

技術革新と基礎研究がもたらす がん免疫治療の発展

東京理科大学 研究推進機構 生命医科学研究所 准教授 うえは さとし
上羽 悟史

■ はじめに

日本人は一生のうちに2人に1人以上ががんと診断され、また5人に1人以上ががんで亡くなります。がんは加齢に伴い増加するため、今後ますます高齢化が進む日本ではがんを患うヒトも増加していきます。日本の科学技術目標として、100歳までの健康寿命維持が掲げられていますが、そのためにはがんの予防と早期発見、そして多種多様ながんを治療する治療法の開発が極めて重要です。“免疫”は自分の体を構成する自己の細胞や生体分子と、それ以外の非自己を見分けることで、体に有害な異物を排除する生体防御システムです。古典的には疫病（感染症）を免れるという意味で使われていましたが、1990年以降、免疫学、分子生物学、そして様々な科学技術の進歩により、感染症だけでなくがんに対しても免疫が働いていることが分かってきました。さらに2018年の本庶博士、Alison博士らのノーベル生理学・医学賞の対象となった免疫チェックポイント阻害剤は、自己に対する免疫応答のブレーキを外すことで、免疫系ががんを異物として認識することを助け、がん治療の主役であった抗がん剤を上回る治療効果を示すことが分かりました。現在では免疫チェックポイント阻害剤を中心とした新しい治療法の開発が世界各国で行われています。この

ようながん免疫治療の発展の背景には、分子生物学、細胞工学、発生工学などにおける技術革新と、それにより得られた免疫学における新しい知識が大きく貢献しました。

本稿では、がん免疫研究ならびにがん免疫治療の歩みを紹介するとともに、免疫研究の新たな解析技術として発展してきたT細胞受容体（TCR）解析技術、1細胞遺伝子発現解析技術を用いて筆者らが取り組むがん免疫研究の最前線を紹介します。

■ 技術革新とがん免疫研究の歩み

免疫反応を利用してがんを治療しようとする試みは、1890年代にアメリカの外科医Coleyが、がん患者に対して腫瘍内に死菌を投与することでがんが縮小することを報告したColey's toxinに遡ります。残念ながらColey's toxinの治療効果を他の研究者が追試できなかったことから、同治療法はその後廃れていきましたが、現在の分子免疫学の知識から解釈すると、細菌に特有の分子パターンを認識するマクロファージや樹状細胞などの自然免疫系細胞の活性化が抗腫瘍効果に寄与したかもしれません。

1900年代初頭から約100年にわたり、がん免疫監視の存在、すなわち免疫系は自己の一部とも言える

年代	1900	1950	1970	1980	1990	2000	2010	2015	2020
解析技術	顕微鏡	タンパク質解析	フローサイトメトリー 遺伝子組換え技術 モノクローナル抗体 遺伝子組換えマウス			次世代DNAシーケンス 遺伝子発現解析 ゲノム解析		1細胞遺伝子発現解析 TCR解析	
基礎研究	がん免疫の概念	各種免疫細胞の発見 各種免疫調節分子の発見			がん免疫の証明 免疫チェックポイントの発見		がん免疫サイクルの概念		
臨床応用			サイトカイン療法 白血球活性化療法	腫瘍浸潤T細胞療法 ヒトがん抗原の発見 がんワクチン		免疫チェック ポイント阻害療法	CAR-T療法		

Created by Biorender

【図1】解析技術とがん免疫の歩み

1970-80年代にかけて発達した解析技術が、免疫の仕組みの解明や、免疫チェックポイント分子などの治療標的の同定をもたらし、2010年代の免疫治療の成功に繋がっている。次世代DNAシーケンス技術が発達した2010年代以降の解析技術は、2030年以降に大きながん治療のブレークスルーをもたらすと期待される。

がんを異物として認識して排除できるか？という点が永く議論されました【図1】。この議論は、1980年代から1990年代の遺伝子工学・発生工学技術の発達に伴い作製された、免疫系の発生に不可欠な遺伝子を欠損させた免疫不全マウスにより証明されました。2001年にSchreiberらは、この免疫不全マウスでは腫瘍の発生が促進されること、かつ免疫不全マウスで発生した腫瘍を機能的な免疫系をもつマウスに移植すると拒絶されることを報告し、がん免疫監視が存在すると結論づけました。

この間、1970年代にはT細胞、B細胞、樹状細胞などの免疫系を構成する様々な免疫担当細胞が発見され、またT細胞が自己と非自己を見分ける分子機構が解明されました。1980年代には免疫系細胞の増殖・活性化をもたらすサイトカインや各種刺激因子などの重要なタンパク質が多数発見され、非特異的に免疫系細胞を活性化する薬剤やサイトカインをがん治療へ応用する試みもなされましたが、副作用を上回る治療効果は得られませんでした。

1990年代に入ると、正常細胞には発現しておらずがん細胞のみで発現し、かつT細胞によって非自己と認識される“がん抗原”がヒトで報告されました。これをきっかけに、がん抗原に対して特異的なT細胞の応答を誘導する“がんワクチン”の試みが世界中で活発になりました。残念ながら、非自己として強く認識される病原微生物などに対するワクチンとは異なり、ほぼ全てのがんワクチンは、がんに対する免疫応答を十分に誘導出来ず、既存治療法を上回る治療効果は得られませんでした。このようながんワクチンの失敗を免疫学が進んだ現在から振り返ると、自己に対する免疫を抑制する免疫チェックポイント分子が強力にワクチン応答を抑制していたこと、また、1つもしくはごく限られた種類のアミノ酸配列を標的としたワクチンでは、様々な変異を持つ不均一な腫瘍細胞によって構成されるがんを全面的に抑えることが難しい、などの背景があったものと理解できます。

筆者が大学院でがん免疫研究を始めた2000年代の前半は、がんワクチンの臨床試験に関する研究報告はほとんどが有効性を示せず、研究に携わる者として研究領域の停滞を感じていました。一方で、1990年代から2000年代にかけて、免疫系の制御に重要な遺伝子を欠損した遺伝子組換えマウスの開発や、免疫系細胞の種類や性質変化を詳細に解析するための解析技術・機器が発達し、これらを背景に現在のがん治療で主役となっている免疫チェックポイント阻害剤の基

礎研究が進みました。また、米国の外科医Rosenbergらは、患者のがん組織から分離したT細胞を生体外で大量に増やした後、患者に戻すことで強力な治療効果が得られることを報告し、次世代のがん治療の柱になることが期待されているT細胞療法の先駆けとなりました。加えて、遺伝子工学の粋を集めたともいえる、キメラ型抗原受容体(Chimeric Antigen Receptor; CAR)もこの時代に基礎が築かれました。

2010年代に入ると、次世代DNAシーケンス(NGS)技術の登場と発展により、がんに関わる遺伝子変異が一気に明らかになり、これに基づき特定の変異を持ったがんに対する分子標的療法や、治療方針の参考となるがん遺伝子パネルなどが開発されました。また、NGSを応用したTCR解析技術や1細胞遺伝子発現技術、そして大量のデータを処理する情報解析技術も現在進行形で発展しています。臨床研究では2012年に抗CTLA4抗体が、2014年には抗PD-1抗体が治療薬として承認され、これらの免疫チェックポイント阻害剤が、がん治療の主役になりました。

2010年代の後半から現在に至るまで、免疫チェックポイント阻害剤の治療効果をさらに上乗せするため、既存の化学療法や分子標的療法、免疫療法の組み合わせ、そして治療のタイミングなど無数ともいえる組み合わせをがん患者で試す臨床試験が世界中で行われていますが、2022年現在、治療効果が得られる割合は依然として2-3割程度に留まっています。これは、2000年代初頭のがん免疫治療の停滞期に通じるところがあります。しかし、がん免疫研究の停滞と飛躍を経験した身としては、現在筆者らを含めて世界中の研究者が取り組んでいる、新技術に基づくがん免疫研究の成果が数年後の新たながん治療のブレイクスルーに繋がるという期待も感じている状況です。次項では、筆者らの取り組みを読者に理解していただくための参考として、がん免疫の仕組みを紹介します。

■ がん免疫の仕組み

私たちの体を細菌やウイルスなどの病原体から守る生体防御システムである免疫系は、役割の異なる様々な種類の細胞で構成されており、また1つの細胞であっても成熟や活性化の状態によって異なる機能を発揮します¹⁾。遺伝子変異により発生した腫瘍細胞がもつ変異タンパク質を異物として認識するのは主にT細胞です。T細胞はTCRを介して自己と異なるタンパク質をもつ細胞を異物として認識します。T細胞以

外の細胞では、TCR 遺伝子は機能を持たない遺伝子断片として存在していますが、T 細胞では成熟過程でおこる遺伝子再構成という機構により断片がランダムに連結されることで、億、兆を超える天文学的な種類の成熟した TCR 遺伝子が作られます。1 つの T 細胞は 1 種類の TCR 遺伝子をもっており、TCR を介して対応する病原体や腫瘍細胞を認識すると、激しい分裂応答を起こして数を増やし（同じ TCR を持つ細胞をクローンと呼ぶ）、標的を攻撃します。これにより、感染症などで分裂応答を起こしたクローンは、他に比較し数が増加します。私たちの体は、膨大な多様性と特定クローンへの偏りを持った TCR のコレクション、“**TCR レパトア**”により様々な病原体から守られています。【図 2】

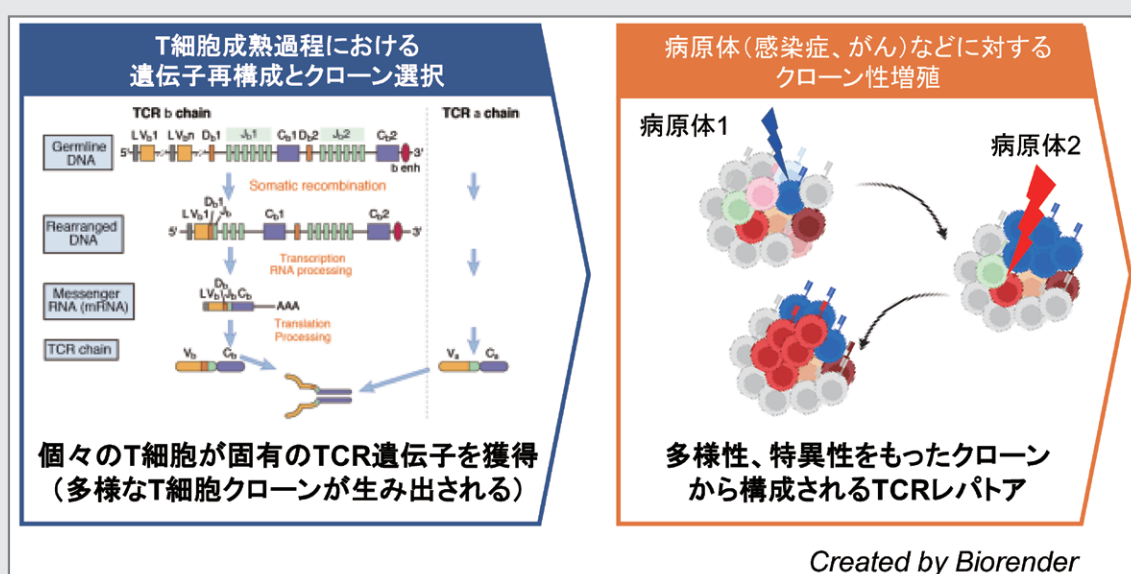
T 細胞を大きく分けると、腫瘍細胞やウイルス感染細胞などの非自己を直接認識して攻撃できる CD8⁺T 細胞と、非自己を貪食した樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞を介して間接的に認識する CD4⁺T 細胞に分類されます。

がん免疫治療を成功させるためには、特に腫瘍細胞を直接攻撃する腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞を生体内で効率的に活性化、増殖、維持することが重要です。この腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞の応答は、様々な種類の免疫担当細胞や腫瘍細胞などにより正または負の制御を受けています。樹状細胞は死んだ腫瘍細胞から放出されるがん抗原を貪食し、腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞へ提示することでこれを活性化します。樹状細胞による腫瘍

反応性 CD8⁺T 細胞の活性化には、樹状細胞に発現し TCR の刺激を上乗せする共刺激分子（CD80/CD86）が重要な役割を果たしていますが、免疫系にはこれを抑制する細胞も存在しています。共刺激分子と強い結合性を持つ免疫チェックポイント分子 CTLA-4 を高発現することで共刺激分子を樹状細胞から奪う CD4⁺Foxp3⁺ 制御性 T 細胞は、がん免疫の中でも特に重要な免疫抑制性細胞であり、特に担がん宿主の体内では数や活性化状態が増しています。このほかにも、腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞の活性化を促進する、もしくは直接腫瘍細胞を攻撃する CD4⁺ヘルパー T 細胞やナチュラルキラー細胞などの抗腫瘍性細胞が存在する一方で、免疫抑制性タンパク質やがんの増殖や移動を促進するタンパク質を作るマクロファージは腫瘍を促進する働きを持つと考えられています。

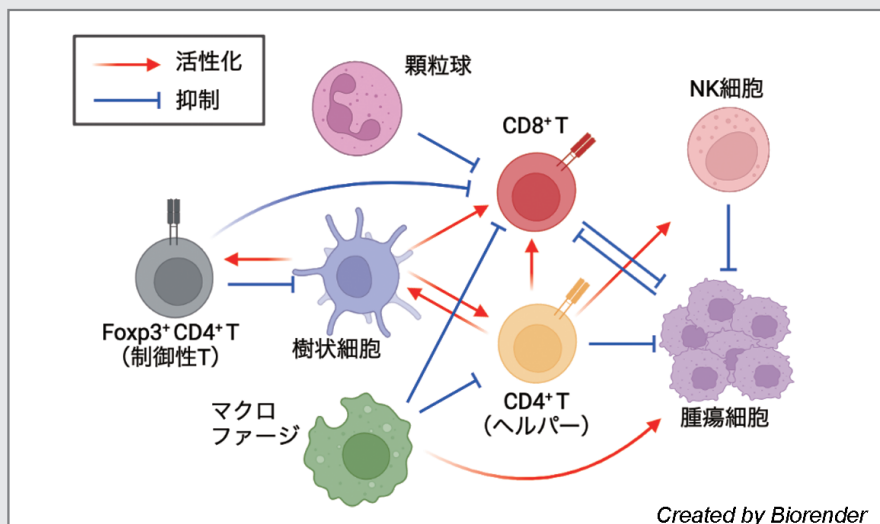
担がん宿主の生体内では抗腫瘍免疫を促進または抑制する様々な細胞が場所と時間を変えながら相互に活性化・抑制し合うことで、抗腫瘍免疫の強さが調整されています【図 3】。

次の項では、免疫系ががんと戦っている実効組織である腫瘍組織と、腫瘍反応性 T 細胞の増殖が起きる誘導組織である腫瘍所属リンパ節という、空間的に異なる組織間でどのように免疫細胞ががん抗原の情報を伝達しているかをまとめた“**がん免疫サイクル**”の概念を紹介します。



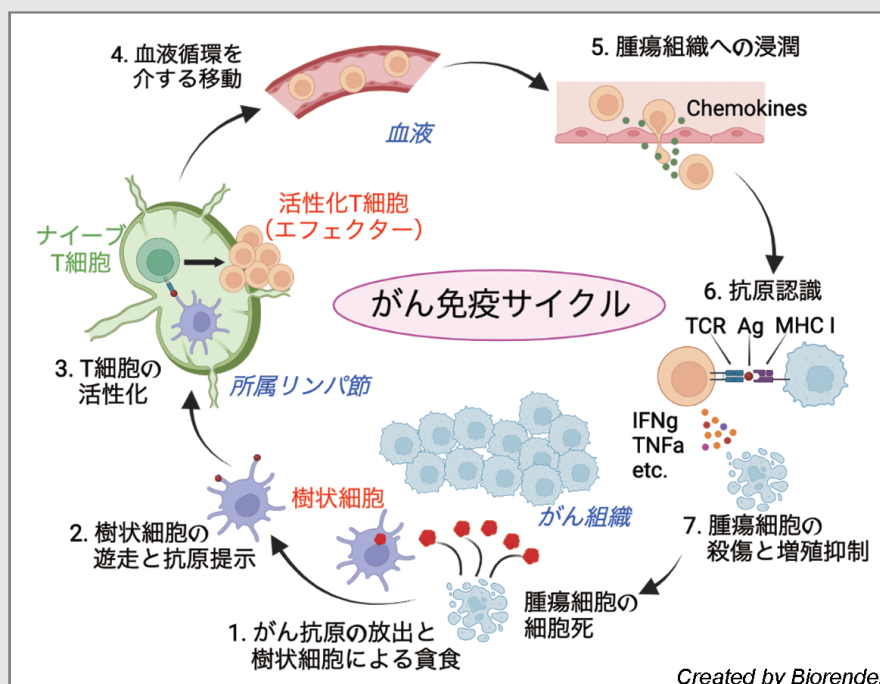
【図 2】T 細胞クローンと TCR レパトアの形成

T 細胞を生み出す胸腺では、T 細胞が成熟する過程で T 細胞受容体（TCR）遺伝子の再構成が起き、個々の T 細胞が固有の機能的な TCR 遺伝子を獲得する（T 細胞クローンの形成）。感染症などで抗原を認識した T 細胞クローンは選択的に増殖するため、我々の生体内では頻度の異なる多様なクローンにより構成される T 細胞レパトア（コレクション）が形成される。



【図 3】腫瘍免疫に関わる細胞群と相互作用

担がん生体内では、がんを直接認識して攻撃する CD8⁺ T 細胞を中心として、NK 細胞、CD4⁺ ヘルパー T 細胞、T 細胞を活性化する樹状細胞などが腫瘍増殖を抑制している。一方、Foxp3⁺CD4⁺ 制御性 T 細胞、マクロファージ、顆粒球などは免疫抑制を介してまたは直接的に腫瘍増殖を促進する。これらの細胞は正または負に調整する相互作用ネットワークを形成している。



【図4】がん免疫サイクルの概念

担がん生体内では、腫瘍組織におけるT細胞による腫瘍細胞の殺傷は、所属リンパ節における新たな抗原提示と腫瘍反応性T細胞の増殖を誘導し、さらに腫瘍細胞を殺傷する、時間・空間的な繋がりをもったサイクルが形成されている。

■ がん免疫サイクルと免疫チェックポイント

細胞表面に発現するタンパク質の種類を見分けるフローサイトメトリーという解析技術や、様々な遺伝子組換えマウスを用いた基礎研究に基づき提唱された“**がん免疫サイクル**”の概念では、抗腫瘍免疫応答を複数のステップに分けて考えています【図4】.

Step 1) 樹状細胞によるがん抗原補足：遺伝子変異

により細胞増殖に歯止めがきかなくなった腫瘍細胞が組織に発生すると、NK 細胞や腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞が腫瘍細胞の特徴を認識して攻撃、排除します。腫瘍組織には死細胞や細胞の老廃物を貪食除去する樹状細胞やマクロファージなど浸潤しており、攻撃を受けて死んだ腫瘍細胞から出るがん抗原を貪食します。

Step 2) 樹状細胞のリンパ節への移動：腫瘍組織には血管を通じて供給された酸素や栄養を含む組織液や

免疫細胞を体循環に戻すためのリンパ管が存在しており、抗原を貪食した樹状細胞はリンパ管を通じて所属リンパ節に移動します。Step 3) 腫瘍反応性 T 細胞の活性化：リンパ節には絶えず血液を循環している T 細胞がパトロールしており、腫瘍反応性 TCR を持つ $CD8^+$ T 細胞はがん抗原を持って所属リンパ節に移動した樹状細胞を認識して活性化・増殖します。Step 4) 血液循環を介する移動：複数回の分裂応答を経て抗腫瘍機能を高めた腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞は、再びリンパ管を経て体循環に戻り、腫瘍組織を探して血管内をパトロールし、炎症を起こした腫瘍組織の血管に固有の分子パターンを認識して停留します。Step 5) 腫瘍組織への浸潤：腫瘍血管を認識した腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞は、血管内皮を通り抜けて腫瘍へ浸潤します。Step 6) がん抗原認識：腫瘍組織に入った腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞は、腫瘍細胞またはがん抗原を貪食した浸潤白血球を認識してさらに活性化します。Step 7) 腫瘍細胞の殺傷と増殖抑制：がん抗原を認識した腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞は、直接腫瘍細胞を殺す、または腫瘍細胞の増殖を抑制することで、がんの増大を防ぎます。腫瘍細胞が殺傷されると、がん抗原が組織内に放出され、Step 1) 樹状細胞によるがん抗原補足へと戻ります。このような一連の流れは、元来ウィルスなどの病原体を効率的に排除するために進化の過程で免疫系が獲得した機構と考えられます。一方、免疫系は過剰な免疫応答が組織を傷害しないためのブレーキとして免疫チェックポイントを獲得

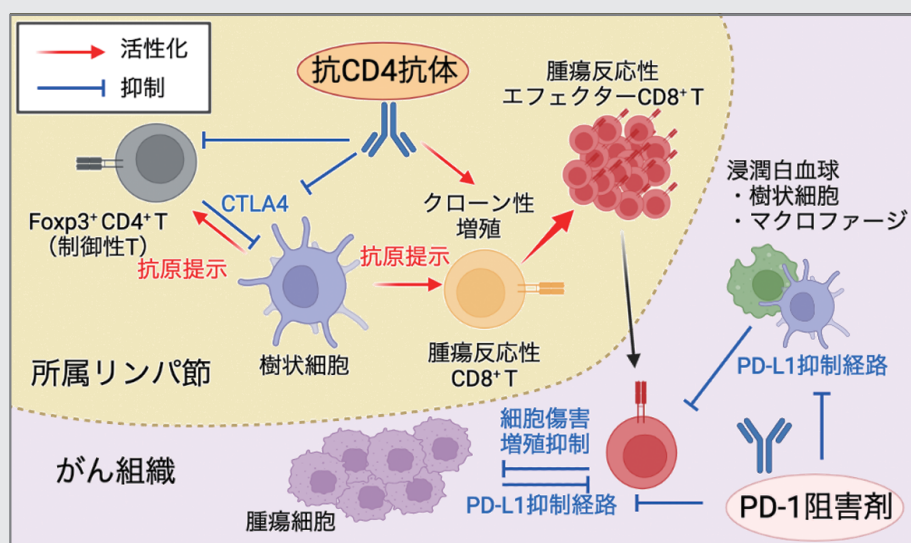
しています。がんはこの免疫チェックポイントを利用して免疫系による攻撃から逃れています。また、1つの腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞クローンは腫瘍と闘い続けるなかで徐々に疲弊し、機能を失うため、がん免疫サイクルを回して常に新しい腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞クローンを供給する必要があります。がん患者では、免疫チェックポイントの働きが強くがん免疫サイクルがうまく働かない状態になっていると考えられます。そのため、がん免疫治療ではいかにして免疫チェックポイントによる免疫抑制を解除し、効率的にがん免疫サイクルを回すかが重要となります。次の項では、筆者らが取り組んでいるがん免疫サイクルを回す新しいがん免疫療法について紹介します。

■ 抗 CD4 抗体の開発研究

感染症などに対する免疫応答において、 $CD4^+$ T 細胞は B 細胞の抗体産生や $CD8^+$ T 細胞の応答を増強するヘルパーとして重要な役割を果たします。そのため、がんに対する免疫においても腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞応答の誘導には $CD4^+$ T 細胞をうまく活性化することが重要という考えが一般的でした。一方、 $CD4^+$ T 細胞には $CD4^+Foxp3^+$ 制御性 T 細胞も含まれており、がん免疫サイクルにおける Step 3 を強力に抑制します。実際に遺伝子組換えにより $CD4^+Foxp3^+$ 制御性 T 細胞を選択的に除去できる担がんマウスモデルの解析から、 $CD4^+Foxp3^+$ 制御性 T 細胞の除去や

機能抑制が有望な治療アプローチであることが分かっていますが、残念ながらヒトにおいて制御性 T 細胞のみを抑制する手法は確立していません。

筆者らが本格的に新たながん免疫治療法の開発研究を始めた 2013 年当時、 $CD4^+$ T 細胞を除去する抗 CD4 抗体を担がんマウスに投与すると抗腫瘍効果が得られるという先行研究はありましたが、 $CD4^+$ ヘルパー T 細胞が抗腫瘍免疫に不可欠という概念は強固であり、抗 CD4 除去抗体の臨床開発を試みる研究者はいませんでした。このよ



Created by Biorender

【図 5】抗 CD4 抗体および PD-1 阻害による抗腫瘍効果

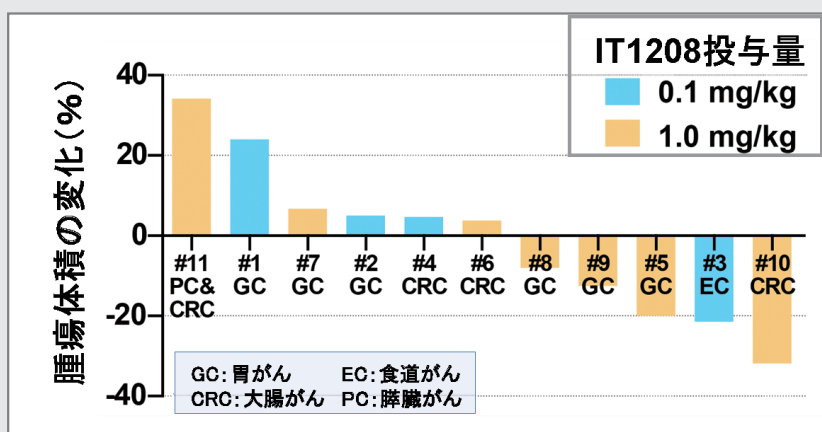
抗 CD4 抗体は制御性 T 細胞による樹状細胞の抗原提示抑制を解除し、腫瘍所属リンパ節における腫瘍反応性 $CD8^+$ T 細胞の応答を増強する。PD-1 阻害剤は腫瘍組織における PD-1/PD-L1 を介する T 細胞の活性化抑制を解除し、抗腫瘍効果を増強する。

うな状況下で、私たちはまず抗 CD4 除去抗体投与によりがん免疫サイクルを回すことの重要性を担がんマウスを用いた動物実験で示し、この知見に基づき消化器がん患者を対象とした抗ヒト CD4 抗体 IT1208 の臨床試験を実施しました。

マウスモデルでは、抗 CD4 除去抗体を投与すると腫瘍の所属リンパ節で強い CD8⁺T 細胞の増殖応答が誘導され、腫瘍組織に浸潤する CD8⁺T 細胞が未治療に比較し 100 倍程度増えることが分かりました。また、抗 CD4 除去抗体による CD8⁺T 細胞の増殖はがん抗原が流れ込まない非所属リンパ節では起きないこと、所属リンパ節で増殖する CD8⁺T 細胞は腫瘍反応性 TCR を持っていることも分かりました。これらの結果は抗 CD4 除去抗体ががん免疫サイクルにおける Step 3 を促進することを明確に示しています。さらに、Step 6, 7 を促進する抗 PD-L1 抗体と抗 CD4 除去抗体を併用すると、各々の単剤治療では達成出来なかった腫瘍の完全排除も得られるなど極めて強い抗腫瘍効果が得られることが分かりました²⁾【図 5】。

筆者らはこれらの知見に勇気づけられ、2017 年から消化器がん患者を対象とした抗ヒト除去 CD4 抗体 IT1208 の臨床試験を始めました。IT1208 を 1 mg/kg という比較的低用量で投与すると、血液を循環する CD4⁺T 細胞（制御性 T 細胞を含む）は翌日にはほぼゼロになり、1 週間程度かけて投与前の 20-30% 程度まで回復すること、一方 CD8⁺T 細胞は 1 ヶ月程度で投与前の約 2 倍近く増加することが分かりました。CD4⁺T 細胞が一過性に除去された患者 7 名のうち 4 名で腫瘍体積の縮小が得られ、懸念された感染症などの副作用は起きませんでした³⁾【図 6】。

これらの結果は、担がんマウスと同様にがん患者でも抗 CD4 抗体を用いて制御性 T 細胞を除去すると腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞の応答が増強され、抗腫瘍効果が得られることを示唆していますが、これをより強く証明するには腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞を同定し、その増減が抗腫瘍効果と関連することを示す必要がありました。次項では、私たちが、腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞の応答をクローンレベルで解析するために開発した TCR レパトア解析技術を紹介します。



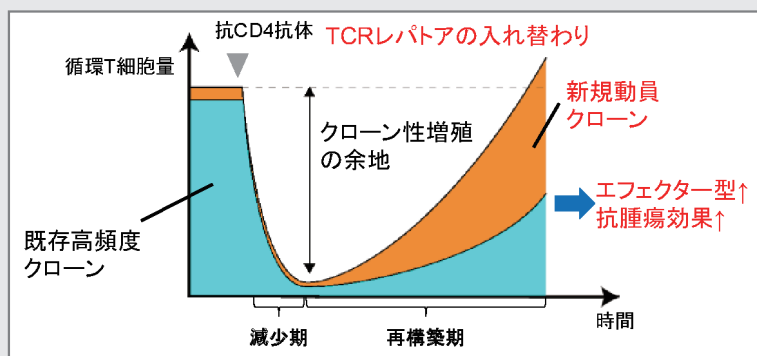
【図 6】抗ヒト CD4 抗体 IT1208 投与後の抗腫瘍効果

抗 CD4 ヒト抗体 IT1208 抗体の投与（特に高用量群）を受けた消化器がん患者では、7 症例中 4 症例で腫瘍の退縮を認めた。（文献 3 より改変引用）

■ 抗腫瘍 T 細胞応答を捉える TCR レパトア解析

新しいがん免疫治療の有効性を評価するための臨床試験では、治療前後での腫瘍体積の変化に加え、様々な免疫学的な指標、例えば血液やがん組織に含まれる T 細胞数などの変化がモニタリングされます。がん組織に浸潤した T 細胞の変化は治療による免疫状態の変化をよく反映しますが、一方でがん組織を複数回採取することは患者への負担が大きいため、長期的、複数回のモニタリングは血液を対象にせざるを得ません。しかしながら、血液中にはがんとは関係の無い（例えばウィルス反応性の）T 細胞も大量に存在しており、単純な細胞数の解析だけでは治療により腫瘍反応性 T 細胞の応答が強化されたかを判断することが出来ません。私たちはこの問題を解決するために、腫瘍組織浸潤 T 細胞と同じ TCR 遺伝子を持つ腫瘍関連 T 細胞クローンの増減を血液中でモニタリングする腫瘍一末梢血重複クローン解析という技術を開発しました。この技術は、腫瘍組織には腫瘍反応性 T 細胞が濃縮されていること、また末梢血中の CD8⁺T 細胞の中で、腫瘍組織と同じ TCR 遺伝子を持つクローンは、がん免疫サイクルにおける Step 4（リンパ節から腫瘍への移動）の段階に該当すること、すなわち腫瘍一末梢血重複クローンはがん免疫サイクルに参加している腫瘍反応性 T 細胞を反映する、という考えに基づきます。

実際に IT1208 を投与した患者の治療前後で腫瘍一末梢血重複 CD8⁺T 細胞クローンの末梢血中での頻度を解析すると、CD4⁺T 細胞が一時的にゼロとなった患者では治療後に重複クローンが増加していることが分かり、またその増加の程度と腫瘍退縮が関連することが分かりました。増加する重複クローンの内訳を



【図7】抗ヒトCD4抗体IT1208によるTCRレパトアの入替わり
抗CD4ヒト抗体IT1208抗体投与後、一過性のCD8⁺T細胞減少（減少期）を経て、既存高頻度クローンが減少し、エフェクター型新規動員クローンへ入れ換わったレパトアが再構築される。（参考文献4より改変引用）

みてみると、治療前に高頻度で存在していたクローンがさらに頻度を増している訳ではなく、むしろ頻度を減少させており、一方治療前は低頻度だったクローンが増加することで全体として重複クローンが増加していることが分かりました。これは、IT1208治療により腫瘍反応性CD8⁺T細胞クローンが入れ替わっていることを示唆しており、おそらくはがん免疫サイクルがうまく回り始めたことで、疲弊したクローンが新しく動員された抗腫瘍機能の高いクローンに入れ替わり、抗腫瘍効果をもたらしているのではと考えています⁴⁾

【図7】

免疫治療に伴う腫瘍反応性CD8⁺T細胞クローンの入れ替わりや新規クローンの動員は、抗PD-1抗体治療を受けたがん患者でも報告されており、がん免疫治療の成否に関わる重要な要素である可能性があります。

一方で、がん患者を対象とした臨床研究では治療前の患者の背景（がんの種類、進行度、免疫状態など）が均一でないことから統計学的な有意差を出すことは難しく、また新規クローンの動員などの免疫学的な変化が実際にがん縮小の原因なのか、もしくはがん縮小の結果なのかといった因果関係を実験的に証明することは出来ません。これを解決するには遺伝的背景や、がんの進行度が均一な担がんモデルマウスを使用し、免疫応答を人為的に操作する実験が必要になります。次項では、1細胞遺伝子発現解析技術と遺伝子組換えマウスを用いることで明らかになった、腫瘍反応性CD8⁺T細胞クローンを新規に動員することの意義を紹介します。

■ 新技術が明らかにするがん免疫治療の作用機構

免疫治療で抗腫瘍効果を得るには、がん免疫サイク

ルを活性化させ、腫瘍反応性CD8⁺T細胞クローンを新規に動員することが重要であることが分かってきました。筆者らは次に、抗CD4抗体や抗PD-L1抗体等の免疫治療によるがん免疫サイクルの活性化が、担がんマウスのTCRレパトアにどのように反映されるかを解析しました。腫瘍反応性CD8⁺T細胞を反映する腫瘍一所属リンパ節重複クローンが腫瘍浸潤CD8⁺T細胞に占める割合と重複クローンの種類は、抗CD4抗体と抗PD-L1抗体、そして両者の併用により統計的な有意差を持って増加し、またその増加の程度

が腫瘍増殖の抑制と相関を持つことが分かりました。この重複クローンの増加は存在頻度が上位10位以内のいわゆるmajorクローンの増加によるものではなく、11位以下の比較的minorクローンの増加によることも分かりました。筆者らはこのminorクローンの増加を“clonal spreading”というがん免疫を理解する上で、重要な新しい概念として提唱しています【図8】。

minorクローンの増加が抗腫瘍効果と関連するという筆者らの結果は、“majorクローンほど腫瘍への反応性や抗腫瘍機能が強く腫瘍増殖抑制に重要”という一般的な考えとの整合性に問題がありました。そこで、筆者らは次にminorクローンが実際にどのような機能を持つかを明らかにするため、2020年前後から発展してきた新技術であるsingle-cell TCR/RNA seq解析を行い、個々のクローンの遺伝子発現パターンを解析しました。がん組織から回収した腫瘍一所属リンパ節重複クローンをmajor, minorに分類し、遺伝子発現パターンにより疲弊の程度、増殖性、抗腫瘍機能などを解析したところ、majorクローンは抗腫瘍機能が高いものの疲弊が進んでおり増殖性を失っていること、一方minorクローンは疲弊していない、増殖性を残した細胞であることが分かりました。これらの結果は、抗CD4抗体や抗PD-L1抗体ががん免疫サイクルにおけるStep 3、樹状細胞による新規クローンの活性化・動員を促進していることを示唆します。筆者らはこれを実験的に検証する1つの方法として、腫瘍組織から所属リンパ節へ移動する樹状細胞を人為的に除去するとclonal spreadingが抑制されるか、を検証しました。

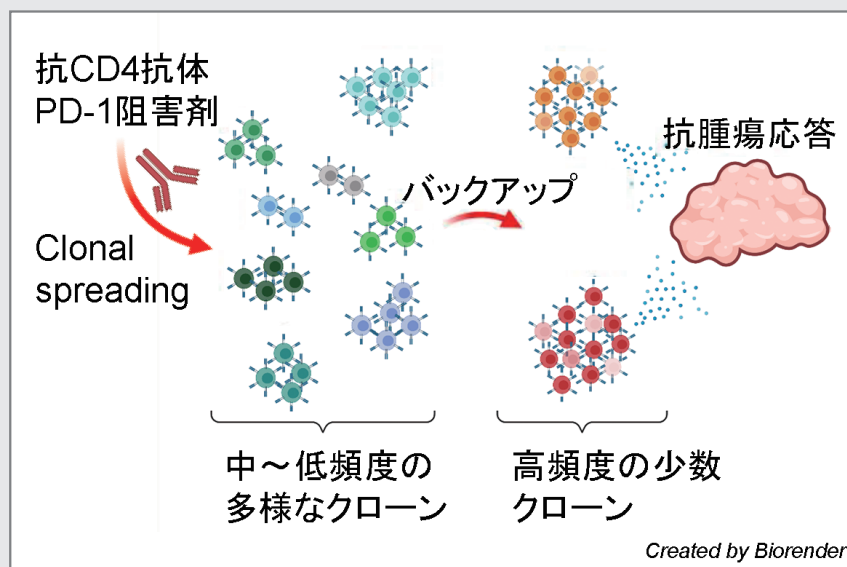
1973年にSteinman博士らが発見した樹状細胞は、実際には機能や細胞起源の異なる複数のサブセットが存在します。ごく少数のタンパク質の発現パター

ンで樹状細胞を分類していた 2010 年以前は、時として細胞の性質と結びつかない分類が時代の流行り廃りで用いられてきましたが、1 細胞遺伝子発現解析技術が発展した 2010 年代後半には数千の遺伝子の発現パターンによる分類が可能になり、異なる施設、研究者間で共通した細胞に関する議論が可能になりました。筆者らも 1 細胞遺伝子発現解析技術を用いることで腫瘍組織から所属リンパ節へ移動する樹状細胞に選択的に発現する *Fscn1* という遺伝子を同定し、*Fscn1* を発現する細胞を薬剤投与で除去できる遺伝子組換えマウスを作成しました。この遺伝子組換えマウスを用いて担がんマウス

モデルを作成したところ、予想通り抗 CD4 抗体や抗 PD-L1 抗体で誘導される clonal spreading はこの樹状細胞除去により著明に低下することが分かりました。従来抗 PD-1/PD-L1 抗体は主に腫瘍組織で疲弊した CD8⁺T 細胞の機能を回復することで抗腫瘍効果をもたらすと考えられてきましたが、TCR レパトア解析、single-cell TCR/RNA seq および樹状細胞除去マウスという新しい技術・解析ツールを用いることで、抗 PD-L1 抗体は抗 CD4 抗体と同様に、がん免疫サイクルにおける Step 3、すなわち新規クローンの動員を強化するという従来とは異なる作用点を明らかにできたと言えます。筆者らは、これらの発見をもとに clonal spreading ががん患者の抗腫瘍免疫状態を反映する、治療応答予測・診断マーカーになると期待して、臨床研究への発展を予定しています。

■ おわりに

本稿では、がん治療の重要な選択肢として近年急速に発展してきたがん免疫治療の歩みと仕組みを紹介するとともに、新しい生命科学技術を用いたがん免疫の基礎研究が新たながん治療まで結びついていることを紹介しました。がん免疫研究は時として相反する研究結果が報告されるなど、生命科学の中でも特に再現性に乏しい分野の 1 つでしたが、TCR レパトア解析や 1 細胞遺伝子発現解析技術の登場により、この混沌が整理されつつあります。一方、新技術の登場によりこれまで見えてこなかった新しい疑問も生じてい



【図8】免疫治療がもたらす腫瘍反応性 T 細胞の Clonal spreading

抗 CD4 抗体や PD-1 阻害剤は、高頻度クローンの疲弊を解除しさらに増加させるのではなく、中～低頻度の多様なクローンを増加させる事で、腫瘍反応性 T 細胞応答の増強と持続化に寄与している。

ます。筆者らは、同じ TCR を持った T 細胞クローンでも担がん宿主生体内での運命に多様性があることを見い出しています。この多様性は個々の細胞が生体内で経験した抗原刺激や周辺環境に基づくと考えられますが、その実態は明らかではありません。これを解き明かすことで腫瘍反応性 CD8⁺T 細胞クローンの機能を最大限発揮させる新しい治療戦略が確立出来るかもしれません。また、TCR レパトア解析や 1 細胞遺伝子発現解析技術は、担がん宿主における免疫応答に関して従来研究の数千倍におよぶ膨大なデータを生み出します。1 細胞遺伝子発現解析では既存知識に依存しない解析を重要視する傾向がありますが、がん免疫の解釈には解剖学、組織学、血液学、生理学などの頑健に確立した知識も重要であり、いかにしてデータサイエンスに既知の知識を統合していくのか、という点も今後のがん免疫研究に重要と考えられます。今後生み出され続けるがん免疫に関わる膨大なデータを有効に生かすための革新的な情報解析技術や、免疫応答の原理を表す数理モデルの確立、膨大な治療標的候補を迅速、簡便、低コストに検証する技術など、がん免疫研究を支える新たな技術革新が起こり、10、20 年後のがん治療に繋がることを期待しています。

参考文献

- 1) 松島綱治 他, 「もっとよくわかる! 炎症と疾患」 羊土社 (2019)
- 2) Ueha S, *et al.* 2015. Cancer Immunol. Res. 3: 631–640.
- 3) Shitara K, Ueha S, *et al.* 2019. J. Immunother. cancer 7: 195.
- 4) Aoki H, Ueha S, *et al.* 2021. Cancer Immunol Res. 9: 624–636.