

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	岩崎 雅史
論文題目	Expression and function of PD-1 in human $\gamma\delta$ T cells that recognize phosphoantigens （リン酸抗原を認識するヒト $\gamma\delta$ 型T細胞におけるPD-1の発現と機能）		
（論文内容の要旨）			
T細胞に発現するPD-1分子は、癌細胞上のリガンドであるPD-L1分子と相互作用することにより抑制性シグナルを惹起し、T細胞の免疫応答を負に制御する。従って、抗腫瘍エフェクターT細胞上のPD-1/PD-L1相互作用を効果的に遮断することができれば、臨床において有効な癌治療法となることが期待される。 ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞は窒素含有型ビスホスホン酸抗原処理された腫瘍細胞を認識して活性化し、サイトカイン産生や細胞傷害活性を示す。活性化したヒト $\gamma\delta$ 型T細胞はPD-1分子を発現するが、その機能や分子機構はほとんど解明されていない。本研究においては抗PD-L1抗体を作成し、$\gamma\delta$ 型T細胞の抗腫瘍エフェクター作用におけるPD-1/PD-L1システムの解析を行った。 まず、大腸菌を用いた組み替えタンパク質発現系を利用してヒトPD-L1の細胞外領域を発現させマウスに免疫し、組織染色が可能でPD-1/PD-L1結合阻害可能な抗PD-L1抗体を樹立した。乳癌の臨床検体を、作製した抗PD-L1抗体により組織染色して腫瘍組織におけるPD-L1の発現を検証した結果、乳癌細胞においてPD-L1の発現が確認された。次に、PD-L1を強制発現させた細胞株を用いた実験系においてヒト $\gamma\delta$ 型T細胞上に発現するPD-1分子の機能解析を行った。その結果、腫瘍細胞株上のPD-L1との相互作用により、ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞の示す細胞傷害性やサイトカイン産生などのエフェクター活性の抑制がみられた。また、作製した抗PD-L1結合阻害抗体を作用させてPD-1/PD-L1相互作用を阻害すると、エフェクター作用の減少を阻止することから、ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞の腫瘍認識機構においてPD-1/PD-L1システムが重要な役割を果たしていることが示され、癌免疫療法における抗PD-L1抗体の治療効果の可能性が示唆された。これらの結果は、$\gamma\delta$ 型T細胞上のPD-1が抑制性シグナル応答を誘導すること、そして、腫瘍細胞がPD-L1を細胞表面に発現することにより、$\gamma\delta$ 型T細胞による免疫監視から逃れているという仮定を支持するものであった。このことから、PD-1/PD-L1相互作用を阻害することにより、$\gamma\delta$ 型T細胞を利用した免疫療法への付加効果が期待される。 また、ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞におけるPD-1シグナルの詳細な解析を行った。その結果、PD-1陽性 $\gamma\delta$ 型T細胞はIL-2を産生することが明らかとなった。さらに、腫瘍細胞のゾレドロン酸処理により、PD-1の抑制性シグナルを上回るTCRシグナルが誘導されることが示された。これはMHC非拘束性の $\gamma\delta$ 型T細胞にユニークな免疫応答において、PD-1/PD-L1相互作用によるネガティブシグナルの影響が限定的であることを示唆しており、ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞を用いた免疫療法においてゾレドロン酸を用いることの有効性を示している。			

(論文審査の結果の要旨)

PD-1の機能は $\alpha\beta$ 型T細胞においてこれまで多くの研究がなされてきたが、PD-1/PD-L1システムが $\gamma\delta$ 型T細胞にどのような影響を及ぼすかについての研究はこれまでなされておらず、ほとんど分かっていなかった。そこで申請者は本論文において $\gamma\delta$ 型T細胞におけるPD-1分子の発現と機能を明らかにする目的で解析を行った。

$\gamma\delta$ 型T細胞の抗腫瘍活性はcell-cell contactによる寄与が大きく、ポジティブシグナルまたはネガティブシグナルを惹起する副刺激分子がなんらかの影響を与えている可能性が高い。実際、卵巣がん患者由来の病変組織においては、PD-L1の発現と予後が相関しているとの報告がある。今回乳がん患者由来の病変組織を抗PD-L1抗体により染色するとPD-L1の発現が確認された。これらの結果は腫瘍免疫とPD-1/PD-L1システムの関連を示唆するものであった。

本研究において、末梢血中の $\gamma\delta$ 型T細胞は天然に存在する病原性微生物由来のピロリン酸系抗原であるHMB-PPで刺激することによりPD-1を発現することが明らかとなった。PD-1陽性 $\gamma\delta$ 型T細胞は抗原刺激によってIL-2産生活性を持つことを明らかにした。また、PD-1陽性 $\gamma\delta$ 型T細胞は、PD-L1を発現する腫瘍細胞に対して有意にIFN- γ 等のサイトカイン産生や細胞傷害性といった反応性が低下した。この免疫応答系において抗ヒトPD-L1抗体を添加してPD-1/PD-L1シグナルを遮断することにより反応性が回復した。一方で、ゾレドロン酸処理をした細胞株を用いて腫瘍細胞への免疫応答とPD-1の関連を検証したところ、 $\gamma\delta$ 型TCR経由の強い抗原刺激は、PD-1/PD-L1による抑制シグナルを上回る正のシグナルを惹起して細胞傷害活性を引き起こす事が明らかとなった。これらの知見は、 $\gamma\delta$ 型T細胞を使用した細胞療法によるがん治療を支持するものであり、本研究は悪性化した進行がん患者の治療において、 $\gamma\delta$ 型T細胞と窒素含有型ビスホスホン酸とを組み合わせた免疫療法の有効性を示した。

本論文は $\gamma\delta$ 型T細胞におけるPD-1分子の発現と機能を初めて明らかにするものであり博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、平成23年1月28日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日