

—特集〔日本医科大学先端医学研究所 Cutting Edge Research (3)〕—

がん免疫療法と免疫記憶
—先端医学研究所 細胞生物学部門—

岩井 佳子

日本医科大学先端医学研究所細胞生物学部門

2018年12月にJames P. Allison博士（米国テキサス大学教授）と本庶佑博士（京都大学特別教授）が「免疫抑制の阻害によるがん療法の発見」の功績によりノーベル生理学・医学賞を共同受賞されました。筆者は本庶研究室に在籍し、免疫チェックポイント阻害剤PD-1抗体ニボルマブを開発しました。そこで当研究室では、ニボルマブの開発経験と、全国有数のがん拠点病院である日本医科大学ならではのアドバンテージをいかして、がん免疫の基礎研究と新しい診断・治療法の開発に取り組んでいます。免疫応答はがんだけでなく、感染症、アレルギー、自己免疫疾患、生活習慣病などの病態や、生殖免疫、移植免疫などさまざまな生命現象に深く関与しています。本研究室では、免疫システムの二大特徴である「自己寛容 Self-tolerance」と「免疫記憶 Immunological memory」に関する研究を行っています。さらに、新メンバーとして橋口准教授と宮部講師が加わり、腸管免疫や細胞遊走に関する研究も展開しています。本稿では、本研究室の研究概要についてご紹介したいと思います。

免疫チェックポイント阻害剤ニボルマブ（抗PD-1抗体）の開発

筆者は東京医科歯科大学医学部を卒業後、研修医として多忙に過ごしておりましたが、あるとき膀胱癌の患者さんを担当してなす術もなく医療の限界を感じました。心のどこかで病気のメカニズムを追究したいという思いが日増しに強くなり、臨床医をやめて研究者を志す決心をして、本庶佑教授の研究室の門をたたき、大学院生として研究を開始しました。当時の本庶研は40~50名の研究者からなるビッグラボで、その大半が本庶教授のメインプロジェクトである抗体のクラススイッチの研究に従事していました。私はクラススイッチではなく、たった2名のPD-1グループに配属となりました。

そのころPD-1研究に進展があり、1994年の発見以来、長い間機能不明だったPD-1遺伝子が免疫系のブレーキ役として働いていることが明らかになりつつあ

りました。自己反応性のTリンパ球は胸腺で大部分除去されますが（中枢性免疫寛容）、一部は逃れて末梢に出てきます。西村博士はPD-1欠損マウスを作成して、PD-1が末梢組織で活性化T細胞を抑制して、自己免疫疾患の発症を防いでいることを示しました（末梢性免疫寛容）¹。

けれども、当時はPD-1のリガンドも、生体内における局在も不明でした。そこで、PD-1による免疫抑制のメカニズムを解明するため、私の研究テーマは、PD-1蛋白質の大量精製を行って、1) PD-1のリガンドを探すことと、2) 抗ヒトPD-1モノクローナル抗体を作ること、になりました。このとき作った5種類のPD-1抗体の一つが完全ヒト化されて、後のニボルマブになりました²。

一方、リガンドの探索中に、PD-1リガンドががんやウイルス感染細胞に発現することに気がつき、PD-1シグナルががんやウイルスに対する免疫応答を抑制することを世界ではじめて示しました^{3,4}。さらにHarvard大学のFreeman博士らとの共同研究によって、2つのリガンド（PD-L1, PD-L2）を同定しました^{5,6}。

これらの研究で苦労したことがあります。それは「CTLA-4」の壁です。PD-1とCTLA-4はCD28ファミリーに属する免疫抑制受容体でT細胞に発現し、共抑制分子（Co-inhibitory molecule）として、T細胞の免疫応答を負に制御します（当時はまだ「免疫チェックポイント分子」という言葉はありませんでした）。PD-1より早期に発見されたCTLA-4の研究は常に先行していて、1996年にAllison博士によってCTLA-4抗体による抗腫瘍効果が報告されていました⁷。このため、PD-1で似たような研究をしても二番煎じの状態でした。

この状況から逆転するには、CTLA-4抗体に対する優位性を示すしかありません。そこで筆者は、①CTLA-4抗体では治らないがんがあること、②CTLA-4抗体は自己免疫による副作用が大きいこと、③CTLA-4抗体のがん転移における効果は不明なこと

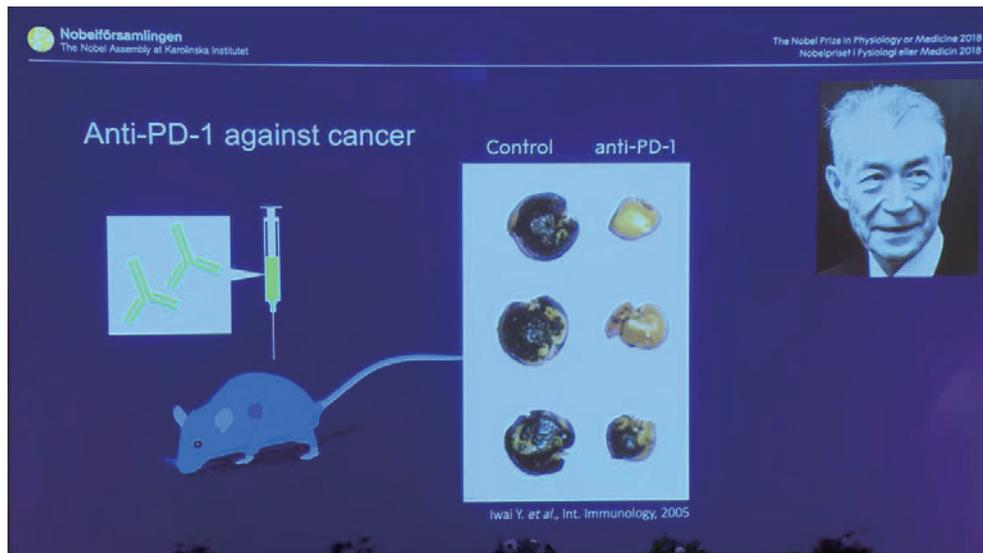


図1 ノーベル財団による2018年ノーベル医学生理学賞発表(2018年10月1日)写真は岩井によるがん転移実験データ(PD-1抗体を投与するとがんが著しく抑制された)。右上は本庶佑博士。

B16メラノーマ腫瘍細胞を用いて、がんの転移実験を行いました⁸。結果は驚くべきものでした(図1)。メラノーマが肝転移を起こすと肝臓は黒く腫大しますが、PD-1抗体を投与すると、転移は起こらず、肝臓は白いままでした。さらにCTLA-4抗体でみられるような副作用もありませんでした。この白い肝臓の写真は、2018年10月1日のノーベル財団によるノーベル生理学医学賞発表記者会見で紹介されました。

抗PD-1抗体ニボルマブは、2014年に世界に先駆けて本邦で新薬として承認されました。その後、悪性黒色腫に続いて、肺癌、腎細胞がん、ホジキンリンパ腫、頭頸部がん、胃癌などさまざまな種類のがんに適応が拡大しています。抗PD-1抗体は、他に治療法のない末期がん患者さんの20%~30%で効果があり、がん治療の革命を起こしました。けれども残念ながら約70~80%の患者さんには効果がありません。

抗PD-1抗体の作用機序としては、がんや、がん細胞以外の正常細胞(免疫細胞や血管内皮細胞を含む)上に発現するPD-L1と、キラーT細胞上のPD-1の結合を阻害することによって、キラーT細胞を活性化して抗腫瘍効果を発揮します(図2)。このため、抗PD-1抗体は、体内にがん特異的なキラーT細胞が存在する患者さんには有効ですが、体内にがん特異的キラーT細胞が存在しない場合には効果がありません。このように治療の効果は、がん細胞特異的なT細胞の分化に依存しており、このT細胞分化には大きな「個体差」が存在します。私たちはこの免疫応答の「個体差」や「多様性」が生まれるメカニズムに興味を持っていま

す。

T細胞分化と「個体差」

T細胞分化のモデルとして、2つの仮説があります(図3)。一つは、ナイーブT細胞が活性化して、エフェクターT細胞となり、大部分は細胞死に至りますが、一部が生き残って記憶T細胞(memory T cell)になるというモデルです。もう一つはナイーブT細胞からエフェクターT細胞をへずに直接メモリーT細胞に分化するというモデルです。

T細胞分化の代表的な実験モデルとしてLCMV感染があります。LCMV Armstrong株による急性感染では機能的なメモリーT細胞が形成されますが、LCMV Clone 13株による慢性感染では、抗原による持続的なTCR刺激によってT細胞が疲弊し、機能不全な疲弊T細胞(Exhausted T cell)になります。疲弊T細胞はHIVやHBV、HCVなどの慢性感染症のほか、さまざまな腫瘍でも生じます。疲弊T細胞はPD-1を高発現することから、PD-1が機能不全の一因と考えられていますが、PD-1阻害剤を投与しても、一部の疲弊T細胞しか回復しません。これらの知見から、PD-1シグナル以外にT細胞疲弊を誘導するメカニズムが存在する可能性が示唆されています。

T細胞分化の制御については、1980年代はサイトカイン、1990年代は転写因子、2000年代はエネルギー代謝、2010年代はエピジェネティクスという大きな研究の流れがあり、近年ゲノムワイドな解析により研究が加速していますが、T細胞の記憶形成とT細胞疲弊の

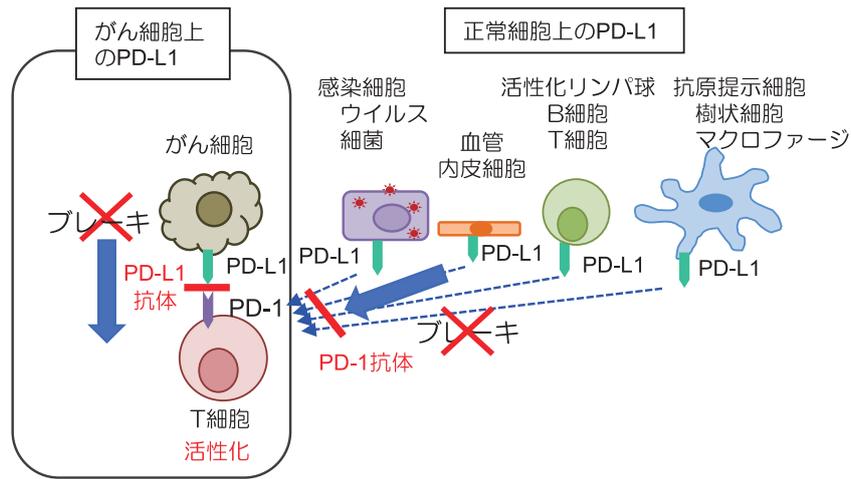


図2 PD-1抗体の作用機序

がん細胞のPD-L1はT細胞上のPD-1に結合してブレーキをかけることにより、宿主の免疫監視から逃れる³。PD-L1はがん以外の正常な細胞にも発現してT細胞活性化を抑制する⁴。このため、PD-1抗体は、がん細胞にPD-L1が発現していても抗腫瘍効果を示す。

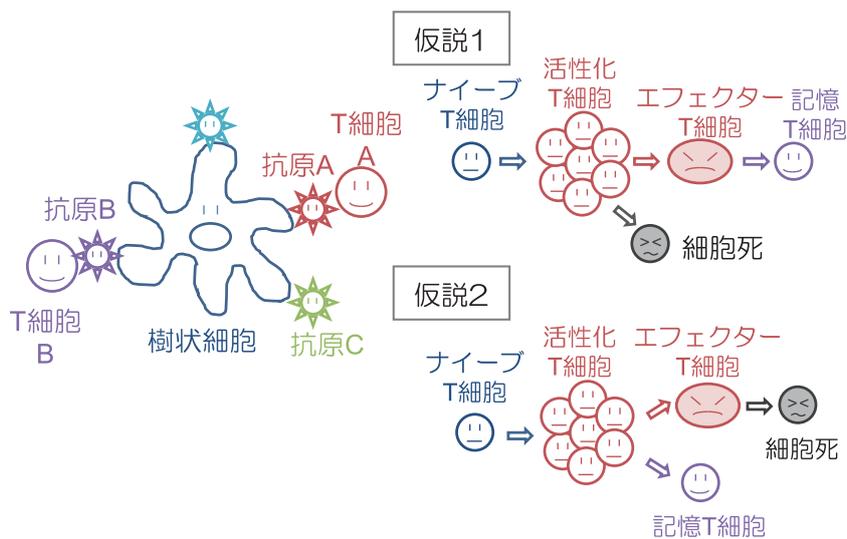


図3 記憶T細胞分化モデル

メカニズムについて完全な理解には至っていません。

一方、免疫応答には大きな個体差があります。例えば、新型コロナウイルス感染症 (COVID19) やがんに対して、免疫応答の強い人もいれば弱い人もいます。ワクチンの原理となる免疫記憶に関しても、長期間記憶を持続する人もいれば、免疫記憶ができない人や持続しない人もいます。免疫応答の個体差には遺伝的要因や環境要因の関与が推測されますが、その詳しいメカニズムはわかっていません。

本研究室では、AP-1ファミリーに属する転写因子BATFに注目して、T細胞免疫記憶に関する研究を行っています。これまでの研究で、筆者らはbioinformaticsを用いて、エフェクターT細胞と記憶

T細胞で発現の異なるBATFという転写因子を見出し、BATFがT細胞のクロマチンリモデリングによる遺伝子発現制御と同時に、細胞内エネルギー代謝とATP産生を制御することでエフェクターT細胞の分化を促進することを明らかにしてきました(図4)⁹。私たちの研究室では、免疫応答の個体差が生まれる段階を、1) 外的ストレスによる細胞内代謝の変化と、2) 細胞内代謝によるT細胞の分化制御、の2段階に分けて、T細胞分化の個体差に寄与する分子メカニズムの解明を目指して研究を進めています。これらのメカニズムを解明できれば、万人に同じ方法で治療を行うのではなく、それぞれの体質に合ったオーダーメイドの良質な医療を提供することが可能になるのではないかと

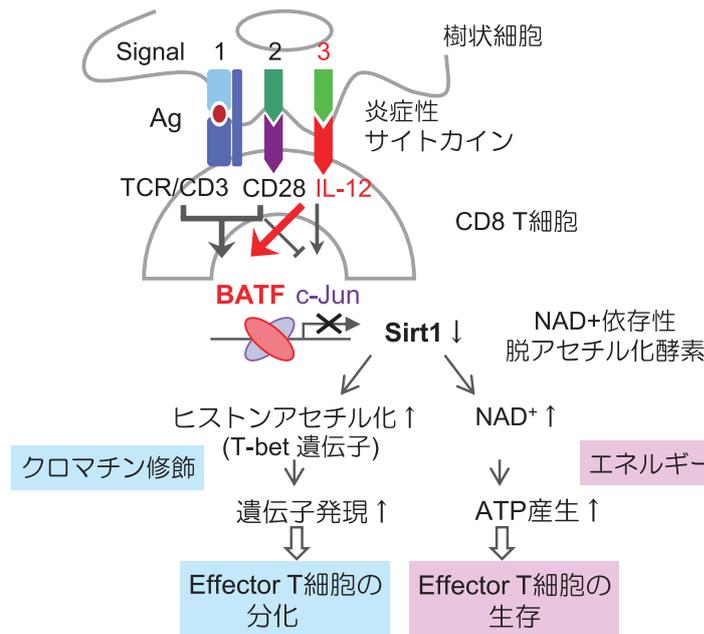


図4 BATFを介した Effector CD8T 細胞分化モデル

と考えています。

インビロイメージングシステムを用いた免疫細胞遊走の解析

生体内で多彩な生命活動を維持するためには、様々な細胞がそれぞれ適切なタイミングで適切な場所へ“動く”ことが重要です。この細胞の“動き”は細胞・臓器毎にケモカイン、補体、脂質メディエーターなどの Chemoattractant 分子によって厳密に制御されています。

細胞遊走は自己免疫疾患を含む炎症性疾患の基盤であり、その阻害療法は様々な炎症性疾患モデル動物で有効性を示し、次世代免疫療法の一つとして期待されていますが、未だ臨床に応用できるレベルに到達していません。その理由としては従来の組織・臓器固定による形態学的解析では細胞の“動き”を捉えることができないため、その遊走制御機構を解析する事が困難である事があげられます。

近年、二光子励起顕微鏡の登場で生体イメージング技術は飛躍的に進歩し、生きたマウスの組織内における細胞の“動き”をリアルタイムに観察する事が可能となりました。そこで、宮部講師は、米国留学中に、生きたマウスの関節組織をリアルタイムに解析する関節内インビロイメージングシステムを構築し、関節炎における免疫細胞の遊走制御機構の解明に挑戦してきました^{10,11}。本研究室では、この最新の技術を応用して、CNS ループス（中枢神経症状を呈する全身性エリマトーデス）における細胞遊走の制御機構や、がん転

移における免疫細胞の遊走機構の解明に取り組んでいます。

腸管免疫を標的とした新しい免疫療法

上皮は物理的なバリアとして病原体のいる外界と生体内を分けています。消化管や肺、泌尿生殖器の表面は粘液を分泌する粘膜上皮におおわれています。ヒトの小腸粘膜の表面積は約 400 m²で、皮膚の 200 倍に相当します。このように粘膜免疫系は体内の免疫組織の中で最も多くの割合を占め、第一線で環境中から侵入する病原体やその他の物質に対する生体防御を担っています。その一方で、腸管は毎日膨大な量の食物抗原に暴露されると同時に、1,000 種類以上の微生物が腸管に常在しています（常在細菌叢）。

粘膜免疫系は、脾臓やリンパ節などのリンパ組織（全身性免疫系）とくらべてユニークな特徴を有します。腸管では 1) 非感染時においても活性化・記憶 T 細胞が優位に存在する、2) 非特異的に活性化する自然リンパ球が存在する、3) 主として IgA 抗体が産生される、4) 特殊化した抗原取込み機構が存在する、5) 食物や腸内細菌に対しては免疫応答が惹起されない、ことが知られています。橋口准教授は、これまでの研究で腸管に存在する CD4T 細胞や樹状細胞は、脾臓などのリンパ組織とは異なり、大量に IL-6 を産生して、IgA 産生を促進することを明らかにしてきました。また免疫チェックポイント分子 B7-H3 に対するリガンドの同定や、モノクローナル抗体および遺伝子改変マウスの作製による機能解析を行ってきました^{12,13}。

近年、免疫チェックポイント阻害剤に対する感受性が高い患者群（レスポnder）と低い患者群（ノンレスポnder）では腸内細菌叢の構成が異なるという報告が相次いでいます¹⁴。腸管は、免疫応答の個体差、多様性が生まれる場所として魅力的な臓器です。私たちの研究室では、腸内細菌叢の多様性の結果として生じる栄養環境の多様性に注目して、細胞内エネルギー代謝による T 細胞分化の制御機構の解明を目指しています。これらのメカニズムを解明できれば、免疫チェックポイント阻害剤の有効例を見分けられるバイオマーカーや、免疫チェックポイント阻害剤の無効例に対する新たな治療法の開発につながると考えています。

最後に

真理に近づき大発見に至る過程では、無理なく、極めて明朗で、美しい実験結果が得られます。私たちの研究室では、生命現象に対しても、人間関係においても「誠実」であることを重んじ、「美しい」研究を心がけたいと思います。

大学院時代に行った基礎医学研究は、ニボルマブの開発へとつながり、ニボルマブは世界的ながん治療のパラダイムシフトを起こしました。この貴重な経験を通して、ノーベル賞は雲の上の出来事ではなく、私のような平凡な人間でもごく身近に起こりうることを実感しました。学生さんには夢を持って挑戦し、研究の楽しさを知ってもらいたいと考えています。科学的な疑問は尽きることがありません。免疫チェックポイント阻害剤の開発は一つの通過点として、さらなる探究を続けたいと思っています。

研究を進めるうえで、素晴らしい研究環境を整えてくださった日本医科大学および法人の関係者の皆様にご場をお借りして厚く御礼申し上げます。現在、本学消化器外科から安藤先生、高野先生が大学院生として研究に参加してくれています。非常に熱心に研究に取り組む姿勢を見て、日々感動し、刺激を受けています。日本医科大学の将来を担う人材を多く輩出できるように努力したいと思っております。今後ともご指導ご鞭撻を賜りますようよろしくお願い申し上げます。

Conflict of Interest : 開示すべき利益相反はなし。

文 献

1. Nishimura H, Nose M, Hiai H, et al.: Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity* 1999; 11: 141-151.

2. Iwai Y, Okazaki T, Nishimura H, et al.: Microanatomical localization of PD-1 in human tonsils. *Immunol Lett* 2002; 83: 215-220.
3. Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, et al.: Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 12293-12297.
4. Iwai Y, Terawaki S, Ikegawa M, et al.: PD-1 inhibits antiviral immunity at the effector phase in the liver. *J Exp Med* 2003; 198: 39-50.
5. Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, et al.: Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med* 2000; 192: 1027-1034.
6. Latchman Y, Wood CR, Chernova T, et al.: PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol* 2001; 3: 261-268.
7. Leach DR, Krummel MF, Allison JP: Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 1996; 271: 1734-1736.
8. Iwai Y, Terawaki S, and Honjo T: PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells by enhanced recruitment of effector T cells. *Int Immunol* 2005; 17: 133-144.
9. Kuroda S, Yamazaki M, Abe M, et al.: Basic leucine zipper transcription factor, ATF-like (BATF) regulates epigenetically and energetically effector CD8 T-cell differentiation via Sirt1 expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 14885-14889.
10. Miyabe Y, Miyabe C, Murooka TT, et al.: Complement C5a Receptor is the Key Initiator of Neutrophil Adhesion Igniting Immune Complex-induced Arthritis. *Sci Immunol* 2017; 2: aaj2195.
11. Miyabe Y, Miyabe C, Mani V, et al.: Atypical complement receptor C5aR2 transports C5a to initiate neutrophil adhesion and inflammation. *Sci Immunol* 2019; 4: eaav5951.
12. Hashiguchi M, Kobori H, Ritprajak P, et al.: Triggering receptor expressed on myeloid cell-like transcript 2 (TLT-2) is a counter-receptor for B7-H3 and enhances T cell responses. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 10495-10500.
13. Ritprajak P, Hashiguchi M, Tsushima F, et al.: Keratinocyte-associated B7-H1 directly regulates cutaneous effector CD8+ T cell responses. *J Immunol* 2010; 184: 4918-4925.
14. Jobin C: Precision medicine using microbiota. *Science* 2018; 359: 32-34.

(受付 : 2021 年 8 月 20 日)

(受理 : 2021 年 9 月 21 日)

日本医科大学医学会雑誌は、本論文に対して、クリエイティブ・コモンズ表示 4.0 国際 (CC BY NC ND) ライセンス (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>) を採用した。ライセンス採用後も、すべての論文の著作権については、日本医科大学医学会が保持するものとする。ライセンスが付与された論文については、非営利目的で、元の論文のクレジットを表示することを条件に、すべての者が、ダウンロード、二次使用、複製、再印刷、頒布を行うことが出来る。