

2023年7月5日
国立大学法人宮崎大学

がんの免疫抑制機構を解除する仕組みを発見し、がんの新たな免疫治療法開発へ —樹状細胞に発現する免疫チェックポイント分子の阻害はがん免疫応答を増強する—

本研究成果のポイント

- マウス「Clec4A4」とヒト相同分子「CLEC4A」は免疫チェックポイント分子としてがん免疫応答を抑制する
- マウス「Clec4A4」とヒト相同分子「CLEC4A」の阻害はがん免疫応答を増強する
- がんの新たな免疫治療法開発へ手がかり

宮崎大学(鮫島 浩学長)は、白血球の一種である樹状細胞(dendritic cells; DCs)^{※1}に発現するタンパク質のマウス「Clec4A4^{※2}」とヒト「CLEC4A^{※2}」が新たな免疫チェックポイント分子^{※3}としてがんの免疫抑制機構に関わり、その阻害はがん免疫応答を増強することを明らかにしました。これは医学部医学科(菱川善隆医学部長)の佐藤克明教授(免疫学)による研究成果です。

ヒト(宿主)では、体外から侵入した細菌やウイルス等の異物を排除する免疫機構が備わっており、体内で発生したがん細胞の排除にも重要な働きをしています。しかしながら、がん細胞は免疫機構から逃れるために様々な手段を用いております。免疫チェックポイント^{※3}は、自己の細胞や組織への不適切な免疫応答や過剰な炎症反応を阻止する免疫抑制機構です。代表的な免疫チェックポイント分子として、T細胞^{※4}に発現するCTLA-4やPD-1などの抑制性受容体があり、これらの抑制性受容体に生理的なりガンドが結合すると、T細胞の増殖や機能が抑制されます。がん細胞はこの免疫抑制機構を利用して宿主の免疫機構から回避していることが明らかとなっております。現在、免疫チェックポイント阻害剤^{※5}の臨床応用により一部のがん種で画期的な治療効果が認められておりますが、その治療耐性獲得とともに依然多くのがん種では治療抵抗性を示すことが問題となっております。また、免疫チェックポイント阻害剤の使用では自己に対する免疫応答の活性化により生じる重篤な副作用も危惧されております。このため、これらの課題を克服するために、新たな免疫チェックポイント分子の同定とその阻害剤の開発が世界中で行われております。

研究チームは、樹状細胞にのみ発現する抑制性受容体であるマウスClec4A4に着目し、マウスClec4A4を欠損した遺伝子改変マウス(Clec4A4欠損マウス)を調べた結果、野生型マウスに比べて、樹状細胞の活性化によりがん免疫応答が増強し、がん進展を抑制することを発見しました。さらに、ヒト相同分子のヒトCLEC4Aがマウス樹状細胞に選択的に発現する遺伝子改変マウス(ヒトCLEC4A発現マウス)では、ヒトCLEC4A阻害剤の投与により樹状細胞が活性化し、がん免疫応答の増強とがん進展の抑制を示すことを見出しました。このことから、マウス「Clec4A4」とヒト「CLEC4A」は免疫チェックポイント分子としてがんの免疫抑制機構に重要な役割を担い、その阻害はがん免疫応答の増強に作用する重要な知見を得ることができました。この成果を応用することで、がんに対する新たな免疫治療法の開発につながる可能性が期待できます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)次世代がん医療創生研究事業(P-CREATE)および次世代がん医療加速化研究事業(P-PROMOTE)の一環として行われました。本研究成果は、2023年7月11日(米国時間 10:00、日本時間 23:00)に米国癌学会誌『*Cancer Immunology Research*』のオンライン速報版で公開されます。

1. 背景

免疫機構は、白血球である免疫細胞が体内に侵入した異物(抗原)を認識して排除する高度なシステムです。細菌やウイルスなどの病原体に対する防御免疫応答では、侵入してきた病原体を抗原提示細胞^{※6}である樹状細胞(dendritic cells; DCs)やマクロファージ^{※7}が最初に取り込んで活性化し、情報伝達物質(サイトカイン^{※8})を分泌して自身や他の免疫細胞による捕食、殺菌を促し、適切な炎症を引き起こします。それと同時に、抗原提示細胞がT細胞に病原体(抗原)の情報とサイトカインを与えて活性化させ、病原体やその感染細胞を攻撃して排除します。また、体内で発生したがん細胞に対しても様々な免疫細胞の活性化が関わる免疫監視機構^{※9}と呼ばれる免疫応答が作動し、その排除を導きます。しかしながら、がん細胞は免疫監視機構から逃れるために様々な手段を用いております。免疫チェックポイントは、自己の細胞や組織への不適切な免疫応答や過剰な炎症反応を阻止する免疫抑制機構です。代表的な免疫チェックポイント分子として、T細胞に発現するCTLA-4やPD-1などの抑制性受容体があり、これらの抑制性受容体に生理的なりガンドが結合すると、T細胞の増殖や機能が抑制されます。がん細胞はこの免疫チェックポイントを利用して免疫抑制機構を獲得し、宿主の免疫監視機構から回避していることが明らかとなっております。免疫チェックポイント阻害剤は、免疫チェックポイント分子である抑制性受容体もしくはそのリガンドに結合することにより免疫抑制機構を解除し、がんに対する免疫応答を高めます。免疫チェックポイント阻害剤として、免疫チェックポイント分子に対する機能阻害抗体^{※10}が用いられます。現在、免疫チェックポイント阻害剤の臨床応用により一部のがん種で画期的な治療効果が認められておりますが、その治療耐性獲得とともに依然多くのがん種では治療抵抗性を示すことが問題となっております。また、免疫チェックポイント阻害剤の使用では自己に対する免疫応答の活性化により生じる重篤な副作用も危惧されております。このため、これらの課題を克服するために、新たな免疫チェックポイント分子の同定とその阻害剤の開発が世界中で行われております。

研究チームは、マウス樹状細胞にのみ発現する抑制性受容体であるマウスClec4A4とヒト相同分子のヒトCLEC4Aに着目し、がんの免疫抑制機構を解除する仕組みの解明に挑みました。

2. 研究手法と成果

研究チームは、まず初めに、野生型マウスに悪性黒色腫細胞を移植し、免疫組織の樹状細胞におけるマウス Clec4A4 の発現と機能について検討しました。その結果、非担がん野生型マウスと比較して、担がん野生型マウスのがん所属リンパ節^{※11}の樹状細胞ではマウス Clec4A4 の発現増強を伴うT細胞活性化能やサイトカイン産生能の減弱が認められました。以上の結果から、がん進展によりマウス Clec4A4 の発現増強を示す免疫抑制性樹状細胞が生成することが明らかとなりました。

次に、野生型マウスと Clec4A4 欠損マウスに悪性黒色腫細胞を移植し、がん進展やがん組織における免疫細胞の構成と免疫抑制分子の発現について比較検討しました。その結果、野生型マウスと比較して、Clec4A4 欠損マウスではがん進展の著しい抑制が認められました(図 1)。さらに、Clec4A4 欠損マウスでは野生型マウスと比較して、がん組織における樹状細胞、ナチュラルキラー(natural killer; NK)細胞^{※12}、がん特異的 T 細胞の集積促進や CD4⁺Foxp3⁺制御性 T(regulatory T; T_{reg})細胞^{※13}と骨髄由来抑制細胞(myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)^{※14}の集積抑制が認められました。また、Clec4A4 欠損マウスでは野生型マウスと比較して、がん組織における種々の免疫抑制分子の発現の低下が認め

られました。以上の結果から、マウス Clec4A4 は樹状細胞に発現する免疫チェックポイント分子としてがん免疫応答を抑制し、がん進展を促進することが明らかとなりました。

次に、マウス Clec4A4 のヒト相同分子であるヒト CLEC4A をマウス樹状細胞に選択的に発現させたヒト CLEC4A 発現マウスに悪性黒色腫細胞を移植後、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体のがん免疫応答に及ぼす効果を検討しました。その結果、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体投与群は未処置群と比較して、がん組織における樹状細胞、ナチュラルキラー細胞、がん特異的 T 細胞の集積促進や CD4⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞と骨髄由来抑制細胞の集積抑制が認められました。また、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体投与群では未処置群と比較して、がん組織における種々の免疫抑制分子の発現の低下が認められました。

さらに、ヒト CLEC4A 発現マウスに悪性黒色腫細胞を移植後、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体のがん進展に及ぼす効果を検討しました。その結果、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体投与は未処置と比較して、著しいがん治療効果を示し、その治療効果は抗 PD-1 中和抗体投与よりも優位であることが認められました(図 2)。また、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体と抗 PD-1 中和抗体の両投与では相乗的ながん治療効果が認められました(図 2)。以上の結果から、ヒト CLEC4A は免疫チェックポイント分子としてがん免疫応答を抑制し、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体は免疫チェックポイント阻害剤として高いがん治療効果を示すことが明らかとなりました。

3. 今後の期待

今回、樹状細胞に発現するマウス「Clec4A4」とヒト「CLEC4A」は免疫チェックポイント分子としてがんの免疫抑制に関与し、その阻害ががん免疫応答を増強する重要な知見を得ることができました(図 3)。この成果を応用することで、がんに対する新たな免疫治療法の開発につながる可能性が期待できます。

〈原著論文情報〉

Tomofumi Uto, Tomohiro Fukaya, Shuya Mitoma, Yotaro Nishikawa, Moe Tominaga, Narantsog Choijookhuu, Yoshitaka Hishikawa, and Katsuaki Sato

“Clec4A4 acts as a negative immune checkpoint regulator to suppress antitumor immunity”
Cancer Immunology Research, in press, 2023

<https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-22-0536>

〈報道担当・問い合わせ先〉

(問い合わせ先)

国立大学法人宮崎大学

医学部医学科

感染症学講座免疫学分野

教授 佐藤 克明(さとう かつあき)

TEL:0985-85-9815 FAX:0985-85-9815

国立大学法人宮崎大学

医学部総務係

TEL:0985-85-9014 FAX:0985-85-3101

(報道担当)

国立大学法人宮崎大学企画総務部総務広報課

TEL:0985-58-7114 FAX:0985-58-2886

〈研究費〉

●文部科学省

科学研究費助成事業 基盤研究(B)「ヒト樹状細胞発現機能制御分子を標的とした新規免疫チェックポイント阻害剤の開発」

科学研究費助成事業 基盤研究(B)「新規ヒト樹状細胞発現免疫チェックポイント分子を標的とした阻害剤の開発」

科学研究費助成事業 基盤研究(C)「ヒト樹状細胞を標的とした新規免疫チェックポイント阻害剤の開発」

●国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)

次世代がん医療創生研究事業「免疫抑制性樹状細胞に発現する新規免疫チェックポイント分子の機能的同定とこれを標的としたがん免疫治療法の開発」

次世代がん医療加速化研究事業「新規ヒト樹状細胞発現免疫チェックポイント分子を標的とした免疫チェックポイント阻害剤に関する研究開発」

〈補足説明〉

※1 樹状細胞(dendritic cells; DCs)

樹状細胞(dendritic cells; DCs)は樹状突起を持つ白血球。抗原提示細胞の中で樹状細胞が最も強力にT細胞を活性化する。

※2 マウス Clec4A4、ヒト CLEC4A

C型レクチン(C-type lectin: Clec)とは、カルシウム依存性の糖鎖結合活性を持つタンパク質であり、その細胞膜貫通型受容体の形をとるものがC型レクチン受容体(C-type lectin receptor: CLR)である。

マウス Clec4A4 はマウス樹状細胞に特異的に発現する CLR であり、その活性化を抑制することにより免疫応答を制御する。

[参考文献] Uto T, Fukaya T, Takagi H, Arimura K, Nakamura T, Kojima N, Malissen B, Sato K. Clec4A4 is a regulatory receptor for dendritic cells that impairs inflammation and T-cell immunity. *Nat Commun.* 2016 Apr 12;7:11273. doi: 10.1038/ncomms11273.

ヒト CLEC4A はマウス Clec4A4 のヒト相同分子であり、ヒト樹状細胞の活性化を抑制する。

[参考文献] Nasu J, Uto T, Fukaya T, Takagi H, Fukui T, Miyanaga N, Nishikawa Y, Yamasaki S, Yamashita Y, Sato K. Pivotal role of the carbohydrate recognition domain in self-interaction of CLEC4A to elicit the ITIM-mediated inhibitory function in murine conventional dendritic cells in vitro. *Int Immunol.* 2020 Sep 30;32(10):673-682. doi: 10.1093/intimm/dxaa034.

※3 免疫チェックポイント分子、免疫チェックポイント

免疫チェックポイントは自己の細胞や組織への不適切な免疫応答や過剰な炎症反応を阻止する免疫抑制機構の一つ。免疫チェックポイント分子には、代表的な CTLA-4 や PD-1 に加えて複数の抑制性受容体が存在し、多くは主に T 細胞上に発現している。これらの抑制性受容体に生理的なりガンドが結合後、T 細胞の増殖や機能が抑制される。

※4 T細胞

T細胞は白血球の一種で、CD4⁺T細胞とCD8⁺T細胞に分けられる。CD4⁺T細胞は抗原の感作を受けていないナイーブCD4⁺T細胞からヘルパーT細胞に分化し、サイトカインを産生して他の免疫細胞の活性化を調節する。CD8⁺T細胞はナイーブCD8⁺T細胞からキラーT細胞に分化し、宿主にとって異物になる細胞(ウイルス感染細胞、がん細胞など)や、病原体を認識して破壊する。CD4⁺ヘルパーT細胞は機能的にインターフェロン(interferon; IFN)- γ を産生する1型ヘルパーT細胞(type 1 T helper cell; T_{H1}細胞)、インターロイキン(interleukin: IL)-4、IL-5、IL-13などを産生する2型ヘルパーT細胞(type 2 T helper cell; T_{H2}細胞)、IL-17を産生する17型ヘルパーT細胞(type 17 T helper cell; T_{H17}細胞)に分類される。産生されるサイトカインによりT_{H1}細胞はマクロファージを活性化し、T_{H2}細胞はB細胞を活性化し、T_{H17}細胞は好中球を活性化する。T_{H1}細胞は細胞内寄生細菌やウイルスに対する感染防御や自己免疫疾患、T_{H2}細胞は寄生虫に対する感染防御やアレルギー疾患、T_{H17}細胞は細胞外寄生細菌や真菌に対する感染防御や炎症性疾患に関与する。

※5 免疫チェックポイント阻害剤

免疫チェックポイント阻害薬は、免疫チェックポイント分子もしくはそのリガンドに結合して免疫抑制シグナルの伝達を阻害することで、免疫チェックポイント分子によるT細胞の活性化抑制を解除する。現在、臨床応用されている免疫チェックポイント阻害薬(一般名:製品名)には、抗CTLA-4抗体(イピリムマブ:ヤーボイ)、抗PD-1抗体(ニボルマブ:オプジーボ、ペムブロリズマブ:キイトルーダ)、抗PD-L1抗体(アベルマブ:バベンチオ、アテゾリズマブ:テセントリク、デュルバルマブ:イミフィンジ)などがある。

※6 抗原提示細胞

樹状細胞やマクロファージなどを含む白血球の一種。体内に侵入してきた病原体(細菌やウイルス)やその感染細胞などの断片を異物(抗原)として自己の細胞表面上に提示し、T細胞を活性化する細胞。抗原提示細胞は細胞表面上に主要組織適合性複合体(major histocompatibility complex; MHC)分子を持ち、これに抗原をのせて提示する。T細胞はMHC分子上に提示された異物(抗原)をT細胞受容体(T-cell receptor; TCR)により認識して活性化し、異物(抗原)を攻撃して排除する。

※7 マクロファージ

マクロファージは大食細胞とも呼ばれ、異物(抗原)、微生物、死んだ細胞の貪食作用を示す白血球。

※8 サイトカイン

サイトカインは免疫細胞から分泌されるタンパク質で、特定の受容体を発現する細胞に情報伝達を行う。多くの種類があるが、特に免疫や炎症に関係したものが多い。また細胞の増殖、分化、細胞死、あるいは創傷治癒などに関係するものもある。サイトカインは、インターフェロン(interferon; IFN)、インターロイキン(interleukin: IL)、腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor; TNF)、コロニー刺激因子(colony stimulating factor; CSF)に分類される。

※9 免疫監視機構

免疫監視機構は、遺伝子変異が起きたがん細胞を、様々な種類の白血球が監視して排除する免疫機構。

※10 機能阻害抗体

B細胞は白血球の一種で、免疫グロブリン(immunoglobulin; Ig)を発現する。活性化されたB細胞は形質細胞に分化し、分泌型の免疫グロブリンである抗体を産生する。抗体は特定の異物(抗原)に特異的に結合して、その異物(抗原)を生体内から排除する。機能阻害抗体は標的の異物(抗原)である分子に結合することによりその分子の生理的な機能を阻害する。機能阻害抗体は医薬としても用いられる(抗体医薬)。

※11 がん所属リンパ節

がん所属リンパ節はがん原発巣と直結したリンパ路をもつリンパ節。がん所属リンパ節はがん免疫応答を惹起する重要なリンパ節であると考えられている。一方、がんの所属リンパ節転移はがん病変の進行を示す。

※12 ナチュラルキラー(natural killer; NK)細胞

ナチュラルキラー(natural killer; NK)細胞は白血球の一種で、ウイルス感染細胞やがん細胞を認識して破壊する。

※13 CD4⁺Foxp3⁺制御性 T(regulatory T; T_{reg})細胞

CD4⁺Foxp3⁺制御性 T(regulatory T; T_{reg})細胞は CD4⁺T 細胞の 5~10%を占める T 細胞亜集団で免疫抑制能を示す。制御性 T 細胞を特定するマーカー分子は、転写因子の Foxp3 である。CD4⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞は自己免疫疾患などの免疫病の発症を阻止する。また、CD4⁺Foxp3⁺制御性 T 細胞はがん組織において様々ながん免疫応答を抑制し、がん細胞が免疫監視機構から逃れるための重要な因子と考えられている。

※14 骨髄由来抑制細胞(myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)

骨髄由来抑制細胞(myeloid-derived suppressor cells; MDSCs)は白血球の一種で、がん、感染症、慢性炎症で出現し、免疫抑制能を示す。

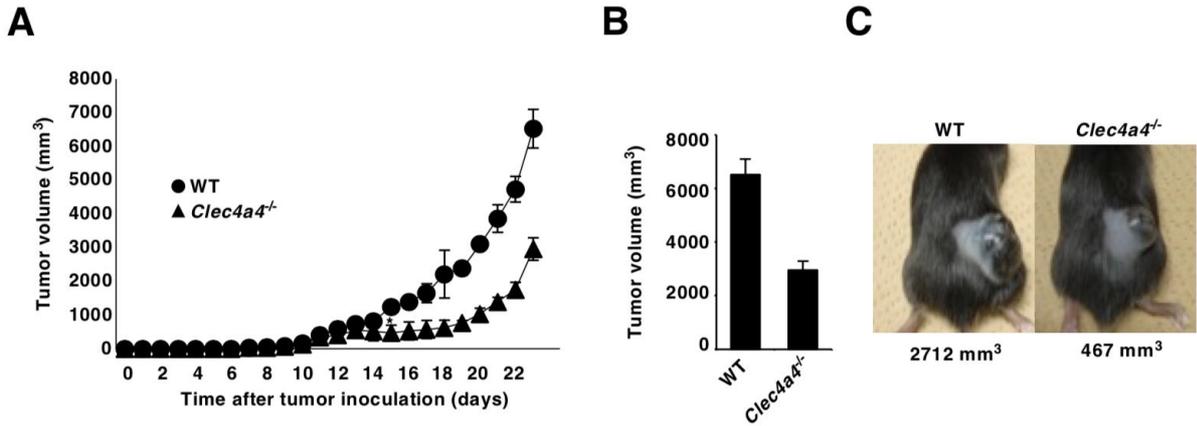


図1 マウス Clec4A4 の免疫チェックポイント分子機能

野生型 (WT) マウスと Clec4A4 欠損 (*Clec4a4*^{-/-}) マウスに悪性黒色腫細胞を移植した。(A)がん細胞移植後 23 日間のがん体積変化。(B)がん細胞移植後 23 日目のがん体積。(C)がん細胞移植後 19 日目のがん体積と写真。野生型マウスと比較して、Clec4A4 欠損マウスではがん進展が顕著に抑制される(がん体積が約 83%退縮)。

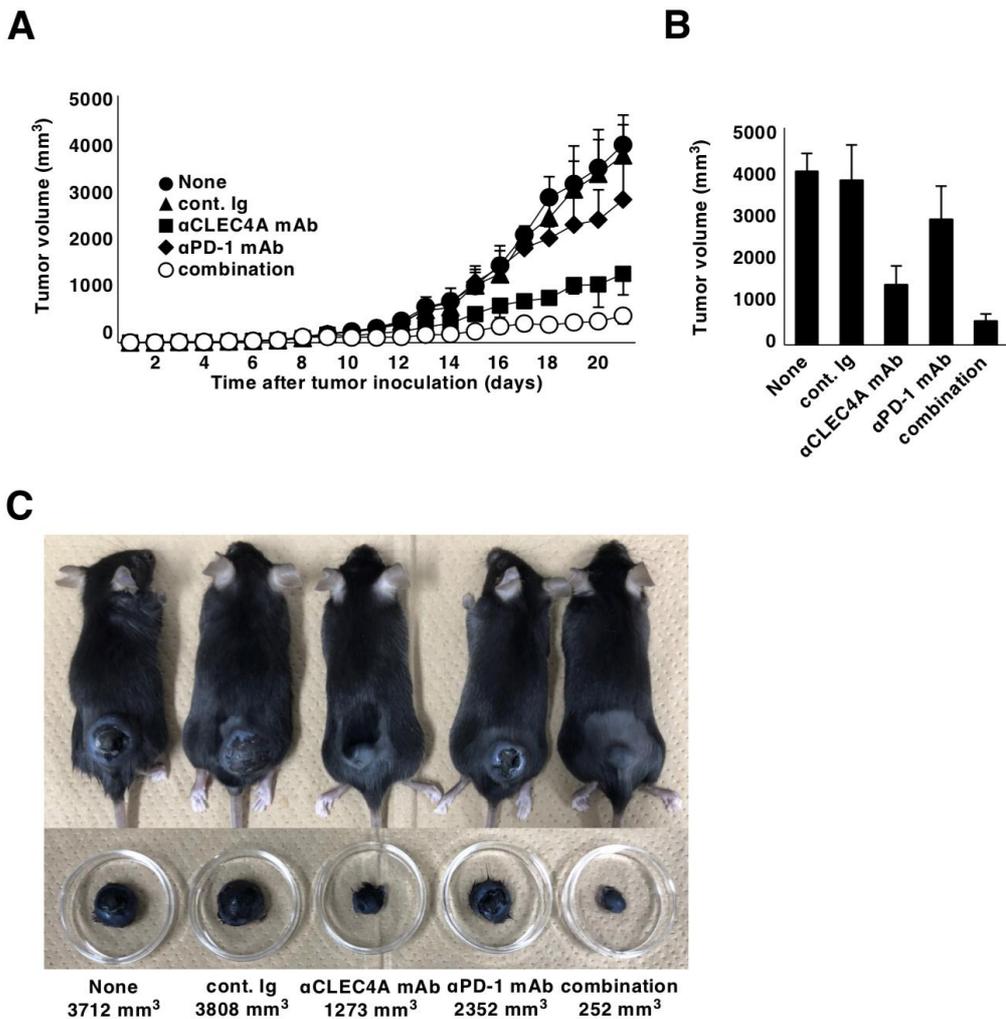


図2 抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体の免疫チェックポイント阻害機能

ヒト CLEC4A 発現マウスに悪性黒色腫細胞を移植後、対照抗体 (cont. Ig)、抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体 (α CLEC4A mAb)、抗 PD-1 中和抗体 (α PD-1 mAb) を投与した。(A) がん細胞移植後 21 日間のがん体積変化。(B) がん細胞移植後 21 日目のがん体積。(C) がん細胞移植後 21 日目のがん体積と写真。抗ヒト CLEC4A 機能阻害抗体投与 (がん体積退縮率: 約 66%) は抗 PD-1 中和抗体投与 (がん体積退縮率: 約 37%) と比較して、優位的がん治療効果を示し、これらの併用投与 (combination) は相乗的ながん治療効果を示す (がん体積退縮率: 約 93%)。

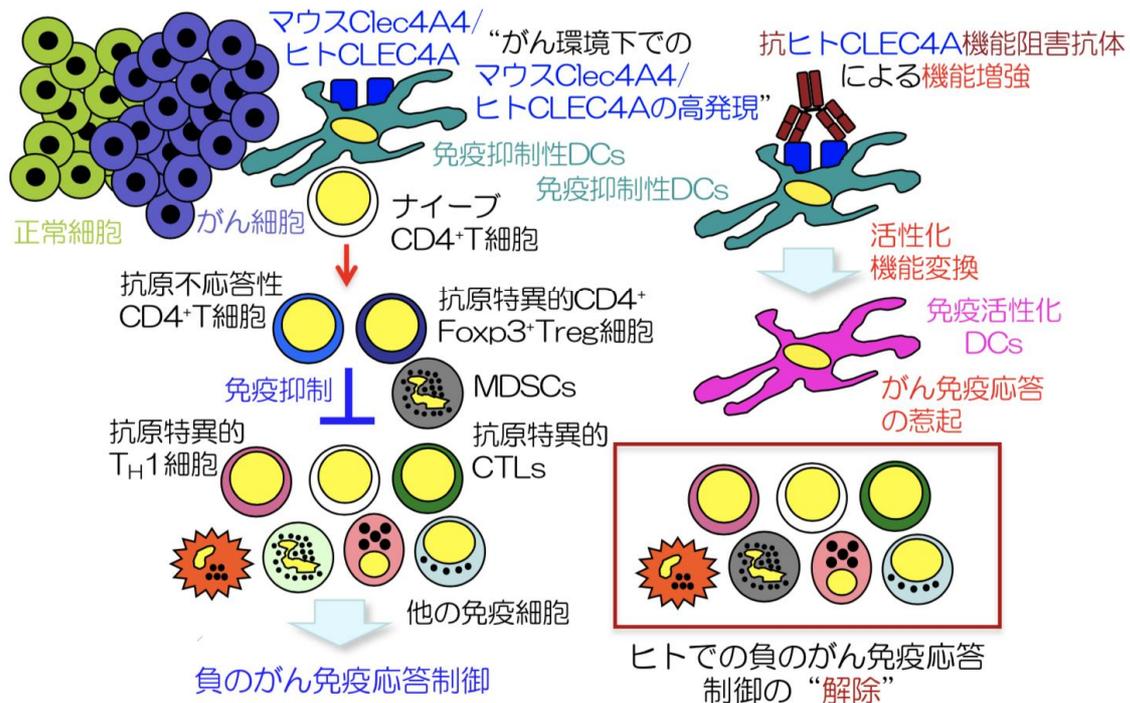


図 3 免疫抑制性樹状細胞による負のがん免疫応答制御と新規樹状細胞発現免疫チェックポイント分子“マウス Clec4A4/ヒト CLEC4A”の阻害に基づくその解除

(左図) がん環境下では、マウスClec4A4/ヒトCLEC4Aの高発現を示す免疫抑制性樹状細胞(DCs)が生成・増幅する。免疫抑制性DCsはナイーブCD4⁺T細胞から抗原不応答性CD4⁺T細胞や抗原特異的CD4⁺Foxp3⁺制御性T(T_{reg})細胞の生成を介して抗原特異的1型ヘルパーT(T_H1)細胞、抗原特異的細胞傷害性T細胞(CTLs)、他の免疫細胞の抗がん免疫機能を抑制し、負のがん免疫応答を導く。(右図) ヒトにおいて、抗ヒトCLEC4A機能阻害抗体はヒトCLEC4Aの作用を阻害して免疫抑制性DCsから免疫活性化DCsへ変換し、抗原特異的CD4⁺Foxp3⁺制御性T_{reg}細胞や骨髄由来抑制細胞(MDSCs)の生成抑制により負のがん免疫応答制御を解除する。さらに、免疫活性化DCsは抗原特異的T_H1細胞、抗原CTLs、他の免疫細胞の抗がん免疫機能を増強する。この機構により、抗ヒトCLEC4A機能阻害抗体は新たな免疫チェックポイント阻害剤として、有効ながん免疫応答の惹起によりがん拒絶効果を示すことが期待される。