

## 様式(8)

## 論文内容要旨

題目 PD-1 efficiently inhibits T cell activation even in the presence of co-stimulation through CD27 and GITR

(PD-1 は CD27 および GITR を介した共刺激存在下でも T 細胞活性化を効率的に抑制する)

著者 Reina Mizuno, Takumi Maruhashi, Daisuke Sugiura, Kenji Shimizu, Mizuki Watada, Il-mi Okazaki, Taku Okazaki

平成 31 年発行

Biochemical and Biophysical Research Communications 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 (PD-1 アンタゴニスト) は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で 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。PD-1 アンタゴニストの治療効果が、治療開始前のがん免疫応答の有無に影響を受けることから、興奮性免疫補助受容体の賦活化薬との併用療法が大きな期待を集めている。これまでに、TNF 受容体スーパーファミリー (TNFRSF) に属する興奮性免疫補助受容体である CD27、4-1BB、OX40 および GITR に対する賦活化抗体 (アゴニスト) が、PD-1 アンタゴニストの治療効果を増強し得ることが前臨床試験において示され、臨床試験も開始されている。しかし、協調作用のメカニズムは解明されておらず、各 TNFRSF 分子アゴニストと PD-1 アンタゴニストが異なる細胞集団に作用するのか、同じ細胞で同時に作用するのか、あるいは同じ細胞の異なる段階に作用するのかは不明である。

T 細胞の活性化は、抗原受容体刺激に加えて、様々な免疫補助受容体を介した興奮性および抑制性の副刺激によって厳密に制御されている。抗原受容体刺激に興奮性の副刺激が加わると T 細胞は強力に活性されるが、その強力な活性化を PD-1 が抑制できるかについては、これまでに異なる結果が複数報告されており、意見が分かれている。また、興奮性免疫補助受容体の種類によって PD-1 の抑制効果が異なると予測されるが、TNFRSF 分子についてはこれまでに検討されていない。

## 様式(8)

そこで申請者は、T細胞の活性化に対するCD27及びGITRの共刺激効果を鋭敏に観察し得る *in vitro* 及び *ex vivo* の実験系を構築し、CD27及びGITRの共刺激がPD-1の抑制効果に与える影響を解析した。CD27及びGITRのリガンドであるCD70とGITRLを抗原提示細胞上に発現させ、T細胞上に発現するCD27及びGITRを抗原刺激と同時に活性化させると、抗原刺激によってT細胞が産生するIL-2およびIFN $\gamma$ の量が大幅に増加した。これにより、本実験系においてCD27及びGITRの共刺激効果を観察できることが確認された。本実験系において、抗原提示細胞上のPD-L1により、T細胞上のPD-1の抑制機能を発動させたところ、IL-2およびIFN $\gamma$ の産生量が顕著に減少し、PD-1がCD27及びGITRの共刺激存在下でもT細胞の活性化を抑制し得ることが直接的に示された。また、CD27及びGITRアゴニストとPD-1アンタゴニストの同時作用により、T細胞の活性化が相乗的に増強されることを明らかとした。

現在、様々な薬剤について、PD-1アンタゴニストとの併用効果を検討する臨床試験が進められているが、必ずしも併用効果の分子メカニズムが解明されている訳ではない。併用効果の分子メカニズムを正しく理解することにより、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 <b>1416</b> 号	氏 名	水野 玲奈
審査委員	主査 片桐 豊雅 副査 安友 康二 副査 福井 清		

題目 PD-1 efficiently inhibits T cell activation even in the presence of co-stimulation through CD27 and GITR

(PD-1 は CD27 および GITR を介した共刺激存在下でも T 細胞活性化を効率的に抑制する)

著者 Reina Mizuno, Takumi Maruhashi, Daisuke Sugiura, Kenji Shimizu, Mizuki Watada, Il-mi Okazaki, Taku Okazaki  
 平成 31 年 2 月 14 日 Biochemical and Biophysical Research Communications に発表済み  
 (主任教授 岡崎 拓)

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 (PD-1 アンタゴニスト) は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で 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。TNF 受容体スーパーファミリーに属する興奮性免疫補助受容体である CD27、4-1BB、OX40 および GITR に対するアゴニスト抗体が、PD-1 アンタゴニストの治療効果を増強し得ることが前臨床試験において示され、臨床試験も開始されている。しかし、相乗効果が得られるメカニズムは解明されていない。そこで本研究では、T 細胞の活性化に対する CD27 および GITR の共刺激効果を鋭敏に観察し得る *in vitro* および *ex vivo* の実験系を構築し、CD27 および GITR の共刺激が PD-1 の抑制効果に与える影響を解析した。得られた結果は以下のとおりである。

1. マウス T 細胞株 (D011.10 細胞) において、CD27 あるいは GITR を抗原刺激と同時に活性化させると、抗原刺激により D011.10 細胞が産生する IL-2 の量が大幅に増加した。
2. PD-1 は CD27 あるいは GITR の共刺激存在下でも、抗原刺激による D011.10 細胞からの IL-2 の産生を強力に抑制した。
3. マウス初代培養 T 細胞において、CD27 あるいは GITR を抗原刺激と同時に活性化させると、抗原受容体刺激により CD4 および CD8 陽性 T がそれぞれ産生する IL-2 および IFN $\gamma$  の量が大幅に増加した。
4. PD-1 は CD27 あるいは GITR の共刺激存在下でも、抗原受容体刺激によるマウス初代培養 T 細胞からの IL-2 および IFN $\gamma$  の産生を強力に抑制した。
5. CD27 および GITR アゴニストと PD-1 アンタゴニストの同時作用により、T 細胞の活性化が相乗的に増強された。

以上の結果より、PD-1 が CD27 および GITR の共刺激存在下でも T 細胞の活性化を抑制し得ることが直接的に示された。また、CD27 および GITR アゴニストと PD-1 アンタゴニストの同時作用により、T 細胞の活性化が相乗的に増強されることを明らかとした。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、学位授与に値すると判定した。