



抑制性免疫補助受容体 PD-1 の阻害により 自己の細胞が破壊されるメカニズムを解明

徳島大学先端酵素学研究所の岡村陽香里大学院生、岡崎拓教授らの研究グループは、抑制性免疫補助受容体PD-1の阻害により自己の細胞に反応するT細胞がどのように活性化して、自己の細胞を破壊し、自己免疫疾患をひき起こすのかを、単一細胞解析により解明しました。今後、がんや自己免疫疾患の新規治療法や層別化法の開発につながることを期待されます。本成果は、7月3日付けで米国科学雑誌【Journal of Autoimmunity】オンライン版に掲載されます。

(報道概要)

徳島大学先端酵素学研究所の岡村陽香里大学院生、岡崎拓教授らの研究グループは、抑制性の免疫補助受容体である PD-1 (Programmed cell death 1) の機能を阻害した際に、自己の細胞に反応する T 細胞が活性化されて、自己免疫疾患がひき起こされるメカニズムを、単一細胞解析により解明しました。

昨年、本庶佑博士が抑制性免疫補助受容体 PD-1 を介した免疫抑制の阻害によるがん治療法の発見によりノーベル賞を受賞されました。PD-1 の機能を阻害すると、がん細胞に反応する T 細胞が活性化してがん細胞を破壊し、がんを治療できます。一方、PD-1 の機能を阻害すると、自己の細胞に反応する T 細胞が活性化して、自己免疫疾患を発症してしまうことがあります。これまで、がん細胞や自己の細胞に反応する T 細胞を PD-1 がどのように抑制しているのかは不明でした。

血糖値を下げるホルモンであるインスリンを産生する膵臓のβ細胞が、自己反応性の T 細胞によって破壊されると I 型糖尿病を発症します。今回、岡崎教授らのグループは、I 型糖尿病を発症するマウスを用いて、自己反応性 T 細胞に発現する遺伝子が、PD-1 の機能を阻害することによって、どのように変動するかを、個別の細胞に分けて解析しました。その結果、自己反応性 T 細胞の活性化が 4 段階に分けられること、PD-1 が機能すると活性化が 2 段階目から 3 段階目に進まないことを見出しました。膵臓のβ細胞の破壊に必要な遺伝子が活性化の 3 段階目から発現することから、PD-1 は自己反応性 T 細胞が細胞を傷害する活性を獲得するのを阻止していることが、明らかになりました。

活性化の 3 段階目で発現が誘導される遺伝子は、ヒトの悪性黒色腫の患者において、PD-1 阻害療法によって効果が認められた患者において、発現が強く誘導されることも見出されました。このことから、今回 I 型糖尿病のモデルマウスで観察した T 細胞と同様に、ヒトにおいてもがん細胞に反応する T 細胞の活性化が段階的に制御されており、PD-1 阻害療法によって活性化段階が進むことにより治療効果が得られると考えられました。今後、がんや自己免疫疾患の新規治療法や層別化法の開発につながることを期待されます。

本研究成果は、7月3日付けで米国科学雑誌「Journal of Autoimmunity」オンライン版に公開されます。

(研究の背景)

2018 年のノーベル生理学・医学賞は、免疫抑制の解除によるがん免疫療法を開発した功績により、本庶佑博士と James P. Allison 博士に授与されました。両博士は、未治療の状態でもがん細胞に対する免疫応答が既に誘導されているものの、PD-1 および

CTLA-4 という抑制性免疫補助受容体（いわゆる、免疫チェックポイント分子）により無力化されていることを見出しました。さらに、抑制性免疫補助受容体の機能を阻害するだけで、体内で無力化されていたがん細胞特異的 T 細胞を活性化し、がんを治療し得ることを発見しました。これらの発見は、がん治療およびがん研究に大きな変革をもたらしました。

PD-1 は、1992 年に本庶研究室において石田靖雅博士らによって発見されたタンパク質で、活性化した T 細胞や B 細胞の細胞表面に発現します。岡崎教授は本庶研究室において、PD-1 による抑制の分子メカニズムなどを解明し、PD-1 が自己に対する不適切な免疫応答やがん免疫応答を抑制する抑制性免疫補助受容体であることを明らかにしました。一方、PD-1 の機能を阻害することにより、がんや自己の細胞に反応する T 細胞が強く活性化されて、標的細胞を破壊すると考えられているものの、従来の解析では T 細胞の活性化が明瞭には観察されておらず、その詳細は不明でした。近年、細胞の機能や状態を個別に解析する単一細胞解析の技術が発達し、免疫細胞の研究にも応用されています。単一細胞解析では、細胞集団の平均値ではなく、実際に個々の細胞がどのような機能を持つのか、類似の機能を持つ細胞がどのような頻度で存在するかなどを詳細に知ることができます。しかし、これまでに報告されている単一細胞解析では、PD-1 阻害療法によって細胞傷害能を失った疲弊 T 細胞の増加が観察されており、PD-1 阻害療法によるがんの治療効果が説明できていない状況でした。本研究では PD-1 阻害抗体の投与により速やかに I 型糖尿病を発症するモデルを使うとともに、免疫関連遺伝子を高感度に検出できる方法を用いることにより、今回の発見に至りました。

（研究の成果）

I 型糖尿病モデルマウスの NOD マウスでは、生後 3 週齢頃より自己反応性 T 細胞による膵 β 細胞の傷害が開始され、生後 15 週齢頃より一部のマウスが I 型糖尿病を発症し始めます。生後 50 週齢頃までに約 50% のマウスが I 型糖尿病を発症しますが、発症時期が個体によって大きく異なる理由はわかっていません。NOD マウスでは、PD-1 が自己反応性 T 細胞による膵 β 細胞の傷害を強く抑制しており、糖尿病発症前のマウスに PD-1 の機能を阻害する抗体を投与すると膵 β 細胞の傷害が一気に進み、投与後 1 週間以内にほとんどのマウスが I 型糖尿病を発症します。

抗体投与前に膵臓に浸潤している T 細胞は PD-1 により抑制を受けていますが、抗体投与により PD-1 の抑制を逃れて活性化すると考えられます。そこで、PD-1 により抑制を受けている細胞と PD-1 の抑制を逃れて活性化した細胞をマウスから取り出して、各々を単一細胞に分けた後、各単一細胞にどのような遺伝子が、どの程度発現しているかを測定しました。

遺伝子発現の特徴をもとに、個々の単一細胞を 6 個のグループ（クラスター）に分類したところ、PD-1 により抑制を受けている細胞と PD-1 の抑制を逃れて活性化した細胞では、同じグループに属する細胞も一部認められるものの、グループの構成が大きく異なることが分かりました（図 1）。次に、遺伝子発現の違いの大きさから変化の順番を推定する、擬時間解析を行ったところ、自己反応性 T 細胞の活性化が 4 段階に進むこと、PD-1 によりその活性化段階が 2 段階目で止まることを見出しました（図 2A）。また、細胞傷害機能が 3 段階目で獲得されること、PD-1 は細胞傷害機能の獲得を阻止していることが明らかになりました（図 2B）。

次に、今回見出した T 細胞の段階的な活性化が、がん免疫やヒトにおいても認められるかを検討しました。悪性黒色腫の患者サンプルにおける遺伝子発現と比較したところ、PD-1 阻害療法が奏効した例では、マウスで観察したような段階を経て T 細胞が活性化されている傾向が見出されました（図 3）。

（研究成果の意義・今後の展望）

本研究によって、T細胞の活性化が段階的に進むこと、PD-1はT細胞の活性化を全く起こさなくしているのではなく、活性化の段階を途中で止めて、T細胞が標的細胞を傷害する機能を獲得するのを阻止していることが分かりました。PD-1阻害療法により、がん細胞に反応するT細胞の活性化段階が上手く進んだ場合には、良好な治療効果が得られると考えられます。今後、PD-1阻害抗体による治療効果をより早期に予測する方法や、T細胞の段階的な活性化の効率を高めることにより、治療効果がより高いがん免疫療法の開発につながることを期待されます。

掲載誌：Journal of Autoimmunity

論文題目：PD-1 aborts the activation trajectory of autoreactive CD8⁺ T cells to prohibit their acquisition of effector function

論文著者：Hikari Okamura, Il-mi Okazaki, Kenji Shimizu, Takumi Maruhashi, Daisuke Sugiura, Reina Mizuno, Taku Okazaki

(図)

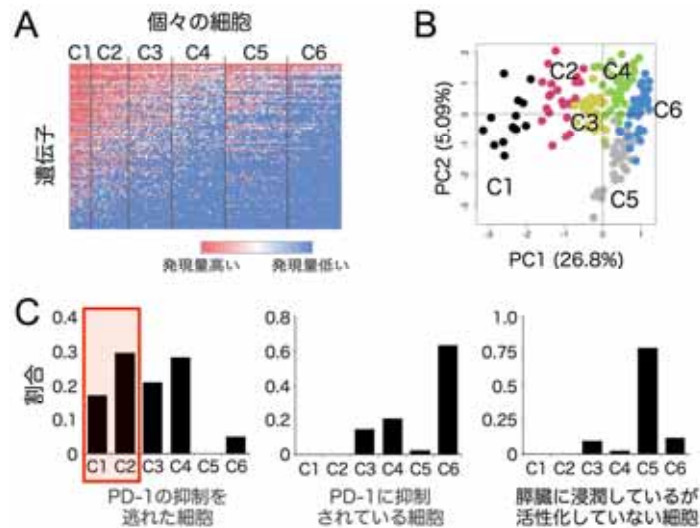


図1：PD-1の抑制を逃れた細胞は遺伝子の発現パターンがPD-1に抑制されている細胞と類似した細胞と異なる細胞を含む

(A) 脾臓に浸潤している細胞を個別に解析し、発現している遺伝子の特徴をもとに6種類のグループ(クラスター、C1~C6)に分類した。

(B) 主成分分析による分類。

(C) PD-1の抑制を逃れた細胞には、PD-1に抑制されている細胞にも含まれるグループ(C3・C4・C6)の細胞と、含まれないグループ(C1・C2)の細胞が含まれていた(赤枠)。



図2：自己反応性T細胞は4段階に活性化され、PD-1は2段階目で活性化をとめる

(A) 擬時間解析から、自己反応性T細胞は4段階に活性化されることが分かった。

(B) 自己反応性T細胞が3・4段階目(C1・C2)まで活性化されると、細胞傷害に関わる遺伝子の発現が強く誘導されることが分かった。

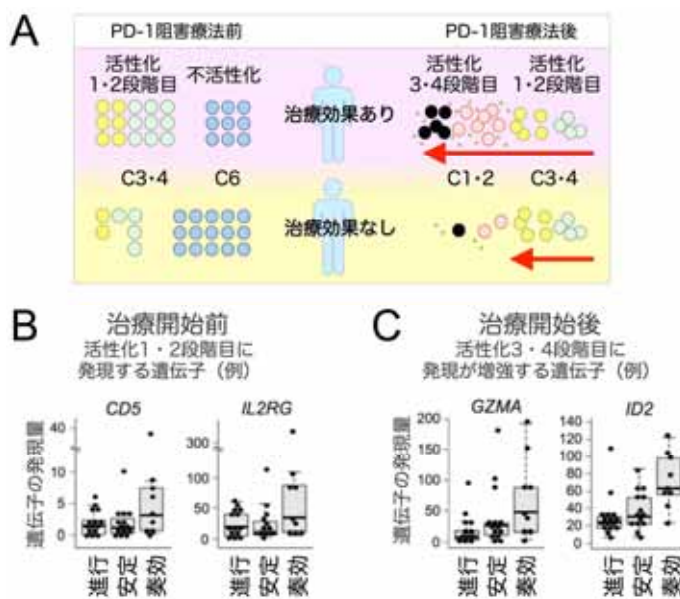


図3：T細胞の活性化段階がPD-1阻害療法により上手く進んだ例では治療効果が高い

(A) マウスの解析で得られた結果から、PD-1阻害療法開始前に1・2段階目まで活性化された細胞(C3・C4)が不活性化された細胞(C6)よりも多いと、PD-1阻害療法の効果が高いと予測される(左)。一方、PD-1阻害療法によりT細胞の活性化が3・4段階目(C1・C2)まで進むと、PD-1阻害療法の効果が高いと予測される(右)。

(B) ヒトの悪性黒色腫において、PD-1阻害療法に奏効した患者では、不活性化された細胞(C6)よりも1・2段階目まで活性化された細胞(C3・C4)に多く発現する遺伝子が、治療開始前の段階で強く発現していた。

(C) ヒトの悪性黒色腫において、PD-1阻害療法に奏効した患者では、T細胞の活性化が3・4段階目(C1・C2)まで進むと発現が増強する遺伝子が、治療開始後に強く発現していた。

お問い合わせ先

部局名 先端酵素学研究所 免疫制御学分野

責任者 岡崎 拓

担当者 岡崎 拓

電話番号 088-633-9158

メールアドレス

tokazaki@genome.tokushima-u.ac.jp