

特集 明日の診療に役立つ細胞分子生物学

Topics 5

Costimulatory/ coinhibitory 分子の 免疫学的役割とその臨床応用

石井 直人

要旨：T 細胞の活性化とそのコントロールをつかさどる，costimulatory/coinhibitory分子を標的とした免疫療法が臨床応用されつつある。特に，CD28 阻害薬であるCTLA-4-Igは関節リウマチの治療薬として，CTLA-4 阻害薬と PD-1 阻害薬は癌免疫療法薬として，その有効性が注目されている。Costimulatory/coinhibitory分子を標的とした他の免疫療法薬が次々と開発されており，免疫療法のパラダイムシフトを迎えている。

キーワード：Costimulatory 分子，Coinhibitory 分子，T 細胞，
免疫療法
Costimulatory molecule, Coinhibitory molecule,
T cell, Immunotherapy

連絡先：石井 直人
〒980-8575 宮城県仙台市青葉区星陵町 2-1
東北大学大学院医学系研究科免疫学分野
(E-mail: ishiin@med.tohoku.ac.jp)

はじめに：Costimulatory/coinhibitory 分子とは

T細胞はT細胞受容体（TCR）に結合した抗原からの刺激によって抗原特異的に活性化するが、その際に、抗原刺激 [TCR からのシグナル（シグナル1）] と同時に第2のシグナルを受ける必要がある。この第2のシグナルを受けずに抗原刺激のみを受けたT細胞は、活性化するどころか抗原に不応答状態 [アネルギー（anergy）] となり、免疫寛容が誘導される。すなわち、T細胞が抗原特異的に活性化するためには、抗原刺激+第2のシグナルが必要である。この第2のシグナルは現在では costimulatoryシグナルと呼ばれる。Costimulatoryシグナルは、T細胞表面に発現する CD28, ICOS といった CD28 型分子や OX40, 4-1BB といった TNF 受容体型分子を介して T細胞に供与され、costimulatoryシグナルを T細胞に供与するこれらの膜型受容体は、costimulatory分子と総称される。「costimulatory」は日本語では、「共刺激の」、「補助刺激の」、「補助シグナルの」など、「TCR刺激とともに供与されるT細胞活性化を補助する刺激」を意味する訳語があてられているが、単なる補助ではなく、T細胞活性化に必須であることを強調しておきたい。本稿では、原語のまま costimulatory と記す。

一方、上記の costimulatory 分子群が次々と発見される過程で、細胞外領域が costimulatory 分子群と同型でありながらT細胞内に伝達されるシグナルが抑制性である CTLA-4 や PD-1 が発見された。CTLA-4 や PD-1 からの T細胞抑制シグナルは、TCR 刺激を受けた T細胞において作用し、抗原刺激を受けていないナイーブT細胞には全く影響を与えない。すなわち、抗原刺激（第1のシグナル）依存的に作用することから、この抑制シグナルを coinhibitoryシグナルと呼び、このシグナルを T細胞に供与する膜型受容体を coinhibitory分子と総称する。なお、「coinhibitory」の良い訳語が存在しないため、本稿では coinhibitory のまま記す。

costimulatory および coinhibitory 分子は抗原特異的な T細胞で機能することから、その作用する場所は抗原の存在する部位に限定される。したがって、これらの分子を標的とした免疫抑制剤あるいは免疫賦活剤は、その作用部位が局所的であることにより副作用が少ないという大きな利点を有する。本稿では、前半で costimulatory/coinhibitory 分子の免疫学的機能を概説し、これらの分

子が免疫抑制剤/免疫療法製剤として期待される理由を説明し、後半ではこれらの分子を標的とした免疫療法の現状について述べる。

Costimulatory/coinhibitory 分子の役割と作用機構

1. Costimulatory 分子

抗原提示において、抗原提示細胞上の抗原断片/MHC 複合体と T細胞上の TCR との結合によってシグナル1（抗原刺激, TCR シグナル）が伝達されるが、それとほぼ同時に、T細胞上の costimulatory 分子と抗原提示細胞に発現する costimulatory 分子リガンドとの結合が起こり、この結合によって T細胞に costimulatory シグナル（シグナル2）が伝達される。さらに、抗原提示細胞やT細胞自身から分泌されるサイトカインがT細胞に増殖・生存・分化のシグナル（シグナル3）を伝達する。これらのどれか一つでも欠けると、T細胞はアネルギー状態やアポトーシスに陥り、抗原に対する免疫反応を発動できない。T細胞にシグナル2を与える costimulatory 分子には、CD28/ICOSに代表されるCD28型分子や、OX40（CD134）や4-1BB（CD137）をはじめとするTNF受容体型分子があり、それらが伝達するシグナルは主にT細胞の活性化・増殖・生存を促す。表1に示すとおり、costimulatory 分子のリガンドは、生理的条件下では、樹状細胞、マクロファージ、活性化B細胞などの抗原提示細胞に発現している。すなわち、これらの細胞がT細胞と相互作用すると、シグナル1とシグナル2が同時に供与され、T細胞は活性化される（図1）。

CD28はナイーブT細胞を含むすべてのT細胞に恒常的に発現し、ナイーブT細胞の抗原特異的な活性化に必須である。T細胞に発現するCD28は抗原提示細胞上に発現するリガンド（CD80およびCD86）と結合することにより costimulatory シグナルを T細胞に伝達する。それによって活性化されたT細胞は自身が産生するIL-2に反応してエフェクターT細胞へと分化する。一方、OX40や4-1BBはナイーブT細胞には全く発現せず、抗原刺激1~2日後に一過性に活性化T細胞上に発現し、抗原提示細胞に発現するリガンド（OX40Lや4-1BBL）と結合する。活性化T細胞上のOX40/4-1BB発現はCD28刺激により増強されるので、時間的にOX40/4-1BB系はCD28シグナルの下流で機能する（図1）。CD28シグナルは抗

表 1 主な T 細胞 costimulatory/coinhibitory 分子

	Full spelling, 別名など	T 細胞での 発現制御	T 細胞への 作用	リガンド (別名など)	リガンド発現細胞
CD28 型分子					
CD28		恒常的	costimulatory	CD80 (B7, B7-1) CD86 (B70, B7-2)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞
ICOS	inducible T-cell costimula- tor, CD278		costimulatory	ICOS-L (CD275, B7-RP1, B7-H2, B7h)	抗原提示細胞
PD-1	programmed cell death 1, CD279	抗原刺激で誘導	coinhibitory	PD-L1 (B7-H1, CD274) PD-L2 (PDCD1LG2, B7-DC, CD273)	多くの細胞, 癌細胞 樹状細胞, マクロファージ
CTLA-4	cytotoxic T-lymphocyte antigen 4, CD152	抗原刺激で誘導	coinhibitory	CD80 (B7, B7-1) CD86 (B70, B7-2)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞
TIGIT	T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains, Vsig9, Vstm3, WUCAM	抗原刺激で誘導	coinhibitory	CD155 (PVR) : high affinity to TIGIT CD112 (PVRL2, nectin-2) : low affinity to TIGIT	樹状細胞, 上皮細胞
BTLA	B- and T-lymphocyte attenuator, CD272	恒常的	coinhibitory	HVEM (CD270, TN- FRSF14)	T 細胞, 腸管上皮
TNF 受容体型 分子					
CD27	TNFRSF7	恒常的	costimulatory	CD70 (TNFSF7)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞, 肥満細胞, 平滑筋 細胞
CD30	TNFRSF8	抗原刺激で誘導	costimulatory	CD30L (CD153, TNFSF8)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞
OX40	CD134, Act35, TNFRSF4	抗原刺激で誘導	costimulatory	OX40L (gp34, CD252, TNFSF4)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞, 肥満細胞, 血管内 皮細胞, 平滑筋細胞
4-1BB	CD137, ILA, TNFRSF9	抗原刺激で誘導	costimulatory	4-1BBL (CD137L, TNFSF9)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞, 肥満細胞, 平滑筋 細胞
GITR	glucocorticoid-induced TNFR-related protein, CD357, AITR, TNFRSF18	抗原刺激で誘導	costimulatory	GITRL (TL6, TNFSF18)	樹状細胞, マクロファージ, B 細胞
その他					
Tim-2	T cell immunoglobulin and mucin domain 2	サイトカイン刺 激で誘導	costimulatory	Sema4A	樹状細胞, 活性化 T 細胞
Tim-3	T cell immunoglobulin and mucin domain 3	サイトカイン刺 激で誘導	coinhibitory	galectin-9, HMGB1 (ともに 細胞内分子)	死細胞, 癌細胞

原認識直後の T 細胞活性化とクローナル増殖に必須であるが T 細胞の生存には必要ないのに対し, OX40/4-1BB シグナルは T 細胞クローナル増殖にはそれほど影響しないが, その後に生じる activation-induced cell death (AICD) を阻害することにより, エフェクター T 細胞の生存に必須である。また, OX40/4-1BB は記憶 T 細胞が抗原によって再活性化された際にも, 記憶 T 細胞から生じたエフェクター T 細胞の生存を促進する。したがって,

CD28 は「ナイーブ T 細胞の costimulatory 分子」であるのに対して, OX40/4-1BB は「エフェクター T 細胞の costimulatory 分子」と理解される¹⁾。これらの costimulatory 分子の作用を増強あるいは抑制することにより, 癌治療や自己免疫/炎症性疾患の治療の新戦略が進行している。

2. Coinhibitory 分子

表 1 に示すとおり, coinhibitory 分子として知られて

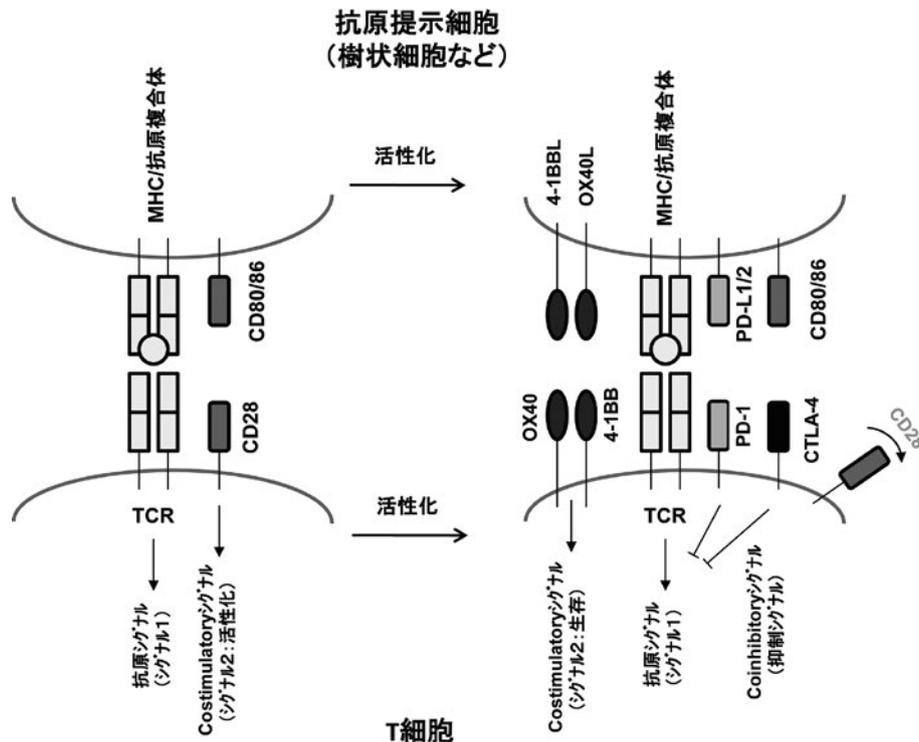


図1 抗原特異的 T 細胞活性化における costimulatory/coinhibitory 分子の働き。TCR と MHC/抗原複合体との結合により、T 細胞受容体 (TCR) を介した抗原シグナル (シグナル 1) が T 細胞に供与される。同時に、CD80/86 と CD28 の結合により CD28 から costimulatory シグナル (シグナル 2) が供与されると T 細胞は活性化する。なお、CD28 シグナルが供与されないと T 細胞は抗原に不応答となる。活性化した T 細胞は細胞表面に OX40 や 4-1BB などの costimulatory 分子を発現すると同時に、CTLA-4 や PD-1 などの coinhibitory 分子を発現する。OX40 や 4-1BB からはエフェクター T 細胞の生存に必要な costimulatory シグナル (シグナル 2) が伝達され、一方、CTLA-4 や PD-1 からは、活性化 T 細胞を沈静化させる coinhibitory シグナル (抑制シグナル) が伝達される。また、CTLA-4 は CD28 よりも強力に CD80/86 に結合するため、CD80/86 と CD28 の結合がはずれ、CD28 からの costimulatory シグナルの伝達がストップする。これらの分子の発現とシグナル伝達が時間的・空間的に順序よく起こることにより、T 細胞免疫反応が精緻にコントロールされる。

いるもののほとんどは CD28 型分子である。CTLA-4 や PD-1 にリガンド (CD80/86 および PD-L1/2) が結合すると、チロシン脱リン酸化酵素 (SHP-1, SHP-2 など) が coinhibitory 分子の細胞内領域にリクルートされて脱リン酸化反応が活性化され、T 細胞活性化に必要なチロシンリン酸化反応が阻害される。この脱リン酸化反応によって T 細胞の活性化が抑制される。

さらに、個々の分子に特異的な T 細胞活性化抑制機構が存在するが、そのなかで CTLA-4 による抑制機構は詳細に解明されている。その機序として、脱リン酸化酵素を介する T 細胞抑制シグナルの供与に加えて、CD28 に対するリガンド結合の競合阻害が知られている。CD28

と CTLA-4 は CD80 および CD86 を共通のリガンドとして使用するが、CTLA-4 と CD80/CD86 との結合親和性が CD28 のそれに比し 20 倍程度高い。そのため、T 細胞上に CD28 と CTLA-4 が同時に発現する場合には、ほとんどの CD80/CD86 は CTLA-4 に結合することになり、CTLA-4 の存在によって CD28 への結合が阻害される。生理的条件下では、CD28 が恒常的に T 細胞に発現するのに対し、抗原認識前の静止状態の T 細胞には CTLA-4 は発現しておらず、抗原刺激 (シグナル 1) と CD28 刺激 (シグナル 2) によって T 細胞が活性化されることにより CTLA-4 の発現が誘導される。そして、活性化 T 細胞上に発現誘導された CTLA-4 は CD28 に結合していた

CD80/CD86 を CD28 から奪い取る形で T 細胞活性化を沈静化する (図 1)。したがって、CTLA-4 は T 細胞の免疫反応をコントロールするために必須の分子である。この作用に着目して、種々の免疫療法薬が開発された。人為的に作製したりコンビナント CTLA-4-Ig (CTLA-4 の細胞外領域に免疫グロブリンの一部を融合させた可溶性 CTLA-4) を生体に投与すると、ナイーブ T 細胞の活性化に必要な CD28 シグナル (シグナル 2) が遮断されるので、ナイーブ T 細胞は活性化できない。その作用により、CTLA-4-Ig は自己免疫/炎症性疾患の治療薬として臨床応用されている (後述)。その作用とは対照的に、阻害性抗 CTLA-4 抗体を生体に投与し CTLA-4 と CD80/CD86 との結合を人為的に遮断すると、CD28 と CD80/CD86 との結合が継続するために T 細胞の活性化が増強される。この作用を利用することにより、悪性腫瘍に対する T 細胞免疫反応を増強することが可能となるため、抗 CTLA-4 抗体は癌の免疫療法薬として注目されている。

3. Exhausted (消耗) T 細胞と coinhibitory 分子

生体内で T 細胞が抗原刺激を頻回に受けると、徐々に抗原に反応できなくなり、抗原が周囲に存在するにもかかわらず、免疫反応に全く関与できない T 細胞へと変質することが知られている。このような変質した T 細胞を exhausted (消耗) T 細胞と呼ぶ。HIV や HCV などの慢性ウイルス感染者に、ウイルス抗原特異的な消耗 T 細胞が存在することが知られており、その消耗状態を解除し抗原反応性を復活させることができれば、ウイルス感染治療の有効な手段となると考えられていた。2006 年に Day らのグループは、HIV 感染によって生じる消耗 T 細胞に PD-1 分子が発現していることを見いだした。さらに、*in vitro* で PD-1 と PD-L1 の結合を阻害することで、消耗 T 細胞の消耗状態を解除し、ウイルス特異的なキラー T 細胞の機能を回復させることに成功した²⁾。すなわち、慢性ウイルス感染において、PD-1 と PD-L1 の恒常的な結合が消耗 T 細胞の消耗状態の形成と維持に必須であり、その結合を阻害することで T 細胞の消耗状態を解除できることが示された。

PD-1 阻害薬がヒトの癌治療でその有効性が示されている。癌組織内の T 細胞が不応答状態にあることが知られているが、その不応答状態が慢性ウイルス感染における消耗状態と類似していることから、癌においても抗 PD-1 抗体 (あるいは抗 PD-L1 抗体) が、癌抗原特異的な消耗 T 細胞の不応答性を解除している可能性が推定さ

れる。

Costimulatory/coinhibitory 分子を標的とした免疫療法

1. CD28/CTLA-4 を標的とした免疫療法

CTLA-4-Ig (abatacept) は、CD80/CD86 に結合することにより CD28 の costimulatory シグナルを阻害し、抗原特異的な T 細胞の活性化を抑制する。関節リウマチでの有効性が示され治療薬として認可されている。メトトレキサートや TNF α 阻害薬とは全く異なる機序で作用することから、従来の治療の抵抗性症例での有効性や従来治療との併用での効果が期待されている³⁾。

CD28/CTLA-4 を標的とした癌免疫療法が開発されている。その過程で起こった、CD28 アゴニスト抗体 TGN 1412 の第 1 相試験での事故は多くの教訓を残した。6 人の健康な男性が同抗体の投与を受けたところ、その直後から、サイトカインストームによるショック症状を呈し、危うく一命を落としかけたという事故である⁴⁾。体内で抗原を認識して活性化しようとしている T 細胞のすべてが強い CD28 シグナルを受けたために、抗原の種類とは関係なしに T 細胞が一斉にサイトカインを産生したと考えられる。バイオ製剤の治験のあり方に警鐘を鳴らした事例となった。

それに対し、すでに臨床応用されている CTLA-4 阻害性抗体 (ipilimumab, tremelimumab) による CTLA-4 と CD80/CD86 との結合阻害は、CD28 シグナルを増強するのではなく、生理的な強さの CD28 シグナルを時間的に遷延化させることが主な作用であるため、CD28 アゴニスト抗体のような重篤な副作用は考えられない。CTLA-4 抗体は、治療抵抗性の悪性黒色腫症例での延命効果が証明され、悪性黒色腫の治療薬として FDA で承認されている。一方、患者体内で活性化中の不特定の T 細胞の機能を増強することから、10% 程度の症例で、副作用として自己免疫様症状や炎症性腸疾患様の腸炎がみられたことが報告された。今後、適応の最適化を図る必要があると思われる。他方、進行性前立腺癌などの他の悪性腫瘍での適応拡大が期待されている。

2. PD-1 を標的とした癌免疫療法

PD-1 と PD-L1 との結合が T 細胞機能を抑制することや、抗原の頻回刺激が与えられる環境下では T 細胞の消耗 (exhaustion) を惹起することを前述した。一方、以

前より、腎細胞癌、悪性黒色腫、食道癌や膵臓癌などの悪性腫瘍において、腫瘍組織のPD-L1の発現が予後不良のリスク因子となることが知られていた。すなわち、腫瘍に発現するPD-L1が、腫瘍内や腫瘍周囲に存在するT細胞にPD-1シグナルを供与することで、腫瘍抗原特異的なT細胞を機能抑制あるいは消耗状態に陥らせている可能性が示唆された。PD-1の発見者である京都大学のOkazakiらは、それを根拠に、PD-1を標的とした癌免疫療法を提唱した⁵⁾。それが現実のものとなり、現在まで、悪性黒色腫、腎細胞癌、非小細胞肺癌、前立腺癌において抗PD-1阻害性抗体(nivolumabあるいはpembrolizumab)あるいは抗PD-L1阻害性抗体(MPDL3280A)の治療効果が認められており^{6,7)}、特にPD-L1を発現する腫瘍において有意な奏効率が認められることが報告された。さらに、PD-1阻害性抗体(nivolumab)とCTLA-4阻害性抗体(ipilimumab)の併用療法の進行性悪性黒色腫に対する第1相試験では、奏効率(ORR)が40%とPD-1阻害性抗体単剤投与のORR:28%よりも好成績を示し、治療抵抗性の悪性腫瘍に対する両者の併用療法が期待されている⁸⁾。

また、従来それほど有効な薬物療法が存在しなかった非小細胞肺癌において、PD-1阻害薬の有効性が示されたことは画期的な知見であり、今後の肺癌治療戦略に変更を迫るほどの大きな成果であると思われる。

3. OX40および4-1BBを標的とした免疫療法

OX40/4-1BBの阻害は、抗原特異的なエフェクターT細胞のみを細胞死に陥れるので、T細胞依存的な炎症を抑える一方でB細胞や静止状態のT細胞に影響を与えない点で、副作用がきわめて少ない抗炎症免疫療法(第三世代免疫抑制療法)として注目されている。しかし、OX40L阻害性抗体の気管支喘息に対する第1相試験では、喀痰中の好酸球数が1/4に減少したのみで、症状や血液中のIgE量にはほとんど変化はなく、期待されていたほどの治療効果は認められなかった。OX40阻害薬の他のアレルギー・炎症性疾患に対する第1相試験も開始されており、その結果が待たれる。

OX40アゴニスト抗体は、ヒト化されたものが開発されておらず、マウスIgGのまま、悪性黒色腫などの進行性悪性腫瘍に対する第1相試験が実施された。30例中12例で腫瘍の縮小がみられたことが報告され、その効果が有望視されている⁹⁾。現在、ヒト化抗体が開発中である。

4-1BBアゴニスト抗体(urelumab)の悪性腫瘍に対す

る第1相試験では、腫瘍特異的キラーT細胞の増加や機能増強が観察され、その有効性が注目された。しかし、第2相試験において重篤な肝炎が惹起されたためにその試験が中止された¹⁰⁾。現在、投与量を減量したプロトコルで第1相試験が実施されている。

おわりに

これまで、その有効性が疑問視されてきた癌免疫療法が、CTLA-4やPD-1分子標的療法の登場によって、大きな注目を浴びている。免疫療法の最大の特徴である副作用の少なさと作用機序の特殊性を考えると、他の抗癌治療法との併用での相加・相乗効果が期待される。Costimulatory/coinhibitory分子標的免疫療法が第4の抗癌治療法として確立される日も近い。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示: 本論文発表内容に関して特に申告なし。

引用文献

- 1) Ishii N, et al. OX40-OX40L ligand interaction in T cell-mediated immunity and immunopathology. *Adv Immunol* 2010; 105: 63-98.
- 2) Day CL, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression. *Nature* 2006; 443: 350-4.
- 3) Genovese MC, et al. Abatacept for rheumatoid arthritis refractory to tumor necrosis factor α inhibition. *N Engl J Med* 2005; 353: 1114-23.
- 4) Suntharalingam G, et al. Cytokine storm in a phase 1 trial of the anti-CD28 monoclonal antibody TGN1412. *N Engl J Med* 2006; 355: 1018-28.
- 5) Okazaki T, et al. The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance. *Trends Immunol* 2006; 27: 195-201.
- 6) Topalian SL, et al. Safety, activity, and immune correlates of anti-PD-1 antibody in cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2443-54.
- 7) Brahmer JR, et al. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2455-65.
- 8) Wolchok J D, et al. Nivolumab plus ipilimumab in

- advanced melanoma. *N Engl J Med* 2013; 369: 122-33.
- 9) Curti BD, et al. OX40 is a potent immune-stimulating target in late-stage cancerpatients. *Cancer Res* 2013; 73: 7189-98.
- 10) Ascierto PA, et al. Clinical experiences with anti-CD137 and anti-PD1 therapeutic antibodies. *Semin Oncol* 2010; 37: 508-16.

Abstract

Costimulatory and coinhibitory molecules in immunoregulation and immunotherapy

Naoto Ishii

Department of Microbiology and Immunology, Tohoku University Graduate School of Medicine

Optimal T cell responses require costimulatory and coinhibitory signals. T cell costimulatory signals are essential for T cell activation, and T cell coinhibitory signals control and finely tune the T cell responses. Here I review the role of T cell costimulatory and coinhibitory molecules, and discuss possible therapeutic strategies targeting these molecules.