

The 30th Lung Cancer Workshop

PD-1 を標的としたがん免疫療法

岩井佳子¹

Immunotherapy Targeting the PD-1 Signaling Pathway

Yoshiko Iwai¹¹Department of Molecular Biology, School of Medicine, University of Occupational and Environmental Health, Japan.

ABSTRACT — In recent years, immunotherapy has emerged as the fourth pillar of cancer treatment, joining surgery, radiation, and chemotherapy. The concept of cancer immunotherapy dates back to the late nineteenth century, when William Coley, a young surgeon in New York, began intratumoral injections of bacterial products. It took almost a century to discover dendritic cells and their receptor sensing microorganisms. Immunotherapies can be divided into antigen-specific approaches, which induce tumor-specific T cells, or antigen non-specific approaches, which broadly activate T cells. Activating (accelerator) and inhibitory (brake) receptors on T cells regulate the balance between immune responses and immune tolerance. Although previous immunotherapies have focused on pressing the accelerator on T cells, immune checkpoint inhibitors take the brakes off the immune system and unleash anti-tumor immune responses. The success of clinical trials with novel drugs targeting immune checkpoint molecules such as PD-1 may herald a new era for cancer immunotherapy.

(JLCC. 2016;56:61-65)

KEY WORDS — PD-1, CTLA-4, Immune checkpoint inhibitor, Cancer immunotherapy

要旨 — 手術、化学療法、放射線療法に続く第4のがん治療として免疫療法が登場したが、その効果については長い間疑問視されてきた。1891年にWilliam Coley博士が腫瘍内に細菌を投与する治療を行ったのががん免疫療法のはじまりとされるが、このメカニズムが理解されるようになったのはごく最近で、樹状細胞の発見と病原体認識機構の解明まで約1世紀を要している。がん免疫療法は、がん抗原に特異的な免疫応答を誘導する「特異的免疫療法」と、がん抗原に非特異的に免疫応答を増強する「非特異的免疫療法」に分けられる。免疫システムには、免疫系を活性化するアクセル（共刺激分子）と抑制

するブレーキ（共抑制分子）が存在して、免疫応答と免疫寛容のバランスを制御しており、従来のがん免疫療法ではアクセルを踏むことに重点が置かれてきたが、ブレーキ解除によって免疫系のアクセルが入るようにしたのが免疫チェックポイント阻害剤である。PD-1抗体をはじめとする免疫チェックポイント阻害剤はこれまでのがん免疫療法に対する評価を一変させ、有望な治療法として期待されている。

索引用語 — PD-1, CTLA-4, 免疫チェックポイント阻害剤, がん免疫療法

1. がん免疫療法の歴史

がん免疫療法の歴史は古く、1891年までさかのぼる。¹ ニューヨークの外科医であったWilliam Coley博士は骨肉腫患者が丹毒感染後に治癒する現象に注目して、腫瘍内に細菌を注射する治療を行った。このメカニズムが理

解されるようになったのはごく最近で、樹状細胞の発見と病原体認識機構の解明まで約1世紀を要している。^{2,3}

がん免疫療法は、がん抗原に特異的な免疫応答を誘導する「特異的免疫療法」と、がん抗原に非特異的に免疫応答を増強する「非特異的免疫療法」に分けられる。前者としてはペプチド療法、樹状細胞療法など、後者とし

¹産業医科大学医学部分子生物学講座。

Table 1. Comparison Between CTLA-4 and PD-1

	CTLA-4	PD-1
Expression	Early activation phase Activated T cells Treg cells	Late effector phase Effector T cells Exhausted T cells
Inhibition mechanism	Ligand competition SHP2	SHP2
Autoimmune phenotype of KO mice	Acute and severe (systemic) with early death	Slow and mild (organ-specific) with late onset

ではサイトカイン療法, LAK 療法などがある。従来の免疫療法が期待されたほどの効果を上げられなかった原因の一つとして、免疫系を抑制する“免疫チェックポイント”の存在とその重要性が知られていなかったことがあげられる。

2. 免疫チェックポイントとは

免疫システムは、病原体などから生体を守る一方で、自己抗原に対する応答は起こらないように、生体防御と免疫寛容のバランスを保っている。T 細胞上に発現する共刺激分子と共抑制分子は、免疫応答のバランス制御に重要な役割を果たしている。

T 細胞の活性化には、抗原刺激（第1のシグナル）に加えて、共刺激（第2のシグナル）が必要となる。第2のシグナルは、抗原提示細胞上の B7 分子（CD80/B7-1 および CD86/B7-2）がリガンドとして T 細胞上の CD28 に結合することで伝達される。この第2のシグナルが欠如すると、T 細胞は抗原に対して不応答となる（T 細胞アナジー）。

近年 B7/CD28 ファミリーに属する新規分子が次々と同定されている。CD28 ファミリー分子には、T 細胞活性化を促進するもの（共刺激分子）と抑制するもの（共抑制分子）があり、前者には CD28 や ICOS など、後者には cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) や PD-1 が含まれる。CTLA-4 や PD-1 などの共抑制分子は“免疫チェックポイント”として機能し、自己への不適切な免疫応答や過剰な炎症反応を抑制する。

3. PD-1 による免疫抑制のメカニズム

PD-1 遺伝子は、1992 年に京都大学の本庶研究室においてクローニングされた。⁴ PD-1 は CD28 ファミリーに属する免疫抑制受容体で、活性化 T 細胞に発現して T 細胞の増殖とエフェクター機能を抑制する。⁵ さらに、PD-1 欠損マウスは遺伝的背景によって多彩な自己免疫症状を示すことから、PD-1 は自己免疫寛容に重要な役割

を果たすことが明らかとなった。^{6,7}

PD-1 は免疫応答の比較的遅い時期にエフェクター T 細胞や、慢性刺激で“疲弊した T 細胞”(exhausted T cell) 上に発現する。PD-1 の発現制御に関しては、前者では T 細胞受容体(T cell receptor : TCR) を介した抗原刺激と CD28 を介した共刺激により転写因子 NFATc1 が、後者では炎症性サイトカイン (IFN- α) の刺激により IRF9 が、PD-1 遺伝子のプロモーター領域に結合して PD-1 の転写活性を促進することが報告されている。^{8,9}

PD-1 の細胞質領域には Immunoreceptor tyrosine-based switch motif (ITSM) が存在する。PD-1 に生理的リガンド (PD-L1 および PD-L2) が結合すると ITSM がリン酸化され、脱リン酸化酵素 SHP2 が会合する。SHP2 は TCR シグナルの重要なアダプター分子である ZAP70 を脱リン酸化することによって不活性化し、T 細胞の活性化を抑制する。¹⁰ その結果、PD-1 シグナルは T 細胞の増殖や IFN- γ などのサイトカイン産生、細胞傷害活性を抑制する。

4. PD-1 と PD-L1, PD-L2 の発現の違い

PD-1 の発現時期、発現場所は局限している。PD-1 は、正常なマウスや健常者末梢血ではほとんど発現がみられない。感染や炎症などの免疫応答が起こってはじめて発現し、活性化後期のエフェクター T 細胞に局限して発現する。¹¹ 特に炎症部位の末梢組織に浸潤したエフェクター T 細胞には強い発現がみられる。

PD-1 とは対照的に、PD-L1 はさまざまな細胞、組織で広く発現する。PD-L1 は正常末梢組織で恒常的な発現がみられ、さまざまな臓器のマクロファージや血管内皮細胞に発現し、炎症により発現が上昇する。^{7,12} 免疫応答が起こると、抗原提示細胞だけでなく、活性化した T 細胞や B 細胞などほとんどの免疫担当細胞が PD-L1 を発現する。またウイルス感染が起こると、血管内皮細胞だけでなく、さまざまな臓器の実質細胞も PD-L1 を発現する。さらに興味深いことに PD-L1 は血液系腫瘍、皮膚がん、肺がん、卵巣がん、乳がんなど、多くの種類のガンで発現がみられる。^{13,14} 一方、PD-L2 の発現は限局的で、抗原提示細胞に発現する。¹³

5. CTLA-4 と PD-1 の作用点の違い

PD-1 と CTLA-4 はともに CD28 ファミリーに属する免疫抑制受容体であるが、発現する細胞や時期が異なる (Table 1)。CTLA-4 は制御性 T 細胞に恒常的に発現し、活性化初期 (24~48 hr 以内) の広範な T 細胞に一過性に発現する。一方、PD-1 は抗原親和性による選択・成熟が進む活性化後期 (72 hr 以降) のエフェクター T 細胞や、慢性刺激で“疲弊した T 細胞”上に発現する。このよう

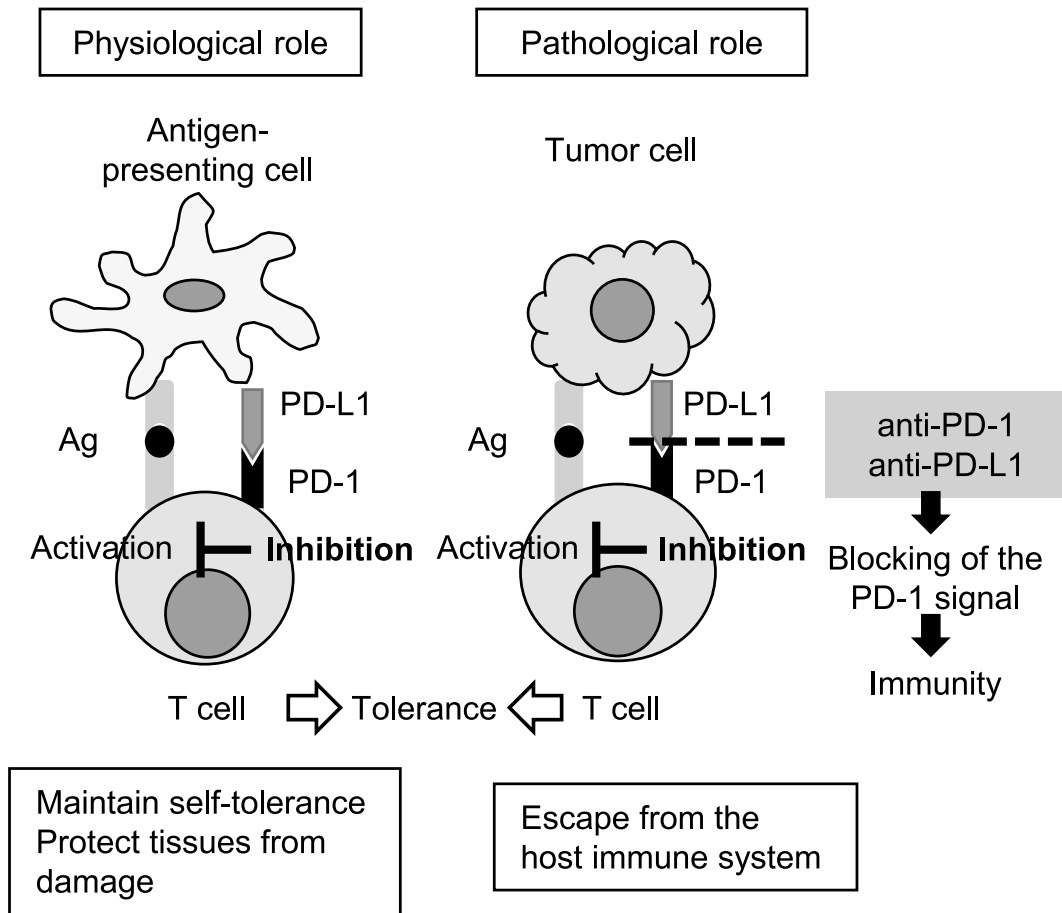


Figure 1. Biological importance of PD-1 signaling. PD-1 is induced on activated T cells. Inflammatory stimulation induces the PD-L1 expression on various non-hematopoietic and hematopoietic cells. The engagement of PD-1 with its ligands inhibits the proliferation and effector function of T cells, which results in the prevention of autoimmunity and attenuation of anti-tumor immunity. Immune checkpoint inhibitors such as anti-PD-1 and anti-PD-L1 enhance the T cell immune response against tumors by blocking the PD-1 inhibitory pathway.

な発現の違いにより PD-1 と CTLA-4 は免疫応答の異なる局面を制御する。主として CTLA-4 はリンパ組織における抗原提示を制御するのに対して、PD-1 は炎症局所でキラー T 細胞が標的細胞を攻撃する場面で作用する。

さらにノックアウトマウスの表現型には大きな違いがみられる。CTLA-4 欠損マウスの自己免疫症状は早期に発症して、全身性かつ重篤で致死性である。¹² CTLA-4 欠損マウスでは T 細胞が全身の臓器に浸潤して、移植片対宿主病 (graft-versus-host disease : GVHD) 様の症状を起こし若年齢で死亡する。一方、PD-1 欠損マウスの自己免疫症状は遅発性かつ臓器特異的で比較的軽症である。^{6,7} PD-1 欠損マウスは遺伝的背景によって多彩な自己免疫症状を示し、C57BL/6 背景では Lupus 様の糸球体腎炎や関節炎を、BALB/c 背景では自己抗体の沈着を伴う拡張型心筋症を発症する。抗体投与による副作用は

おおむねノックアウトマウスの表現型と相関し、CTLA-4 抗体の方が自己免疫症状を主体とする有害事象の頻度が高い。¹⁵ 抗体投与後の経過観察には十分な注意と有害事象の早期発見が極めて重要である。

6. PD-1/PD-L1 抗体による抗腫瘍効果

免疫応答が起こると活性化 T 細胞が PD-1 を発現し、リンパ組織および末梢組織のさまざまな細胞が PD-L1 を発現する。PD-L1 は PD-1 に結合すると T 細胞の機能を抑制し、免疫寛容を誘導して、過剰な免疫応答を抑え組織傷害から生体を守る。これが PD-1/PD-L1 シグナル本来の生理的役割と考えられる (Figure 1)。一方、がん細胞は PD-L1 を発現することによって、T 細胞の活性化を抑制し、宿主の免疫監視から逃れる。¹⁶

腫瘍細胞に PD-L1 を過剰発現させると、腫瘍細胞に対

する T 細胞のキラー活性が抑制される。PD-L1 を発現させた腫瘍細胞を同系マウスに移植すると、腫瘍が著しく増大し、他臓器への浸潤・転移が促進する。そこでこの腫瘍モデルで PD-L1 抗体を投与すると、PD-1/PD-L1 シグナルの阻害により T 細胞が活性化して腫瘍の増殖が著明に抑制され、個体の延命効果が認められた。¹⁶ 以上の結果から PD-1 シグナルは腫瘍が宿主の免疫監視から逃れる回避機構で重要な役割を果たすことが示唆された。さらに PD-1 シグナル阻害による抗がん作用は、原発性腫瘍だけでなく、転移性腫瘍においても認められることが動物モデルを用いた実験で明らかとなった。¹⁷

7. 基礎から臨床へ

これまでに述べてきたような基礎医学的研究を背景として、臨床応用を目指して完全ヒト型 PD-1 抗体が作製された。2006 年に米国で既治療進行性・転移性がん患者を対象とする第 I 相臨床試験が開始され、約 30% の奏効率が示されたことから、がんに対する“第 4 の治療法”としてにわかに脚光をあびるようになった。¹⁸ PD-1 抗体製剤はメラノーマを適応症として、2014 年に世界に先駆けて本邦で製造販売が承認されている。今後、肺がんをはじめとするさまざまながんへの適応が期待されている。

PD-1 を標的としたがん免疫療法の利点としては、1) がん抗原の特異性によらないのでさまざまな種類のがんに適応可能であること、2) 標的ががん細胞ではなくリンパ球なので、がんが突然変異を起こしても効果が長期間持続すること、3) PD-1 はがん特異的な T 細胞に発現するので、がん特異的 T 細胞を効率的に増やすことができること、4) 従来の化学療法や CTLA-4 抗体に比べて細胞毒性や副作用が少ないこと、などがあげられる。

PD-1 を標的とした免疫療法で効果がみられるのは多く見積もっても約 30% の症例で、残りの 70% の症例では効果がみられない。PD-L1 発現と奏効率との関連については、一致した見解が得られていない。医療コストの観点からも治療効果を予測できるバイオマーカーの探索と信頼性の高い診断法の確立は急務と考えられる。

本論文内容に関連する著者の利益相反：なし

REFERENCES

- Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011;480:480-489.
- Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med*. 1973;137:1142-1162.
- Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, Reichhart JM, Hoffmann JA. The dorsoventral regulatory gene casette *spätzle/Toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults. *Cell*. 1996;86:973-983.
- Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, Honjo T. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death. *EMBO J*. 1992;11:3887-3895.
- Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, Bourque K, Chernova T, Nishimura H, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation. *J Exp Med*. 2000;192:1027-1034.
- Nishimura H, Nose M, Hiai H, Minato N, Honjo T. Development of lupus-like autoimmune diseases by disruption of the PD-1 gene encoding an ITIM motif-carrying immunoreceptor. *Immunity*. 1999;11:141-151.
- Nishimura H, Okazaki T, Tanaka Y, Nakatani K, Hara M, Matsumori A, et al. Autoimmune dilated cardiomyopathy in PD-1 receptor-deficient mice. *Science*. 2001;291:319-322.
- Oestreich KJ, Yoon H, Ahmed R, Boss JM. NFATc1 regulates PD-1 expression upon T cell activation. *J Immunol*. 2008;181:4832-4839.
- Terawaki S, Chikuma S, Shibayama S, Hayashi T, Yoshida T, Okazaki T, et al. IFN- α directly promotes programmed cell death-1 transcription and limits the duration of T cell-mediated immunity. *J Immunol*. 2011;186:2772-2779.
- Okazaki T, Maeda A, Nishimura H, Kurosaki T, Honjo T. PD-1 immunoreceptor inhibits B cell receptor-mediated signaling by recruiting src homology 2-domain-containing tyrosine phosphatase 2 to phosphotyrosine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:13866-13871.
- Iwai Y, Okazaki T, Nishimura H, Kawasaki A, Yagita H, Honjo T. Microanatomical localization of PD-1 in human tonsils. *Immunol Lett*. 2002;83:215-220.
- Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, Wakeham A, Shahinian A, Lee KP, et al. Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in *Ctla-4*. *Science*. 1995;270:985-988.
- Latchman Y, Wood CR, Chernova T, Chaudhary D, Borde M, Chernova I, et al. PD-L2 is a second ligand for PD-1 and inhibits T cell activation. *Nat Immunol*. 2001;2:261-268.
- Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med*. 2002;8:793-800.
- Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363:711-723.
- Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N. Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99:12293-12297.
- Iwai Y, Terawaki S, Honjo T. PD-1 blockade inhibits hematogenous spread of poorly immunogenic tumor cells

by enhanced recruitment of effector T cells. *Int Immunol*. 2005;17:133-144.

18. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, activity, and immune

correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med*. 2012;366:2443-2454.