

令和 5 年 5 月 17 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15359

研究課題名（和文）PD-1により抑制されるT細胞の特性解明

研究課題名（英文）The features of T cells suppressed by PD-1

研究代表者

清水 謙次（Shimizu, Kenji）

東京大学・定量生命科学研究所・助教

研究者番号：60837061

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：T細胞株に抗原応答性の異なる6種類のTCRを遺伝子導入し、PD-1による抑制効果を評価した。その結果、抗原応答性の低いTCRほどPD-1による抑制を受けやすいことがわかった。また、PD-1欠損マウスでは抗原特異的T細胞の平均の抗原応答性が低下していることを明らかにした。さらに、実験的自己免疫性脳脊髄炎を誘導したマウスの脊髄に浸潤しているT細胞のTCR配列を調べた結果、PD-1阻害により増加するT細胞クローンと減少するT細胞クローンが存在することが分かった。以上の結果から、PD-1は全てのT細胞を同等に抑制するのではなく、抗原への親和性が低いT細胞を選択的に抑制することが明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、PD-1阻害薬によるがんの治療が注目を集めている。PD-1阻害薬の問題点として、自己免疫疾患様の副作用を惹き起こすことや一部の患者やがんの種類によっては効果がないことが挙げられる。この問題点を解決するためには、PD-1がT細胞活性化を抑制するメカニズムをより詳しく理解する必要がある。

本研究により、PD-1は全てのT細胞を同等に抑制するのではなく、抗原への親和性が低いT細胞を選択的に抑制することが明らかになった。これにより、T細胞応答の特異性が向上し、自己組織への望まないT細胞応答が回避されていると考えられる。本研究成果はPD-1阻害薬の改善への手がかりになると期待される。

研究成果の概要（英文）：We reconstituted TCR-deficient T cells using six distinct TCRs that recognize the same peptide-MHC complex but exhibit varying affinities for the complex. When we stimulated these cells with antigenic peptide in the presence or absence of PD-1 signaling, lower affinity TCRs showed higher sensitivity to PD-1 mediated inhibition. Then, we inoculated PD-1-deficient mice with tumor cells expressing OVA as a model antigen, and quantified the responsiveness of OVA-specific T cells. T cells from PD-1-deficient mice required higher dose of antigen to produce cytokines, indicating that T cell clones with lower affinity to antigen dominated in PD-1-deficient mice. Finally, we induced experimental autoimmune encephalomyelitis in mice with or without PD-1 blockade, and sequenced the TCRs of T cells in spinal cords. PD-1 blockade was observed to affect the frequencies of particular T cell clones to varying degrees. These results demonstrated that PD-1 preferentially inhibits low affinity T cells.

研究分野：免疫学

キーワード：T細胞 PD-1 抗原応答性 TCRレパトア

1. 研究開始当初の背景

約30年前より、日本での死因の第1位はがんとなっている。従来のがん治療法は外科療法、化学療法、放射線療法が中心であった。近年はこれらに加えて免疫療法の開発が進んでおり、特にPD-1阻害薬によるがん治療はメラノーマなどのがんに対して、化学療法よりも優れた効果を発揮している。免疫系は病原体を排除するために存在するが、過度の免疫応答は自己組織にも損傷を与えてしまう。このような過度の免疫応答を抑制する機能をもった分子が免疫抑制受容体PD-1である。一部のがんはPD-1のリガンドであるPD-L1を発現することで、T細胞からの攻撃を免れている。よって、PD-1阻害薬を投与するとT細胞ががんを攻撃できるようになり、がんの治療が可能となる。しかしながらPD-1阻害薬の問題として、自己免疫疾患に類似した症状を呈する免疫関連副作用 (immune-related adverse event : irAE) を惹き起こすことと、一部の患者やがんの種類によっては効果がないことが挙げられる。

T細胞はT細胞受容体 (TCR) を介して、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 上に提示された抗原を認識する。あらゆる抗原に対処できるように、TCRの配列はランダムに作られており、個々のT細胞は異なる抗原特異性をもっている。ある1つの抗原が免疫されたときに、いくつかのT細胞が応答を示すが、その応答性は様々である。T細胞の抗原応答性はT細胞の機能に影響を与えることが分かっている。例えば、抗原応答性の高いT細胞はB細胞からの抗体産生を促す機能に特化した濾胞性T細胞に分化しやすいことが知られている。また、自己抗原を強く認識するT細胞は胸腺において除去されるが、自己抗原を弱く認識するT細胞は末梢に分布し、自己免疫疾患を惹き起こす要因の1つとなっている。これまで、T細胞の抗原応答性とPD-1による抑制効果の関係性は明らかになっていなかった。

2. 研究の目的

本研究はPD-1による抑制効果とT細胞の抗原応答性の関係を明らかにすることを目的とする。本研究成果は、PD-1阻害薬の治療効果を投与前に予測することや、irAEの発生機序の解明および予防法の開発に役立つと期待される。

3. 研究の方法

まず、T細胞株を用いて試験管内でPD-1による抑制効果とT細胞の抗原応答性の関係を調べた。次に、マウスにがん細胞を移植し、がん細胞に特異的なT細胞の抗原応答性にPD-1の有無が与える影響を調べた。最後に、実験的自己免疫性脳脊髄炎をマウスに誘導し、PD-1阻害が脊髄に浸潤しているT細胞のTCRレパトアをどのように変化させるか調べた。

4. 研究成果

T細胞受容体 (TCR) を欠損したT細胞株に抗原応答性の異なる6種類のTCRを遺伝子導入し、PD-1による抑制効果を評価した。その結果、抗原応答性の低いTCRほどPD-1による抑制を受けやすいことがわかった (図1A)。また、同一のTCRに認識される異なるTCR親和性をもつ6種類の抗原ペプチドを用いて、PD-1による抑制効果を評価した。この場合も、TCR親和性が低いペプチドで刺激した時ほどPD-1による抑制を受けやすいことがわかった (図1B)。

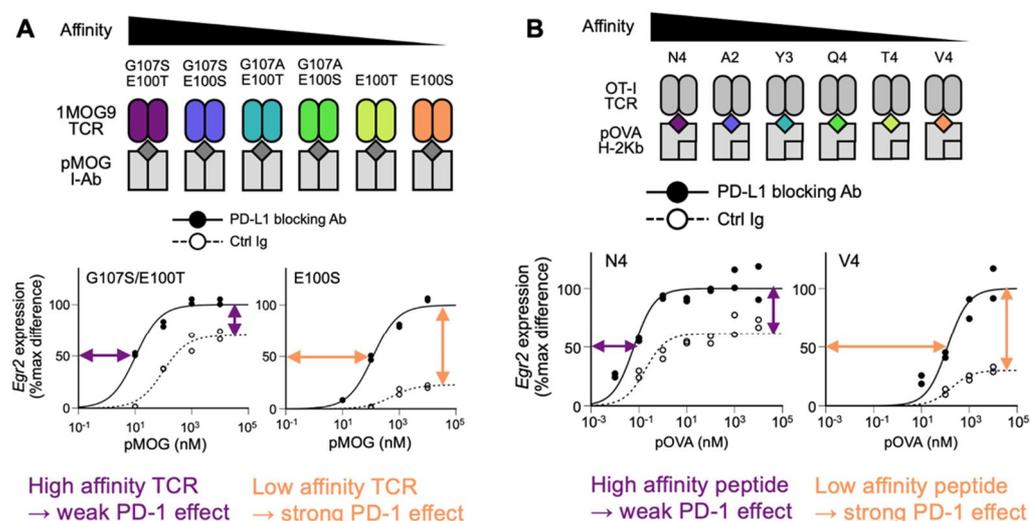


図1. TCRと抗原の親和性がPD-1の抑制効果に与える影響
(A) 同じ抗原を認識する6種類のTCRの比較。
(B) 同じTCRによって認識される6種類のペプチドの比較。

また、ニワトリオボアルブミン (OVA) を発現するがん細胞を野生型マウスと PD-1 欠損マウスに移植し、10 日後に OVA ペプチドに対する応答性をインターフェロンガンマ (IFN- γ) および腫瘍壊死因子 (TNF) 産生として評価したところ、PD-1 欠損マウスでは平均の抗原応答性が低下していることを見出した (図 2)。

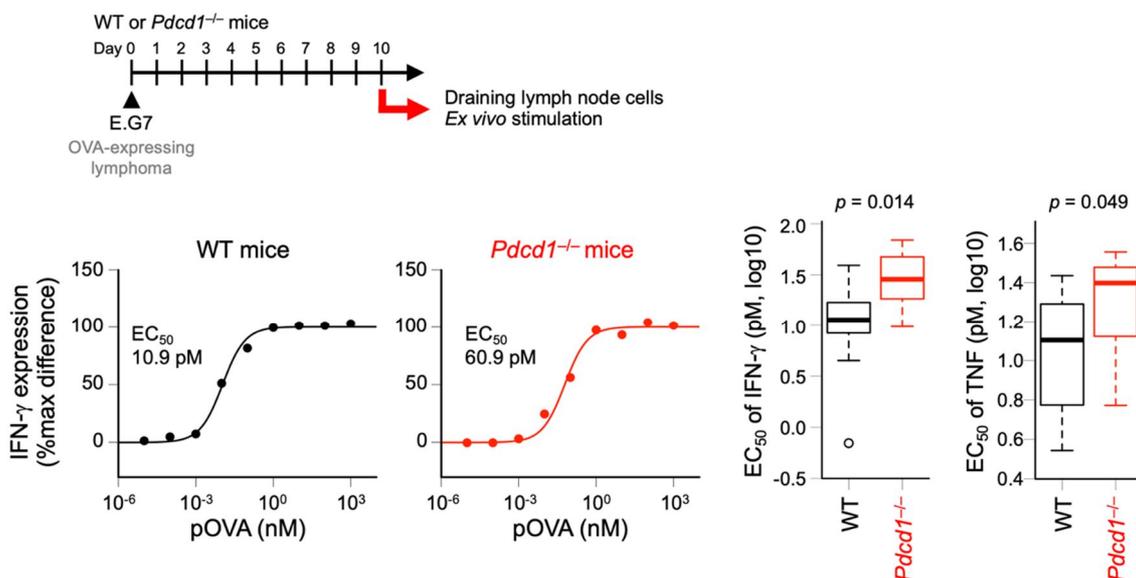


図 2. PD-1欠損マウスの抗原応答性

PD-1 欠損マウスの T 細胞が抗原に対して低い抗原応答性を示すのは、低親和性の TCR クローンが増加している可能性と、TCR シグナル経路やクロマチン状態の異常が原因になっている可能性がある。この点を明らかにするため、TCR ベータが固定されたトランスジェニックマウスに実験的自己免疫性脳脊髄炎を誘導し、PD-1 阻害が脊髄に浸潤している T 細胞の TCR アルファレパトアをどのように変化させるか調べた。その結果、PD-1 阻害により増加するクローンと減少するクローンがあることがわかった (図 3)。

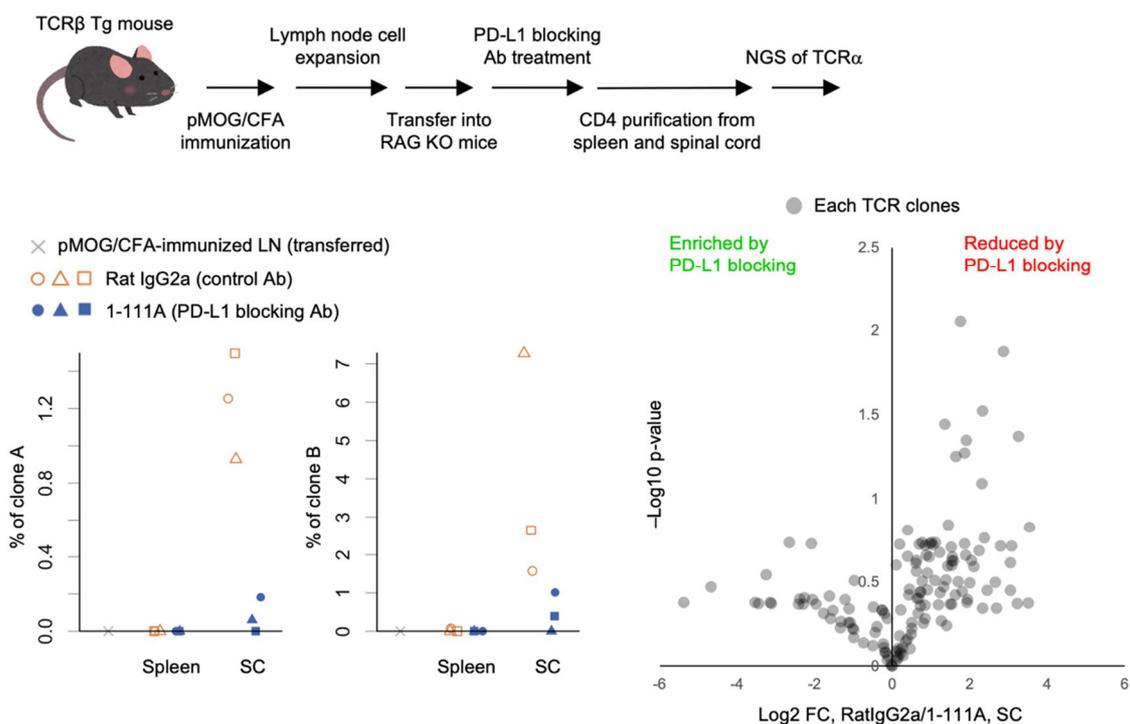


図 3. PD-1がTCRレパトアに与える影響

以上の結果から、PD-1 は全ての T 細胞を同等に抑制するのではなく、抗原への親和性が低い T 細胞を選択的に抑制することが明らかになった。これにより、T 細胞応答の特異性が向上し、自己組織への望まない T 細胞応答が回避されていると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Shimizu Kenji, Sugiura Daisuke, Okazaki II-mi, Maruhashi Takumi, Takemoto Tatsuya, Okazaki Taku | 4. 巻 118 |
| 2. 論文標題 PD-1 preferentially inhibits the activation of low-affinity T cells | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences | 6. 最初と最後の頁 e2107141118 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2107141118 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-------------------------|
| 1. 著者名 Sugiura Daisuke, Shimizu Kenji, Maruhashi Takumi, Okazaki II-mi, Okazaki Taku | 4. 巻 33 |
| 2. 論文標題 T-cell-intrinsic and -extrinsic regulation of PD-1 function | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 International Immunology | 6. 最初と最後の頁 693 ~ 698 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/intimm/dxab077 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shimizu Kenji, Sugiura Daisuke, Okazaki II-mi, Maruhashi Takumi, Okazaki Taku |
| 2. 発表標題 PD-1 preferentially inhibits the activation of low-affinity T cells |
| 3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of The Japanese Society for Immunology (国際学会) |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Shimizu Kenji, Sugiura Daisuke, Okazaki II-mi, Maruhashi Takumi, Okazaki Taku |
| 2. 発表標題 PD-1 preferentially inhibits the activation of low-affinity T cells |
| 3. 学会等名 JSICR MNCB 2022 Joint Symposium (国際学会) |
| 4. 発表年 2022年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔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 |
|---------|---------|
|---------|---------|