

# 免疫抑制受容体とそのリガンドによる造血器腫瘍に対する免疫応答調節に関する研究

名古屋大学医学部附属病院  
血液内科 助教 西田徹也

## 1. 研究の背景・目的

細胞傷害性 T 細胞(cytotoxic T lymphocyte: CTL)は、抗腫瘍免疫応答において重要な役割を果たしているが、慢性的な抗原刺激により CTL は疲弊化しその機能は減弱する。この CTL の疲弊化には、T 細胞上に発現する programmed death 1 (PD-1) と、そのリガンドである programmed death-ligand 1 (PD-L1) との結合が関与していることが明らかとなり、白血病や悪性リンパ腫などの造血器腫瘍を含めた様々な悪性腫瘍の免疫監視機構からのエスケープの一因とされている。PD-L1 は腫瘍細胞に限らず、プロフェッショナルな抗原提示細胞である樹状細胞にも高発現している。我々は、K562 細胞株に HLA クラス I 分子及び CD80/86、PD-L1 を遺伝子導入した人工抗原提示細胞を作成し、抗原提示細胞に発現している PD-L1 の CTL 誘導に対する作用について検討を行い、PD-L1 がサイトメガロウイルス(cytomegalovirus:CMV)特異的 CTL の誘導において促進的に作用していること、さらに、CD80/86 と PD-L1 をともに遺伝子導入した人工抗原提示細胞を用いることで、健常ドナー末梢血から腫瘍抗原である Wilms tumor gene (WT1) 特異的 CTL を誘導できることを報告した<sup>1)</sup>。この人工抗原提示細胞が細胞療法において有用となる可能性があり、抗原特異的 CTL 誘導の有効性について検討する。

様々な悪性腫瘍において、腫瘍細胞上の PD-L1 発現が高いと予後が不良であるとの報告がされている<sup>2)</sup>。PD-L1 は、細胞表面上に発現している他に、可溶性 PD-L1 として血中にも存在しており、悪性リンパ腫においては血中可溶性 PD-L1 が高いと予後不良との報告がある<sup>3)</sup>。骨髄異形成症候群や白血病においても、血中可溶性 PD-L1 が治療反応性や予後を予測するバイオマーカーとなる可能性があり、血中可溶性 PD-L1 を測定して臨床経過との関連を検討する。

## 2. 研究の方法

(1) PD-L1 を遺伝子導入した人工抗原提示細胞を用いた腫瘍抗原特異的 T 細胞の誘導  
健常ドナーの末梢血単核球からマイクロビーズを用いて CD3 陽性 T 細胞を分離し、

K562 細胞株に HLA、CD80/86、PD-L1 を様々な組み合わせで遺伝子導入した人工抗原提示細胞にペプチドパルスした後に IL-2 存在下で共培養した。7 日毎にテトラマー法にて抗原特異的 T 細胞の頻度を確認するとともに、人工抗原提示細胞による T 細胞の刺激を繰り返した。ペプチドとしては、① NY-ESO-1: SLLMWITQC (HLA-A2 拘束性)、② CMV: NLVPMVATV (HLA-A2 拘束性)、③ HTLV-1: SFHSLHLLF (HLA-A24 拘束性) を用いた。

## (2) 造血器腫瘍における可溶性 PD-L1 のバイオマーカーとしての意義の検討

名古屋大学医学部倫理委員会で承認を受けた文書による同意を得て保存された血漿を用いて、ELISA 法にて可溶性 PD-L1 を測定した。

## 3. 研究結果

### (1) PD-L1 を遺伝子導入した人工抗原提示細胞を用いた腫瘍抗原特異的 T 細胞の誘導

K562 細胞株に HLA-A2、CD80/86、PD-L1 を様々な組み合わせで遺伝子導入した人工抗原提示細胞に NY-ESO-1 ペプチド: SLLMWITQC を添加し、HLA-A2 を有する健常ドナー 3 名の CD3 陽性 T 細胞を週 1 回、計 4 回刺激を行ったところ、K562/HLA+CD80/86+PD-L1 を抗原提示細胞とした場合に、3 名ともに NY-ESO-1 特異的 T 細胞を誘導することができ、1 名では K562/HLA+PD-L1 でも NY-ESO-1 特異的 T 細胞が誘導された (図)。しかしながら、テトラマー陽性細胞が少なく、細胞傷害活性などの機能については十分な検討を行うことができなかった。次いで、人工抗原提示細胞を用いて、CMV と HTLV-1 未感染の健常ドナーそれぞれ 1 名、2 名から抗原特異的 T 細胞の誘導を試みたが、いずれの人工抗原提示細胞でも誘導することはできなかった。

### (2) 造血器腫瘍における可溶性 PD-L1 のバイオマーカーとしての意義の検討

ELISA にて 3 名の患者 (骨髄異形成症候群 2 名、急性骨髄性白血病 (M6) 1 名) の血漿中可溶性 PD-L1 を測定したところ、4.6, 9.9, 87.3ng/ml と急性骨髄性白血病 (M6) の患者 1 名で著明な高値を示した。

## 4. 考察

これまでの研究にて、K562/HLA に CD80/86 と PD-L1 をともに遺伝子導入した人工抗原提示細胞 K562/HLA+CD80/86+PD-L1 により、健常ドナー末梢血から WT1 特異的 T 細胞の誘導が可能であることを示したが、本研究において、他の腫瘍抗原である NY-ESO-1 特異的 T 細胞も健常ドナーから誘導でき、K562/HLA+CD80/86+PD-L1 の抗原提示細胞としての有効性が示された。しかしながら、CMV、HTLV-1 未感染者のナイーブ T 細胞からは抗原特異的 T 細胞は誘導できず、プリカーサー細胞の存在が必要であると考えられる。CMV などのウイルス感染症に対しては第三者由来ウイルス特異的 T 細胞を用いた細胞療法の有用性が示されて

おり<sup>4)</sup>、腫瘍抗原に対しても健常ドナーから特異的 T 細胞を樹立できるようになると、悪性腫瘍患者においても予め誘導・増幅、凍結保存した細胞を必要な時に治療に用いることができる可能性がある。今後、本研究で使用した人工抗原提示細胞の細胞療法への応用のためには、抗原特異的 T 細胞の樹立のために用いるサイトカインの工夫など、抗原特異的 T 細胞の誘導・増幅効率を改善させる必要がある。

可溶性 PD-L1 の予後との関連については、この 1 年で肺癌、胆管癌などで血中可溶性 PD-L1 高値が予後不良因子となるとの報告がされている<sup>5,6)</sup>。本研究においては、少数例での検討ではあるが、急性骨髄性白血病(M6)患者の血中可溶性 PD-L1 が高い値を示しており、今後、多数例での解析および臨床経過との検討を行い、治療反応性や予後を予測するバイオマーカーとしての有効性の検討を進める。

## 5. 文献

- 1) Goto T, Nishida T, Takagi E, Miyao K, Koyama D, Sakemura R, Hanajiri R, Watanabe K, Imahashi N, Terakura S, Murata M, Kiyoi H. Programmed Death-Ligand 1 on Antigen-presenting Cells Facilitates the Induction of Antigen-specific Cytotoxic T Lymphocytes: Application to Adoptive T-Cell Immunotherapy. *J Immunother.* 39(8):306-15, 2016.
- 2) Hino R, Kabashima K, Kato Y, Yagi H, Nakamura M, Honjo T, Okazaki T, Tokura Y. Tumor cell expression of programmed cell death-1 ligand 1 is a prognostic factor for malignant melanoma. *Cancer.* 116(7):1757-66, 2010.
- 3) Rossille D, Gressier M, Damotte D, Maucourt-Boulch D, Pangault C, Semana G, Le Guillou S, Haioun C, Tarte K, Lamy T, Milpied N, Fest T. High level of soluble programmed cell death ligand 1 in blood impacts overall survival in aggressive diffuse large B-Cell lymphoma: results from a French multicenter clinical trial. *Leukemia.* 28(12):2367-75, 2014.
- 4) Leen AM, Bollard CM, Mendizabal AM, Shpall EJ, Szabolcs P, Antin JH, Kapoor N, Pai SY, Rowley SD, Kebriaei P, Dey BR, Grilley BJ, Gee AP, Brenner MK, Rooney CM, Heslop HE. Multicenter study of banked third-party virus-specific T cells to treat severe viral infections after hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* 121(26):5113-23, 2013.
- 5) Okuma Y, Hosomi Y, Nakahara Y, Watanabe K, Sagawa Y, Homma S. High plasma levels of soluble programmed cell death ligand 1 are prognostic for reduced survival in advanced lung cancer. *Lung Cancer.* 104:1-6, 2017.

6) Ha H, Nam AR, Bang JH, Park JE, Kim TY, Lee KH, Han SW, Im SA, Kim TY, Bang YJ, Oh DY. Soluble programmed death-ligand 1 (sPDL1) and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) predicts survival in advanced biliary tract cancer patients treated with palliative chemotherapy. *Oncotarget*. 7(47):76604-12, 2016.

