

研究題目

PD-1 による T 細胞活性化抑制の分子メカニズムの解明

研究組織

研究代表者：岡崎 拓（東京大学定量生命科学研究所）
共同研究者：小迫 英尊（徳島大学先端酵素学研究所）
研究分担者：清水 謙次（東京大学定量生命科学研究所）

【1】研究の概要

[1-1] 本研究の目的・概要

抑制性免疫補助受容体 PD-1 および CTLA-4 の機能阻害によるがん免疫療法、いわゆる免疫チェックポイント阻害療法を開発した功績により、本庶佑博士と James P. Allison 博士にノーベル生理学・医学賞が 2018 年に授与された。両博士の研究により、未治療の状態でもがん細胞に対する免疫応答が既に誘導されているものの抑制性免疫補助受容体により無力化されていること、抑制性免疫補助受容体の機能を阻害するだけで、体内で無力化されていたがん細胞特異的 T 細胞を活性化し、がんを治療し得ることが明らかにされた。免疫チェックポイント阻害療法の出現はがん治療およびがん研究に大きな変革をもたらしたが、その奏効率は限定的であり、改良が望まれている。治療法の改良および新規治療法の開発には、標的分子の機能を正確に理解することが必須であるが、PD-1 による T 細胞活性化の抑制メカニズムには、依然、多くの謎が残されている。

T 細胞および B 細胞における抗原受容体シグナルにおいては、チロシンリン酸化酵素が中心的な役割を担う。PD-1 はチロシン脱リン酸化酵素 SHP-2 をリクルートして抗原受容体シグナルを抑制すると考えられているが、PD-1 にリクルートされた SHP-2 がどの分子をどの程度、脱リン酸化しているのかは不明である。そこで本研究では、抗原刺激によりもたらされる様々なタンパク質のリン酸化に PD-1 が与える影響を解明することを目的とした。

[1-2] 研究の方法・経過

我々はこれまでに、T 細胞ハイブリドーマおよび抗原特異性が既知の TCR を導入した T リンパ腫細胞株を、特異的な抗原ペプチドを提示させた B リンパ腫細胞株などと共培養することにより活性化する実験系を複数構築している。また、初代培養 T 細胞を、Fc 受容体を介して抗 CD3 抗体を提示させた B リンパ腫細胞株などと共培養することにより活性化する実験系を構築している。これらの実験系において、T 細胞に PD-1、抗原提示細胞に PD-1 リガンド (PD-L1 あるいは PD-L2) を発現させることにより、T 細胞の活性化を PD-1 依存的に抑制することに成功している。

これらの実験系を用いて、PD-1 シグナル存在下および非存在下で T 細胞を一定時間刺激した後、タンパク質を抽出し、TMT (tandem mass tag) 法による定量的リン酸化プロテオーム解析を実施した。その結果、約 28,000 個のリン酸化ペプチドを得ることに成功した。現在、異なる刺激条件における解析の追加、得られたリン酸化ペプチドの検証などを進めている。

【2】研究成果

[2-1] 本共同研究で明らかになった研究成果

TMT 法による定量的リン酸化プロテオーム解析により、T 細胞が抗原刺激を受けて活性化する際にリン酸化を受けるタンパク質を多数得ることに成功した。これらの中には、これまで T 細胞の活性化においてあまり注目されていないものが含まれており、未知のシ

グナル伝達経路の解明につながる可能性が期待される。

また、PD-1 存在下でリン酸化が減弱するタンパク質を複数得ることに成功した。今後、これらの解析を進めることにより、PD-1 がどのようなシグナル伝達経路を標的としているのかが解明されると期待される。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

本共同研究により、T 細胞の活性化に関わる未知のシグナル伝達経路が解明される可能性がある。また、PD-1 が標的とするシグナル伝達経路が解明されると期待される。

未知のシグナル伝達経路が解明されれば、T 細胞の機能を制御するための創薬ターゲットになる可能性がある。PD-1 の機能を正確に理解することは、がんおよび他の疾患に対する効果的かつ安全な免疫制御療法の開発につながると期待される。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

なし

[3-3]成果資料等

なし

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

今回の解析では、極めて高い感度でリン酸化ペプチドを同定することに成功した。一方、これまでに T 細胞抗原受容体刺激によりリン酸化を受けることが報告されているタンパク質のいくつかは、検出されなかった。これは、用いた細胞、刺激強度、刺激時間などが影響しているものと思われる。実験条件を増やすことにより改善が期待されるが、実験条件が増えれば、その分、解析に要する費用は増大する。検出感度のさらなる向上、同時に解析できるサンプル数の増加、サンプル当たりの解析コストの低下が今後の課題と言える。