

がん免疫療法の標的分子 LAG-3 が抑制機能を発揮するメカニズムを解明

1. 発表者：

丸橋 拓海	(東京大学 定量生命科学研究所 分子免疫学研究分野 助教)
杉浦 大祐	(東京大学 定量生命科学研究所 分子免疫学研究分野 助教)
岡崎 一美	(東京大学 定量生命科学研究所 分子免疫学研究分野 准教授)
清水 謙次	(東京大学 定量生命科学研究所 分子免疫学研究分野 助教)
岡崎 拓	(東京大学 定量生命科学研究所 分子免疫学研究分野 教授)

2. 発表のポイント：

- ◆ 抑制性免疫補助受容体 LAG-3 (注1) はがん免疫療法の有望な薬剤標的ですが、LAG-3 の機能が発揮されるメカニズムは分かっていませんでした。
- ◆ LAG-3 が抗原ペプチドと主要組織適合遺伝子複合体クラス II の安定な複合体 (安定な pMHCII、注2) と結合することで機能を発揮し、自己免疫とがん免疫を制御することが分かりました。
- ◆ LAG-3 と安定な pMHCII との結合を標的とすることにより、がんや自己免疫疾患に対する治療法の開発につながると期待されます。

3. 発表概要：

LAG-3 は、がん免疫療法において PD-1 と CTLA-4 に次いで有望な薬剤標的として注目されており、LAG-3 阻害抗体を用いたがん免疫療法の開発が世界中で進められています。最近、LAG-3 と PD-1 を同時に阻害することにより悪性黒色腫の生存率が向上することが報告され、期待がさらに高まっています。一方、LAG-3 の抑制機能がどのようにして発揮されるのかは分かっていませんでした。特に、受容体の機能を発揮させるスイッチの役割を担う分子をリガンド (注3) と呼びますが、LAG-3 のリガンドが何であるのかは分かっていませんでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の丸橋拓海助教、岡崎拓教授らの研究グループは、徳島大学先端酵素学研究所の小迫英尊教授と竹本龍也教授、同大学院医歯薬学研究部の石丸直澄教授、北海道大学大学院薬学研究院の前仲勝実教授らとの共同研究で、LAG-3 が安定な pMHCII と結合することにより T 細胞の活性化を抑制し、自己免疫疾患の発症を抑制するとともに、がん免疫を減弱させていることを明らかにしました。

PD-1 阻害抗体によるがん免疫療法が複数の種類のがんに対して認可されていますが、その奏効率は 10~30% と低く、さらなる改良が求められています。そこで、その他の抑制性免疫補助受容体を同時に阻害する併用療法の開発が進められていますが、基礎研究は後回しにされており、各分子の機能について基本的な情報さえ不足している状況です。今回、LAG-3 の機能が発揮されるメカニズムが解明されたことにより、LAG-3 を標的とした効果的かつ安全な治療法の開発につながると期待されます。

この研究成果は 2022 年 4 月 11 日付 (米国) で *Immunity* 誌オンライン版に掲載されました。

4. 発表内容：

【研究背景】

病原体やがん細胞から我々の体を護る免疫システムにおいて司令塔と実行役の両方の役割を担う T 細胞は、細胞表面上に発現する抗原受容体（T 細胞受容体、TCR）を使って、抗原提示細胞が MHC 上に提示する抗原を認識することにより活性化します。TCR に加えて T 細胞には免疫補助受容体と呼ばれる分子が複数発現しており、それらが T 細胞の活性化を厳密に制御しています。免疫補助受容体には T 細胞の活性化を増強する興奮性免疫補助受容体と減弱させる抑制性免疫補助受容体があります。PD-1 や CTLA-4 に代表される抑制性免疫補助受容体が適切に機能しないと自己組織が T 細胞によって破壊され、自己免疫疾患を発症してしまいます。一方、がん細胞に反応する T 細胞も抑制性免疫補助受容体によって抑制されることから、抑制性免疫補助受容体の機能を阻害することによりがんを治療する免疫チェックポイント阻害療法（注 4）が開発されました。

免疫チェックポイント阻害療法は一部のがんに対して劇的な治療効果を発揮し、現在までに複数の種類のがんに対して使用が認可されています。しかし、その奏効率は 10~30%と低く、さらなる改良が求められています。そこで、現在までに認可されている PD-1 および CTLA-4 に対する阻害薬に加え、別の抑制性免疫補助受容体に対する阻害薬を併用する治療法の開発が世界中で進められています。LAG-3 は、PD-1 と CTLA-4 に次ぐ第 3 の免疫チェックポイント分子として期待されていますが、最近、LAG-3 と PD-1 の同時阻害による悪性黒色腫の生存率の向上が大規模な臨床試験において確認され（Tawbi HA et al, NEJM, 2022）、期待がさらに高まっています。

このように LAG-3 を標的とした薬剤の開発が進められている一方で、基礎研究は後回しにされており、LAG-3 の抑制機能が発揮される条件などの基本的な情報さえ不足しているという歪な状況にあります。本研究グループは、先行研究（Maruhashi T et al, Nat Immunol, 2018）において、安定な pMHCII が LAG-3 のリガンドであることを発見しましたが、相反する結果が他のグループから報告されるなど、LAG-3 のリガンドが何であるかは決着がついておりませんでした。

【研究内容】

抗原提示細胞上に提示される抗原ペプチドを認識して T 細胞が活性化する際、T 細胞上に発現する LAG-3 がリガンドと結合することにより機能を発揮し、T 細胞の活性化を抑制します。本研究グループは先行研究において、安定な pMHCII が LAG-3 のリガンドであることを発見しましたが、その後、他の研究グループが FGL1 という分子こそ LAG-3 のリガンドであると報告しました（Wang J et al, Cell, 2019）。そこで、安定な pMHCII と FGL1 のいずれが LAG-3 の抑制機能に必要であるかを明らかにするために、いずれか一方にしか結合しない LAG-3 変異体の作製を試み、安定な pMHCII にのみ結合する変異体（LAG-3-K27E および LAG-3-L14Q:V20A）および FGL1 にのみ結合する変異体（LAG-3-P111A および LAG-3-G103R）を得ることに成功しました（図 1 A, B）。そこでこれらの変異体を T 細胞に発現させて抑制機能を評価したところ、安定な pMHCII にのみ結合する変異体は、両者に結合できる野生型の LAG-3 と同等の抑制活性を有していましたが、FGL1 にのみ結合する変異体は抑制機能を完全に失ってしまいました（図 1 C-E）。これらの結果から、LAG-3 が T 細胞の活性化を抑制するには、安定な pMHCII との結合が必要であることが分かりました。一方、FGL1 と結合するだけでは LAG-3 は抑制機能を発揮できず、また、安定な pMHCII との結合で発揮される LAG-3 の抑制機能に FGL1 との結合は不要であることが分かりました。

次に、自己組織を破壊して自己免疫疾患をひき起こす T 細胞を LAG-3 が抑制する際にも、安定な pMHCII が LAG-3 のリガンドとして機能しているのかについて調べました。NOD マウスでは、血糖のコントロールを担うインスリンを膵臓で産生する β 細胞が自己反応性 T 細胞によって破壊され、1 型糖尿病を発症します。一方、 β 細胞を攻撃する自己反応性 T 細胞の活性化は LAG-3 によって一部抑制されていることから、LAG-3 が無いマウスでは β 細胞がより激しく破壊されるために、1 型糖尿病が大幅に悪化します (Okazaki T et al, JEM, 2011)。そこで、ゲノム編集技術を用いて、LAG-3 が安定な pMHCII あるいは FGL1 にのみ結合する NOD マウスを作製しました。その結果、LAG-3 が FGL1 にのみ結合する NOD マウス (NOD-LAG-3-P111A マウス) では、LAG-3 を欠損させた NOD マウスと同様に 1 型糖尿病が大幅に悪化しました (図 2A)。一方、LAG-3 が安定な pMHCII にのみ結合する NOD マウス (NOD-LAG-3-K27E マウス) では、1 型糖尿病の悪化は認められず、血糖値は野生型の NOD マウスとほぼ同じでした。これらの結果から、自己組織を破壊して自己免疫疾患を誘導する T 細胞を LAG-3 が抑制する際にも、安定な pMHCII との結合が必須であり、FGL1 との結合は不要であることが分かりました。

最後に、がんを排除する T 細胞を LAG-3 が抑制する際にも安定な pMHCII が LAG-3 のリガンドとして機能しているのかを調べました。抗体を用いて LAG-3 の機能を阻害したり、LAG-3 遺伝子を欠損させたりしたマウスでは、がん細胞に特異的な T 細胞の活性が高くなり、がん細胞の増殖が抑えられることが知られています。そこで、ゲノム編集技術を用いて LAG-3 が FGL1 にのみ結合する C57BL/6 マウス (C57BL/6-LAG-3-P111A マウス) を作製し、がん細胞を接種したところ、LAG-3 を欠損させた C57BL/6 マウスとほぼ同程度に、がん細胞の増殖が抑えられていることが確認されました (図 2B)。これらの結果から、がんを排除する T 細胞を LAG-3 が抑制する際にも、安定な pMHCII との結合が必須であることが分かりました。

受容体はリガンドと結合することによって機能することから、リガンドが何であるかを知ることは、受容体を標的とした薬剤を開発する上で絶対に欠くことができない情報と言えます。上述の通り、LAG-3 を標的とした薬剤の臨床応用は、LAG-3 の機能的なリガンドが何であるか分からないまま進められるという極めて歪な状況でした。本研究により、LAG-3 が安定な pMHCII と結合することにより機能を発揮し、T 細胞の活性化を抑制して自己免疫疾患を軽減するとともに、がん免疫を減弱していることが分かりました (図 3)。

【社会的意義】

免疫チェックポイント阻害療法の成功により、各種免疫補助受容体とした新規治療法の開発競争が世界中で激しく繰り広げられています。一方、基礎研究は後回しにされており、各分子の機能について基本的な情報さえ不足している状況です。LAG-3 は CTLA-4 に次いで初めて、PD-1 と同時に阻害することで併用効果を示すことが臨床試験において確認された分子であり、新たな薬剤標的として特に大きな注目を集めています。今回、LAG-3 の機能が発揮されるメカニズムが解明されたことにより、LAG-3 を標的とした効果的かつ安全な治療法の開発につながると期待されます。

5. 発表雑誌：

雑誌名：「Immunity」 (2022 年 4 月 11 日オンライン版)

論文タイトル：Binding of LAG-3 to stable peptide-MHC class II limits T cell function and suppresses autoimmunity and anti-cancer immunity

著者： Takumi Maruhashi, Daisuke Sugiura, Il-mi Okazaki, Kenji Shimizu, Takeo K Maeda, Jun Ikubo, Harunori Yoshikawa, Katsumi Maenaka, Naozumi Ishimaru, Hidetaka Kosako, Tatsuya Takemoto, and Taku Okazaki

DOI 番号： 10.1016/j.immuni.2022.03.013

URL： <https://www.cell.com/immunity/home>

6. 問い合わせ先：

東京大学 定量生命科学研究所 分子免疫学研究分野

教授 岡崎 拓 (おかざき たく)

電話番号： 03-5841-7844

メールアドレス： tokazaki@iqb.u-tokyo.ac.jp

7. 用語解説：

(注1) 免疫補助受容体

T細胞やB細胞の細胞表面に発現し、抗原受容体が抗原を認識することで活性化されるシグナルを増強あるいは抑制する分子のこと。興奮性免疫補助受容体の代表例に CD28 や ICOS、抑制性免疫補助受容体の代表例に PD-1 や CTLA-4、LAG-3 がある。

(注2) 抗原ペプチドと主要組織適合遺伝子複合体クラス II の安定な複合体

主要適合組織遺伝子複合体 (major histocompatibility complex、MHC) は細胞膜貫通型の糖タンパク質であり、抗原ペプチドを細胞表面に提示する分子である。中でも MHC クラス II (MHCII) は抗原提示細胞に発現しており、細胞内に取り込まれた後に分解された外来抗原由来のペプチドをヘルパーT細胞へと提示して、活性化させる。抗原ペプチドと MHCII の複合体 (pMHCII) の構造は抗原ペプチドの配列などにより影響を受け、安定な構造をとる場合と不安定な構造をとる場合がある。

(注3) リガンド

特定の受容体の特定の結合部位に特異的に結合する物質のこと。一般的に、リガンドが受容体に結合すると細胞へとシグナルが伝達され、遺伝子発現などの応答が起こる。

(注4) 免疫チェックポイント阻害療法

自己に対する不適切な免疫応答および組織破壊をもたらす過剰な免疫応答から生体を守るために免疫系にブレーキをかける役割を担うことから、抑制性免疫補助受容体は免疫チェックポイントと総称される。近年、がんが免疫チェックポイント分子を利用することで免疫系からの攻撃を回避していることが明らかになり、免疫チェックポイント分子の機能を阻害することによりがんを治療する方法として免疫チェックポイント阻害療法が開発された。これまでに、PD-1、PD-L1 および CTLA-4 を標的とした治療法が認可されている。

8. 添付資料：

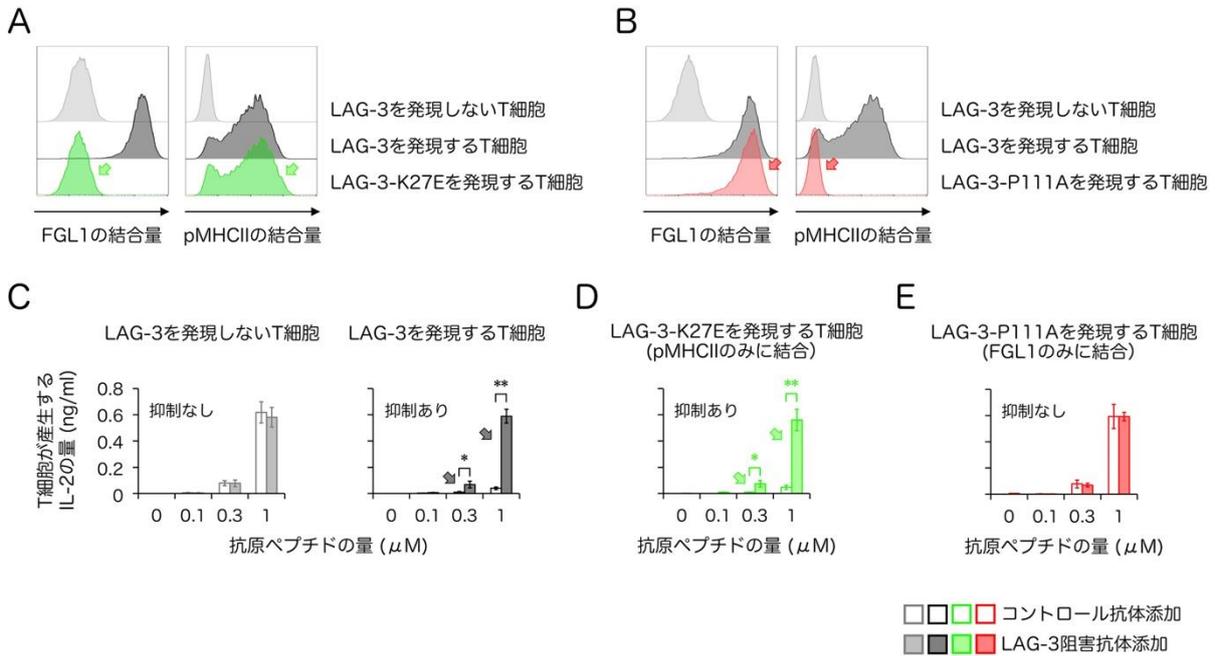


図1. LAG-3は安定な pMHCII と結合することにより T 細胞の活性化を抑制する

- (A) LAG-3-K27E 変異体を発現する T 細胞には、可溶性 FGL1 タンパク質は結合できないものの (左)、安定な pMHCII のタンパク質は結合できる (右)。
- (B) LAG-3-P111A 変異体を発現する T 細胞には、可溶性 FGL1 タンパク質は結合できるものの (左)、安定な pMHCII のタンパク質は結合できない (右)。
- (C) 野生型 LAG-3 を発現する T 細胞では (右)、抗原ペプチド刺激を受けて T 細胞が活性化することにより生じる IL-2 の産生が、LAG-3 によって抑制される (白)。LAG-3 の機能を抗体で阻害すると、LAG-3 による抑制が解除されて IL-2 の産生量が増加する (黒)。
- (D) LAG-3-K27E 変異体を発現する T 細胞では、IL-2 産生が強く抑制される。
- (E) LAG-3-P111A 変異体を発現する T 細胞では、IL-2 産生が抑制されない。

ここにはデータを示さないが、LAG-3-V14Q:L20A 変異体でも LAG-3-K27E 変異体と、LAG-3-G103R 変異体でも LAG-3-P111A 変異体と同様の特性を示す。

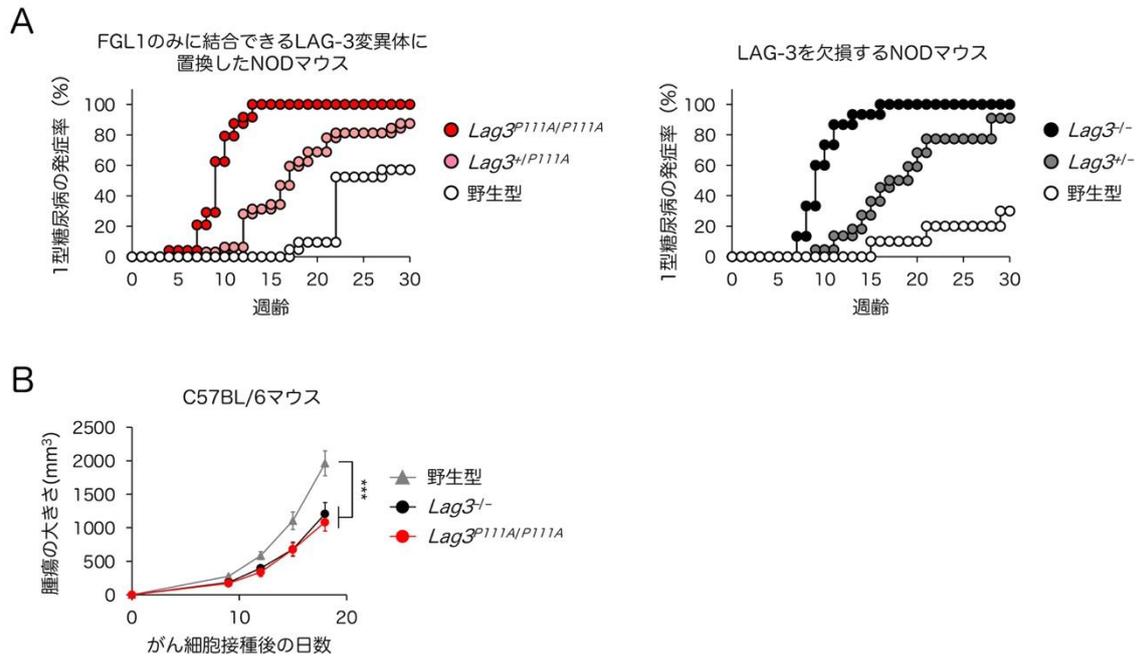


図2. LAG-3は安定な pMHCII と結合することにより自己免疫を抑制し、がん免疫を減弱する
 (A) LAG-3がFGL1にのみ結合するNODマウス(左、NOD-*Lag3^{P111A/P111A}*マウス)では、LAG-3を欠損するNODマウス(右、NOD-*Lag3^{-/-}*マウス)と同様に1型糖尿病が大幅に悪化する。NOD-*Lag3^{+/P111A}*マウスとNOD-*Lag3^{+/-}*マウスは、片方の遺伝子のみ改変されたヘテロマウスを示す。
 (B) LAG-3がFGL1にのみ結合するC57BL/6マウス(赤丸、C57BL/6-*Lag3^{P111A/P111A}*マウス)では、LAG-3を欠損するC57BL/6マウス(黒丸、C57BL/6-*Lag3^{-/-}*マウス)とほぼ同程度に、がん細胞の増殖が抑えられる。

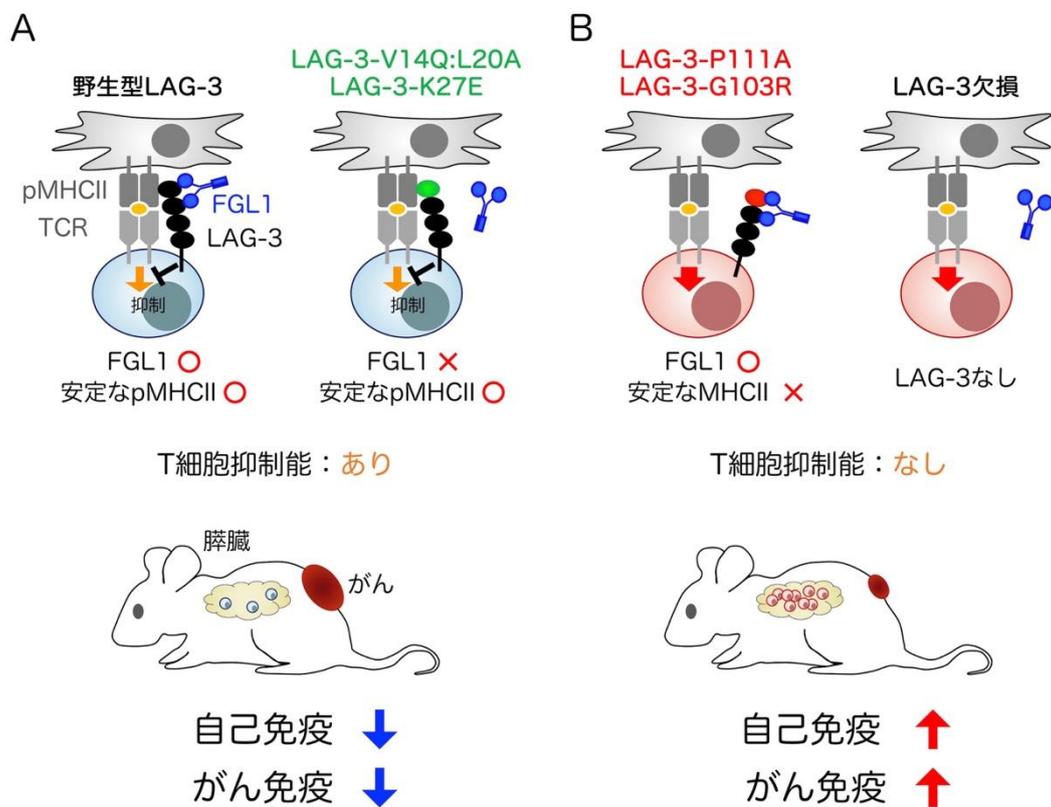


図3. 今回の発見の模式図

- (A) 野生型の LAG-3 および FGL1 との結合能のみを欠いた LAG-3 変異体は、安定な pMHCII と結合して T 細胞の活性化を抑制することにより、自己免疫を抑制する一方で、がん免疫を減弱する。
- (B) 安定な pMHCII との結合能のみを欠いた LAG-3 変異体は、FGL1 と結合するだけでは T 細胞の活性化を抑制することができず、自己免疫を抑制できない一方で、がん免疫は増強される。