

総説

分子イメージングが拓く免疫チェックポイント受容体の T細胞活性化制御機構

横須賀 忠^{1)*} 若松 英¹⁾ 秦 喜久美¹⁾
矢那瀬紀子¹⁾ 竹原 朋宏^{1,2)} 町山 裕亮¹⁾

¹⁾東京医科大学免疫学分野

²⁾慶應大学医学部呼吸器内科

要約：T細胞が抗原提示細胞から情報を取得したり、がん細胞などの標的細胞を殺傷する際、「免疫シナプス」という接着面を形成する。免疫シナプスは、T細胞受容体 (TCR) や副刺激受容体、接着分子が集まるT細胞活性化の場である。免疫シナプスでは、TCRが下流のシグナル伝達分子と共に集まり、「マイクロクラスター」というT細胞活性化の単位=シグナルソームを形成する。同様に免疫チェックポイント分子PD-1やCTLA-4もそれぞれ特徴的な抑制制御機構を持つマイクロクラスターを形成する。これらシグナル伝達分子のクラスタリングはシグナルのオンを、解離はオフを意味している。免疫シナプスでは、さまざまなマイクロクラスターが時間的空間的に形成されては消滅しそれらが協調的にT細胞の活性化を調節している。抗PD-1抗体はTCRの活性化クラスターには影響せず、PD-1の抑制性クラスターを解離させることでT細胞の疲弊を解除する。マイクロクラスターは、B、NK、NKT細胞など抗原認識受容体を持つ細胞に共通したシグナル伝達機構の基礎となっている。

東邦医学会誌 65(3) : 132-135, 2018

KEYWORDS : immune check point, immunological synapse, TCR microcluster

はじめに

ヒト型抗PD-1/PD-L1抗体による予想以上の抗腫瘍効果が報告されて以来、がん治療における免疫療法の地位は劇的に向上し、いまや標準療法の選択順すら変わろうとしている。症例の増加と共に実臨床からの疫学研究結果の報告は増えているが、その一方で、チェックポイント療法はなぜ奏効するのか? そのメカニズムに関しては未解決な点も多い。治療最適化に必要なバイオマーカーと患者選択の問題、継続投与と対費用効果の問題、コスト削減や有効性を高めるための複合免疫療法の可能性など、多くの課題が存在する。これらを確実に解決して行くためにも、チェック

ポイント分子に関する基礎研究は生物学的かつ臨床的に重要であり、この総論では、イメージング・生化学的視点からわれわれが明らかにしてきた研究成果を概説する。

免疫チェックポイント分子 = T細胞抑制性副刺激受容体

ナイーブT細胞の活性化には、1) TCR、2) 副刺激受容体、3) サイトカイン受容体からの活性化シグナルが必要であり、それぞれの活性化シグナルに対応する抑制性シグナルによって制御されている。副刺激受容体は、TCRの抗原特異的なシグナルを増強するか減弱させるか、増幅装置の役目をしているが、その中でも抑制性の副刺激受容

1) 〒160-8402 東京都新宿区新宿 6-1-1
2) 〒160-8582 東京都新宿区信濃町 35
受付 : 2018年6月22日

DOI: 10.14994/tohoigaku.2018-028
東邦医学会雑誌 第65巻第3号, 2018年9月1日
ISSN 0040-8670, CODEN: TOIZAG

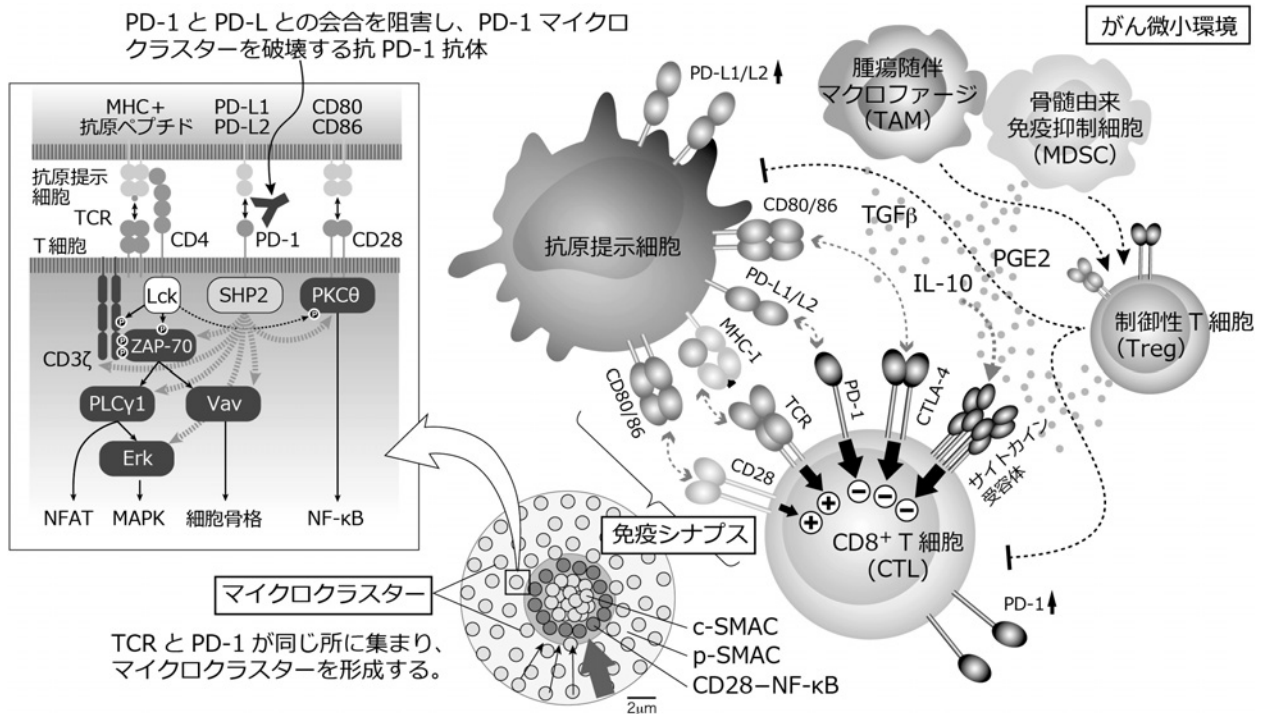


図1 がん微小環境により誘導されるPD-1と免疫シナプスでのPD-1によるT細胞シグナル抑制機構(文献²⁻⁴)より引用改変)

がんが腫瘍塊として成長すると、がん細胞などから分泌される抑制性サイトカインによって腫瘍随伴マクロファージ(TAM)や骨髄由来免疫抑制細胞(MDSC)、制御性T細胞(Treg)などの免疫抑制細胞の分化が促進し、いわゆる「がん微小環境」が構築される。このTGFβ, IL-10, プロスタグランジンE2(PGE2)など抑制性サイトカインが豊富な環境では、本来腫瘍を攻撃するCD8⁺T細胞(CTL)上のPD-1の発現、またがん抗原を提示する樹状細胞などの抗原提示細胞上のPD-L1の発現が増加する。その結果、TCRやCD28などの活性化シグナルよりもPD-1などの抑制性シグナルの方が優位となり、T細胞は「疲弊(消耗)」状態に陥る(図1右)。

T細胞と抗原提示細胞との間には「免疫シナプス」と呼ばれるTCRによる抗原認識と活性化の場が作られ、TCRはもとより副刺激受容体、またその下流のシグナル伝達分子群が集まり「マイクロクラスター」と呼ばれるシグナルソームを形成する。PD-1もTCRと同様に、リガンドとの結合を契機にPD-1マイクロクラスターを形成し、フォスファターゼSHP2をリクルートすることでTCRマイクロクラスターに集まるシグナル伝達分子を受容体ごと脱リン酸化する。免疫チェックポイント療法で用いられる抗PD-1抗体などは、このPD-1マイクロクラスターを解離させる働きがあり、それによってSHP2によるTCRマイクロクラスターの脱リン酸化反応が解除され、T細胞の疲弊状態も解消、強力ながん免疫応答が誘導される(図1左)。

体の一群がT細胞活性化のオン/オフを決める運命決定因＝「免疫チェックポイント分子」といわれ、CTLA-4やPD-1などがある¹⁾。

免疫チェックポイント療法が登場する前、がん免疫療法の大きな流れとして、がん抗原を対象としたペプチドワクチンの開発があった。しかし、がん細胞は遺伝子変異を繰り返しながら増殖するため、がん種や患者間のゲノムの個体差や、腫瘍塊の中のそれぞれのがん細胞のゲノムの変化に対応するのは非常に難しい。免疫チェックポイント療法では、むしろこのがん抗原の特異性は全て、理論上¹⁶⁾とも言われるTCRレパトアの多様性に任せ、潜在的にわれわれのからだに備わっている免疫応答を増強させるだけの賢い方法である。

T細胞活性化の場「免疫シナプス」とT細胞シグナルソーム「マイクロクラスター」

細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte: CTL)が抗原提示細胞からの抗原提示を受けエフェクター細胞であるCTLへ分化するプライミング相でも、CTLがパーフォリンとグランザイムを使ってがん細胞を傷害するエフェクター相でも、T細胞と標的細胞との接着面には、TCRによるがん抗原の認識とシグナル伝達に必要な「免疫シナプス(immunological synapse)」が形成される(図1中央)。細胞膜近傍の50~400nmのみを可視化できる全反射蛍光顕微鏡(TIRFM)と抗原提示人工脂質二重膜(プレイナーメンブレン)を用いると、TCR20~30個からなる凝集体＝「TCRマイクロクラスター」が免疫シナプスを構成し

ていることが観察される (図1中央)⁵⁾。TCR マイクロクラスターは、TCR 下流のキナーゼ ZAP-70 やアダプター分子 SLP-76, LAT などのシグナル伝達分子が一過性にリクルートしシグナルを伝える T 細胞活性化のユニット = シグナルソームである。このユニットが免疫シナプスでどのように形成されるか、数や大きさや持続時間などの時空間的な因子によって T 細胞の活性化が決定される (図1左)。

PD-1 抑制はいつどこで効いているか

PD-1 は、一度活性化した (エフェクター) T 細胞の他、活性化 B 細胞、疲弊 T 細胞、濾胞 T 細胞、制御性 T 細胞、NKT 細胞、活性化した骨髄系樹状細胞や単球に発現している。また TCR 刺激後わずか数時間で T 細胞表面上に現れる。リガンドには PD-L1 と PD-L2 とがあり、PD-L1 は T/B 細胞、マクロファージ、骨髄系樹状細胞、リンパ球系樹状細胞、骨髄肥満細胞などのリンパ球系細胞の他に、血管内皮や腸管上皮などにも広く恒常的に発現し、一方 PD-L2 は GM-CSF, IFN γ , IL-4, γ サイトカイン, TNF α などの刺激を受け、骨髄系樹状細胞、リンパ球系樹状細胞、マクロファージ、B-1 B 細胞、骨髄マスト細胞など主にプロフェッショナル抗原提示細胞に限って発現する (図1右)。よって、PD-1 を介した T 細胞抑制は、炎症部位やがん微小環境などさまざまな場所、またナイーブ T 細胞のプライミング相から標的細胞の殺傷に関わるエフェクター相、ヘルパー T 細胞の分化など、さまざまな時相に寄与している (図1右)。

PD-1 の抑制性マクロクラスターと チェックポイント療法

PD-1 の細胞内領域には、二つのチロシン残基モチーフ ITSM (TxYxxL/I) と ITIM (S/I/V/LxYxxI/V/L) があり、リガンドと結合すると Src ファミリーキナーゼ Lck によってリン酸化され、脱リン酸化酵素 SHP2 と共に PD-1—SHP2 クラスターを形成する。SHP2 は PD-1 のクラスター形成とほぼ同時に一過性にリクルートする。しかも PD-1 と TCR は同じ場所にクラスターを形成するため、同じ時間軸でリクルートして来る TCR 下流のシグナル伝達分子を、TCR マイクロクラスターで脱リン酸化する。このとき免疫チェックポイント療法として用いられている抗 PD-1 抗体や抗 PD-L1 抗体を加えると、PD-1 マイクロクラスターは解離し、脱リン酸化反応もキャンセルされる。一方、TCR マイクロクラスターの形成にはこれらの抗体は全く影響せず、リン酸化は維持され、T 細胞の活性化は継続される⁶⁾。これが、効果的に T 細胞の疲弊状態のみを解除するメカニズムである (図1左)。

昨年の Science 論文で、カリフォルニア大学生物物理学

の Vale らは、PD-1 の標的が CD28 であると報告した⁷⁾。人工小胞を用いた *in vitro* アッセイで PD-1 が CD3 ζ よりも CD28 の細胞内領域を効率良く脱リン酸化すること、また TCR よりも CD28 と PD-1 のクラスターがより共局在することがその根拠である。ただ、1) 人工小胞上の PD-1 による脱リン酸化はリガンドがない実験系であること、2) 内在性の TCR と、過剰発現させた PD-1 と CD28 を可視化していること、3) TCR と PD-1 の観察時間のずれなど、矛盾する点も多い。確実に言えることは、リガンド結合がないとき、つまり静止 (resting) 期の T 細胞における PD-1 の標的が TCR/CD3 ではなく CD28 の細胞内領域であるということであり、チェックポイント療法が標的とする PD-1—PD-L1/L2 の結合がある状況は想定できていない。CD28 研究の歴史は長く、TCR 刺激と共に PI3K—Akt—mTOR 経路と NF- κ B 経路を惹起することは知られているが、TCR 刺激がない時の CD28 固有のシグナルは定かではない。ゆえに、PD-1 が直接 CD28 のシグナルを遮断するのか、TCR シグナルを遮断した結果、間接的に CD28 のシグナルが減弱するのかの区別は困難であり、直接的な標的と断言するにはさらなる実験が必要である。

おわりに

本稿では PD-1 の T 細胞抑制機構につき述べたが、もう一つの免疫チェックポイント分子 CTLA-4 は、従来から知られているように脱リン酸化酵素を介して T 細胞に抑制性シグナルを伝えるのではなく、免疫シナプスで CD28 マイクロクラスターが形成する NF- κ B 経路の活性中心を破壊することで T 細胞抑制に寄与する。一方 CTLA-4 には非定型プロテインキナーゼ PKC η が会合し、細胞接着シグナルを上昇させることで、CTLA-4 と CD28 のリガンドである CD80/CD86 をトランスエンドサイトーシスし抗原提示細胞から奪取する現象も明らかになってきた⁸⁾。ゆえに、PD-1 や CTLA-4 は時間的にも空間的にもさまざまな方法で、がん免疫応答を破綻させる。チェックポイントによる免疫制御機構の真のメカニズムを解明し、Cancer-immune cycle の異なる場所、時相、機序で免疫賦活に繋がる治療を複合させられれば、さらに効果的ながん免疫療法への進展が期待できると考える。

文 献

- 1) Sharpe AH. Introduction to checkpoint inhibitors and cancer immunotherapy. *Immunol Rev*. 2017; 276: 5-8.
- 2) 横須賀忠, 若松 英, 古畑昌子, 豊田博子, 秦喜久美, 矢那瀬紀子, ほか. T 細胞活性化の時空間的制御機構. *生物物理* 2018; 36: 1445-51.
- 3) Badr MESG, Furuhashi M, Toyoda H, Yokosuka T. The multifaceted role of PD-1 in health and disease. *Chronic inflammation*. Springer, 2016. p. 441-57.

- 4) 横須賀忠. T細胞におけるPD-1の生理機能と分子基盤. 腫瘍内科 2014; 14: 419-26.
- 5) Yokosuka T, Sakata-Sogawa K, Kobayashi W, Hiroshima M, Hashimoto-Tane A, Tokunaga M, et al. Newly generated T cell receptor microclusters initiate and sustain T cell activation by recruitment of Zap70 and SLP-76. *Nat Immunol.* 2005; 6: 1253-62.
- 6) Yokosuka T, Takamatsu M, Kobayashi-Imanishi W, Hashimoto-Tane A, Azuma M, Saito T. Programmed cell death 1 forms negative costimulatory microclusters that directly inhibit T cell receptor signaling by recruiting phosphatase SHP2. *J Exp Med.* 2012; 209: 1201-17.
- 7) Hui E, Cheung J, Zhu J, Su X, Taylor MJ, Wallweber HA, et al. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition. *Science.* 2017; 355: 1428-33.
- 8) Kong KF, Fu G, Zhang Y, Yokosuka T, Casas J, Canonigo-Balancio AJ, et al. Protein kinase C- η controls CTLA-4-mediated regulatory T cell function. *Nat Immunol.* 2014; 15: 465-72.