなわち開発段階が早ければ導入コストや製薬企業間の獲得競争は相対的に低くなるものの開発リスクは高く、開発段階が進めばその逆になります。

近年グローバルでの傾向として、製薬企業はより早期段階のシーズを導入しているようです<sup>[11]</sup>。

CAR-Tでは、製薬企業がアカデミアから導入したのはCAR-Tの技術や有効性が確認された後の2012年でしたが、新しい技術をいつどのように採り入れるのか、製薬企業の“目利き”が試されています。

(医薬産業政策研究所 主任研究員 鍵井 英之)

[11] 医薬産業政策研究所「医薬品産業におけるライセンスインの状況—日本企業とグローバル企業の比較—」政策研ニュース No.56 (2019年3月)