

様式(8)

論文内容要旨

題目 PD-1 aborts the activation trajectory of autoreactive CD8⁺ T cells to prohibit their acquisition of effector functions

(PD-1 は自己反応性 CD8 陽性 T 細胞の活性化経路を遮断して細胞傷害機能の獲得を阻止する)

著者 Hikari Okamura, Ii-mi Okazaki, Kenji Shimizu, Takumi Maruhashi, Daisuke Sugiura, Reina Mizuno, Taku Okazaki
令和元年発行 Journal of Autoimmunity に掲載予定

内容要旨

抑制性免疫補助受容体 PD-1 およびそのリガンドである PD-L1 に対する阻害抗体が様々のがん腫に対して劇的な治療効果を示し、がん免疫療法に革新を与えたが、その奏効率は多くのがん腫において 20~30% にとどまり、奏効率の向上が大きな課題となっている。また、一部の患者において副作用として自己免疫疾患の発症が認められることから、その予防と治療が大きな問題となっている。がんに対する治療効果を向上し、副作用を回避するためには、腫瘍の排除および自己組織の傷害に至る機序を詳細に理解する必要がある。

近年、個々の細胞の機能を個別に評価する一細胞解析の技術が進歩し、様々な分野で活用されている。PD-1 阻害により、腫瘍および自己組織に応答する T 細胞が活性化され、がん細胞および実質細胞が傷害されると一般的に考えられているが、これまでの一細胞解析では、細胞傷害活性をほとんど有さない疲弊 T 細胞の増加が報告されており、がんに対する治療効果や副作用の発症を説明する結果は得られていない。

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 細胞による臍 β 細胞の傷害が開始され、15 週齢頃より一部のマウスが I 型糖尿病を発症し、50 週齢頃までに約 50% のマウスが I 型糖尿病を発症する。PD-1 は自己反応性 T 細胞による臍 β 細胞の傷害を強く抑制しており、10 週齢の NOD マウスに PD-1 あるいは PD-L1 阻害抗体を投与すると臍 β 細胞の傷害が促進され、1 週間以内にほとんどのマウスが劇症型の I 型糖尿病を発症する。

本研究では、自己反応性 T 細胞の活性化状態に PD-L1 阻害抗体が与える影響を一細胞解析により評価し、PD-1 阻害による自己免疫疾患発症機序を細胞レベルで解明することを目的とした。まず、CD4 あるいは CD8 陽性 T 細胞を除去

様式(8)

した後に PD-L1 抗体を投与したところ、CD8 陽性 T 細胞を除去した際には劇症型 I 型糖尿病の発症が回避されたことから、PD-1 阻害による劇症型 I 型糖尿病には主に CD8 陽性 T 細胞が関与することを明らかとした。そこで、抗体投与前に脾臓に浸潤している PD-1 陽性 CD8 陽性 T 細胞を PD-1 により抑制を受けている細胞、抗体投与後の PD-1 陽性 CD8 陽性 T 細胞を PD-1 の抑制を回避して活性化している細胞と考え、各々の単一細胞を調整し、各単一細胞における免疫関連遺伝子の発現量を定量性 PCR 法にて定量した。

遺伝子発現の違いをもとに、K-means⁺⁺法を用いて各単一細胞を 6 個のクラスターに分類した。次に、Monocle2 法を用いて擬似時間解析を行い、各クラスターの細胞が変化する経路を推定した。その結果、自己反応性 CD8 陽性 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た。細胞傷害機能が 3 段階目で獲得されることから、PD-1 は細胞傷害機能の獲得を阻止していると考えられた。また、NOD マウスにおける脾 β 細胞の破壊の程度が、高活性化クラスターの割合と相關することを明らかにした。さらに、データベースに登録されている悪性黒色腫の患者サンプルにおける遺伝子発現を解析し、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確認された。

今回の研究により、PD-1 が T 細胞の活性化経路を遮断して自己免疫疾患の発症およびがんの排除を阻害していることが明らかとなった。PD-1 による免疫抑制メカニズムの詳細な理解が、より効果的かつ安全な治療法の開発につながると期待される。

論文審査の結果の要旨

報告番号	甲医第 1424 号	氏名	岡村 陽香里
審査委員	主査 安友 康二 副査 片桐 豊雅 副査 久保 宜明		

題目 PD-1 aborts the activation trajectory of autoreactive CD8⁺ T cells to prohibit their acquisition of effector functions

(PD-1 は自己反応性 CD8 陽性 T 細胞の活性化経路を遮断して細胞傷害機能の獲得を阻止する)

著者 Hikari Okamura, Il-mi Okazaki, Kenji Shimizu, Takumi Maruhashi, Daisuke Sugiura, Reina Mizuno, Taku Okazaki
令和元年 7 月 2 日 Journal of Autoimmunity に発表済み
(主任教授 岡崎 拓)

要旨 抑制性免疫補助受容体である programmed cell death 1(PD-1)およびそのリガンドである programmed cell death 1 ligand 1(PD-L1)に対する阻害抗体が様々ながん腫に対して劇的な治療効果を示し、がん免疫療法に革新を与えたが、その奏効率は多くのがん腫において 20~30% にとどまり、奏効率の向上が大きな課題となっている。また、一部の患者において副作用として自己免疫疾患の発症が認められることから、その予防と治療が大きな問題となっている。がんに対する治療効果を向上し、副作用を回避するためには、腫瘍の排除および自己組織の傷害に至る機序を理解する必要があるが、PD-1 阻害が T 細胞の活性化状態に与える影響は、依然、不明な点が多い。

そこで本研究では、1型糖尿病モデルマウスを用いて、自己反応性 T 細胞の活性化状態に PD-L1 阻害抗体が与える影響を一細胞解析により評価した。得られた結果は以下の通りである。

1. 糖尿病未発症の NOD マウスに PD-L1 阻害抗体を投与した際

に認められる劇症型 1 型糖尿病には、CD8 陽性 T 細胞が主に関与していた。

2. ランゲルハンス島に浸潤する CD8 陽性 T 細胞は、4 段階に活性化が制御されていた。
3. PD-1 は自己反応性 T 細胞の段階的な活性化を 2 段階目で止めることにより、細胞傷害能の獲得を阻止した。
4. 膵 β 細胞の破壊の程度が、高活性化クラスターの割合と相關した。
5. 悪性黒色腫の患者サンプルにおいて、PD-1 阻害療法が奏効した例では、マウスで観察した T 細胞の段階的な活性化がより進んでいる傾向を示した。

以上の結果より、T 細胞の活性化が段階的に進むこと、及び PD-1 は T 細胞の活性化を完全に阻害しているのではなく、途中の段階で止め、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明らかとなった。本研究は、今後のがん免疫療法の発展に大きく寄与するものであり、その社会的意義は大きく学位授与に値すると判定した。