

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K08806

研究課題名（和文）自己免疫疾患に対する新規T細胞選択的共刺激調節薬の開発

研究課題名（英文）Development of novel T cell-selective costimulatory modulator for autoimmune diseases

研究代表者

鈴木 勝也（SUZUKI, Katsuya）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・准教授

研究者番号：70306695

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：抑制性免疫チェックポイント分子であるTIGITを標的とした新規T細胞選択的共刺激分子調節薬の有効性の検証を行い、全身性自己免疫疾患の新たな画期的な治療法のプレクリニカルなデータを取得した。ヒトTIGITを標的とした介入は、全身性自己免疫疾患の病態と関連の強いTfh細胞、Tph細胞の機能を抑制し、制御性T細胞の活性を増強する機序を新たに提唱した。全身性自己免疫疾患の制御を目指す新規治療薬の開発およびT細胞選択的共刺激分子調節による新規の分子機構の提唱の2点において重要な研究成果と考えている。

研究成果の学術的意義や社会的意義  
全身性自己免疫疾患の制御を目指す新規治療薬の開発およびT細胞選択的共刺激分子調節による新規の分子機構の提唱の2点において重要な研究成果と考えている。本研究成果が全身性自己免疫疾患治療の発展に役立つことが期待される。

研究成果の概要（英文）：We validated efficacy of novel T-cell-selective co-stimulatory molecule modulator targeting TIGIT, an inhibitory immune checkpoint molecule and obtained pre-clinical data for novel breakthrough treatments for systemic autoimmune diseases. Interventions targeting human TIGIT have proposed a new mechanism that suppresses the function of Tfh and Tph cells and enhances the activity of regulatory T cells, which are strongly associated with the pathogenesis of systemic autoimmune diseases. We believe that this is an important research achievement in two respects: the development of novel therapeutic agents aimed at the control of systemic autoimmune diseases, and the proposal of a novel molecular mechanism by T cell-selective co-stimulatory molecule regulation.

研究分野：内科学（リウマチ・膠原病）

キーワード：自己免疫疾患 T細胞 共刺激調節薬 創薬 抗体医薬 治療

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

全身性自己免疫疾患は、遺伝および環境要因に加え、自己抗体や免疫複合体の産生に続く多彩な免疫細胞の活性化から全身性炎症が生じ、組織障害をきたす疾患である。分子標的薬の登場により治療成績は格段に向上したが、寛解を治療目標とすると依然として改善の余地がある。全身性自己免疫疾患の病態解明およびより特異的で副作用の少ない治療法の確立は主要かつ急務な研究課題である。

全身性自己免疫疾患では、自己と非自己を区別する免疫寛容が何らかの原因で破綻している状態にあると考えられている。免疫寛容には中枢性と末梢性があり、胸腺あるいは末梢組織においてT細胞の活性化は免疫系により厳密な制御を受けている。T細胞は抗原提示細胞上の抗原を特異的に認識するとともに免疫チェックポイント分子からの補助シグナルにより正負の調節を受けている。免疫寛容に関わる制御性T細胞や免疫チェックポイント分子の全身性自己免疫疾患における異常の解明をさらに進め、異常活性化T細胞や制御性T細胞を標的とした病態のより上流で免疫寛容の破綻状態を回復させる治療法の確立にむけた研究こそが、根本的な全身性自己免疫疾患の制御に不可欠である。

本研究課題では、研究代表者および共同研究者が開発した抑制性免疫チェックポイント分子であるTIGIT (T cell immune receptor with Ig and ITIM domains)を標的とした活性化抗体薬により、T細胞選択的に免疫活性化を調節し、全身性自己免疫疾患の制御を目指す。本治療薬は、抗原を認識している活性化T細胞を主要な標的として抑制するアプローチで、メトトレキサートに代表される細胞内代謝経路を標的とした低分子化合物や細胞間ネットワークを標的としている既存のサイトカインシグナル阻害治療薬とは、標的細胞とメカニズムが異なる。既存薬と比較して標的となる細胞の選択性が高く、特異性および安全性の観点から独自性と創造性が高いと考えた。

### 2. 研究の目的

抑制性免疫チェックポイント分子を標的とした新規T細胞選択的共刺激分子調節薬の有効性の検証を行い、全身性自己免疫疾患の新たな画期的な治療法の確立を目指す。

### 3. 研究の方法

#### (1) ヒトT細胞上のTIGIT分子発現割合の測定

健常人および全身性自己免疫疾患患者の末梢血を採取し、T細胞亜分画における抑制性免疫チェックポイント分子であるTIGITおよびPD-1分子の発現割合をフローサイトメトリーで測定した。これらの割合と各疾患の活動性指標の相関を解析した。

#### (2) ヒト(h)TIGITノックインマウスおよび抗hTIGITアゴニスティック抗体の作成および評価

hTIGITノックインマウスおよび抗hTIGITアゴニスティック抗体は共同研究先より分与されたものを用いた。hTIGITアゴニスティック抗体の最終スクリーニングにはヒト濾胞性ヘルパーT(Tfh)細胞の増殖抑制能をin vitroで測定した。

#### (3) hTIGITノックインマウスを用いたin vivo評価

hTIGITノックインマウスに百日咳毒素とミエリンオリゴデンドロサイト糖タンパク質由来ペプチドを用いて誘導した実験的脳脊髄炎モデルにより、hTIGITアゴニスティック抗体およびアイソタイプコントロール抗体の2群における臨床スコアを経時的に比較した。さらにイミキモド誘導ループモデルにより、アイソタイプコントロール抗体、イミキモド塗布+hTIGITアゴニスティック抗体、イミキモド塗布+アイソタイプ抗体の3群におけるT細胞亜分画割合、B細胞割合、抗ds-DNA抗体価を測定し評価した。

#### (4) ヒトおよびマウス細胞を用いたin vitro評価

抗hTIGITアゴニスティック抗体の作用の詳細を調べるため、ヒトTfh細胞/B細胞の共培養系を用いてB細胞抑制効果を測定した。さらに制御性T細胞の機能に対する影響を共培養系による抑制アッセイにより評価をした。

### 4. 研究成果

#### (1) ヒトT細胞上のTIGIT分子発現割合の測定

健常人および全身性自己免疫疾患患者の末梢血T細胞亜分画におけるTIGIT分子発現割合の測定したところ、ナイーブT細胞に比べて、メモリーT細胞において発現が高く、さらにTfh細胞およびPeripheral helper T (Tph)細胞で高率に発現が認められた。また、健常人に比較して全身性自己免疫疾患患者のCD4+T細胞で発現割合が有意に上昇していた。一方CD8+T細胞では変化を認めなかった。次に、T細胞亜分画におけるTIGITおよびPD-1の発現割合と関節リウマチおよび全身性エリテマトーデスの活動性の相関をみると発現割合の高いTph分画等と強い正の相関が認められ、TIGIT分子発現割合の高い細胞亜分画が疾患と関連する可能性が示唆された。

#### (2) hTIGITノックインマウスおよび抗hTIGITアゴニスティック抗体の作成および評価

hTIGITノックインマウスはマウスのTigit遺伝子領域をヒト由来のTIGITcDNAに置き換え作

成された。また、抗 TIGIT アゴニスティック抗体は recombinant human TIGIT-His-mFc タンパク質をマウスに免疫し、マウスリンパ節細胞を採取しハイブリドーマを作成した。培養上清を ELISA 法にてスクリーニングした。アゴニスティック活性はヒト TIGIT 発現 Jurkat T 細胞を用いてスクリーニングし、最終的にヒト細胞を用いて、最も強いアゴニスティック活性を有する M1-8 抗体を選定した。

### (3) hTIGIT ノックインマウスを用いた in vivo 評価

hTIGIT ノックインマウスを用いた実験的脳脊髄炎モデルにより、hTIGIT アゴニスティック抗体およびアイソタイプコントロール抗体の 2 群における臨床スコアを経時的に比較したところ、平均の臨床スコアは hTIGIT アゴニスティック抗体を投与した群で有意に低下が認められた。さらにイミキモド誘導ループモデルにより、アイソタイプコントロール抗体、イミキモド塗布+hTIGIT アゴニスティック抗体、イミキモド塗布+アイソタイプ抗体の 3 群を比較したところ、hTIGIT アゴニスティック抗体投与群はイミキモド塗布+アイソタイプ抗体に比較して、Tfh、Tph 細胞割合、胚中心 B 細胞割合、形質細胞割合、抗 ds-DNA 抗体価は何も優位に低下した。興味深いことに Foxp3 高発現の制御性 T 細胞の割合は上昇が認められた。以上より、hTIGIT アゴニスティック抗体は自己免疫モデル動物において疾患を抑制できることが明らかとなった。

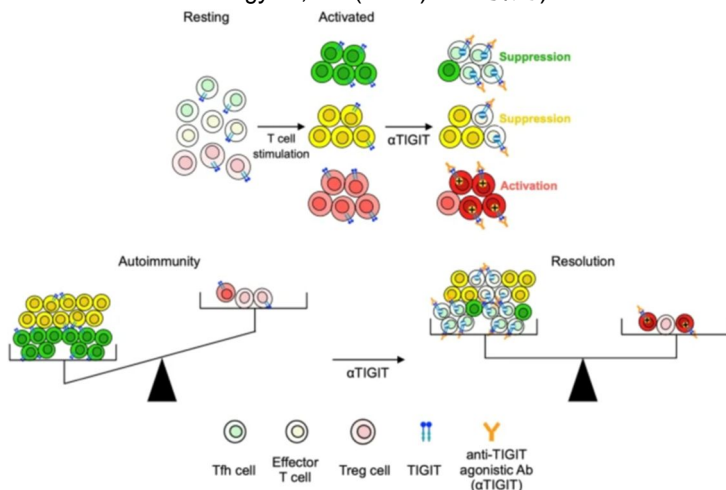
### (4) ヒトおよびマウス T 細胞を用いた in vitro 評価

次に、hTIGIT アゴニスティック抗体の作用の詳細を調べるため、ヒトにおける Tfh 細胞と形質細胞の共培養系を用いて評価を行ったところ、hTIGIT アゴニスティック抗体により Tfh 細胞と形質細胞割合および IgG 産生の有意な低下を認めた。このことから hTIGIT アゴニスティック抗体は Tfh 細胞上の TIGIT を介して B 細胞活性化を抑制する機序が想定された。さらに制御性 T 細胞の機能に対する影響を共培養系による抑制アッセイにより評価をしたところ、hTIGIT アゴニスティック抗体はレスポナー細胞に対する抑制活性を有意に上昇させた。

### (5) 本研究課題の主な成果のまとめ

本研究課題では、抑制性免疫チェックポイント分子である TIGIT を標的とした新規 T 細胞選択的共刺激分子調節薬の有効性の検証を行い、全身性自己免疫疾患の新たな画期的な治療法のプレクリニカルなデータを取得した。ヒト TIGIT を標的とした介入は、全身性自己免疫疾患の病態と関連の強い Tfh 細胞、Tph 細胞の機能を抑制し、制御性 T 細胞の活性を増強する機序を新たに提唱した。

図 1 hTIGIT アゴニスティック抗体による自己免疫病態における T 細胞バランスの制御 (Communications Biology 6,500(2023)より引用)



### (6) 国内外における位置づけとインパクト、今後の展望

全身性自己免疫疾患の制御を目指す新規治療薬の開発および T 細胞選択的共刺激分子調節による新規の分子機構の提唱の 2 点において重要な研究成果と自負している。既に国際特許申請を行っており、共同研究者ならびに関係各所と協力して、臨床試験の実施に向けて準備を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Kojima M, Suzuki K, Takeshita M, Ohyagi M, Iizuka M, Yamane H, Koga K, Kouro T, Kassai Y, Yoshihara T, Adachi R, Hashikami K, Ota Y, Yoshimoto K, Kaneko Y, Morita R, Yoshimura A, Takeuchi T.	4. 巻 6(1)
2. 論文標題 Anti-human-TIGIT agonistic antibody ameliorates autoimmune diseases by inhibiting Tfh and Tph cells and enhancing Treg cells.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Commun Biol.	6. 最初と最後の頁 500
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-023-04874-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 炎症・免疫疾患の治療薬	発明者 鈴木 勝也ほか計8名	権利者 学校法人慶應義塾、武田薬品工業
産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2021/037474	出願年 2021年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------