

報道関係各位

2020年8月27日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「PD-L1のアセチル化による核内移行制御の分子標的薬は 抗PD-1抗体による癌免疫治療の効果を向上させる」 — PD-L1の核内機能と核内移行の制御機構の解明 —

【ポイント】

- 免疫チェックポイント分子^{※1}であるPD-L1は細胞質ドメイン内のリジン^{※2}残基の脱アセチル化が引き金となり核内へ移行することを明らかにしました。
- PD-L1は核内にて免疫応答や炎症に関わる遺伝子の転写誘導を制御することを明らかにしました。
- PD-L1の核内移行をHDAC2阻害剤によって阻害することで、抗PD-1抗体による抗腫瘍効果が増強されることを見出しました。

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子遺伝分野の三木義男教授らの研究グループは、ハーバード大学医学大学院ベス・イスラエル・ディーコネス・メディカルセンターのWenyi Wei教授、同大学ダナ・ファーバー癌研究所のGordon J. Freeman教授、Piotr Siciński教授、国立がん研究センター研究所の尾野雅哉博士との共同研究によって、PD-L1が乳癌をはじめとする様々な癌細胞の核内にて免疫応答や炎症反応に関わる遺伝子の転写誘導を制御していることを明らかにし、その制御機構をつきとめました。また、マウスを用いた解析により、PD-L1の核内移行制御を標的とした阻害剤の投与が抗PD-1抗体による抗腫瘍効果を増強させることを明らかにしました。この研究は文部科学省の科学研究費補助金や日本学術振興会人材育成事業、早石修記念海外留学助成のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌Nature Cell Biology誌に2020年8月24日にオンライン版で発表されました。また、本研究は雑誌内のnews&viewsに取り上げられました。

【研究の背景】

癌細胞は免疫チェックポイント分子とそのリガンドの結合を介して、免疫細胞に免疫抑制シグナルを伝達することで免疫細胞の増殖・活性化を抑制し、その結果として、免疫系による排除機構から回避し、生体内での増殖を可能とします。免疫チェックポイントタンパク質PD-L1は癌細胞上に発現し、免疫細胞に発現するPD-1のリガンドとして免疫抑制シグナルを伝達します。PD-1やPD-L1に対する抗体薬によってこれらの分子の機能を抑制するというアプローチは、癌細胞による免疫細胞への機能抑制の解除を促し、癌細胞の排除につながることで様々な研究結果によって示されています。しかし、このような免疫チェックポイントを標的とした単剤での治

療成績には限界がみとめられていることから、現在では抗 PD-1/PD-L1 抗体と細胞障害性抗がん薬や分子標的薬との併用療法による臨床試験が進められています。また、PD-1/PD-L1 を標的とした抗体薬の抗腫瘍効果は他の免疫チェックポイント分子を標的としたものと比べ有効性が高いことから、本研究グループは PD-L1 が“PD-1 のリガンド”としての機能以外にも何らかの別の機能を有しているのではないかと考え、PD-L1 の癌細胞内での機能に焦点をあて解析を進めました。

【研究成果の概要】

ユビキチン化やアセチル化などによるリジン残基の翻訳後修飾は、蛋白質の発現調節や細胞内の局在制御に関与します。PD-L1 はユビキチン化による発現制御を受けることが報告されており、PD-L1 の細胞内ドメイン内には 5 つのリジン残基が存在することから、本研究グループは PD-L1 がアセチル化修飾を受けるのではないかと仮説を立て、その検証を行いました。その結果、PD-L1 は p300 によるアセチル化と HDAC2 による脱アセチル化によって 263 番目のリジン残基のアセチル化が制御されていることを見出しました。また、細胞分画法による解析より、癌細胞に限らず様々な細胞で PD-L1 の核内での発現が認められ、HDAC2 阻害剤の添加によって PD-L1 の核内移行が抑制されることが明らかとなりました。更に、核内に発現する PD-L1 のアセチル化レベルは細胞膜上に発現する PD-L1 に比べ低いことから、細胞膜上に発現する PD-L1 は HDAC2 による脱アセチル化が引き金となり核内へと局在を変えることが示唆されました。

PD-L1 の核内移行の分子機構はこれまでにほとんど明らかになっていなかったため、質量分析解析を行い、新規 PD-L1 会合蛋白としてエンドサイトーシスに関わる Clathrin や Adaptin 分子、細胞内蛋白輸送を促す分子である Vimentin、核内移行の制御因子である Importin ファミリー分子を同定しました。そして、PD-L1 は脱アセチル化された細胞内ドメインを介してこれらの細胞内輸送・局在制御因子と結合し、細胞膜上からエンドサイトーシス・細胞質輸送、そして核内へと局在を変えることを明らかにしました（図 1）。

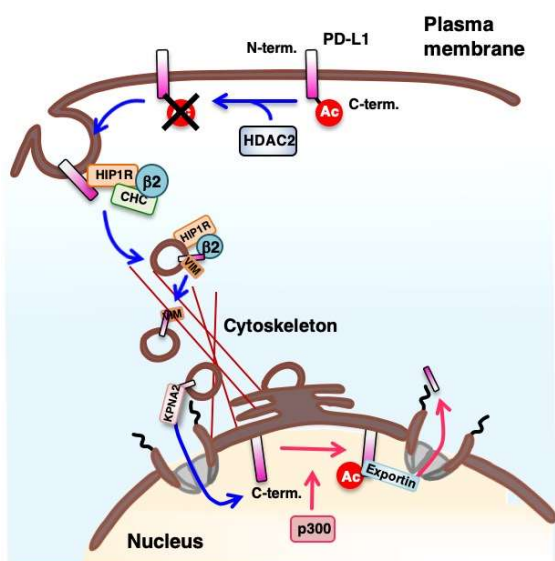


図1 PD-L1 の核内移行のモデル

続いて、核内での PD-L1 の機能を明らかにする為に、PD-L1 ノックアウト細胞を用いて、PD-L1 の存在の有無によって発現が変動する遺伝子群の探索を試みました。その結果、免疫応答に関与する遺伝子群、NF- κ B パスウェイ関連遺伝子、インターフェロン γ パスウェイ関連遺伝子などの免疫応答に関与する遺伝子群が PD-L1 による発現誘導を受けることが明らかとなりました（図2）。また、培養細胞を用いた実験下において、PD-L1 自身が DNA への結合能を持つことが明らかとなったことから、PD-L1 は核内において直接、これらの遺伝子群の発現制御に関わっていることが示唆されました。

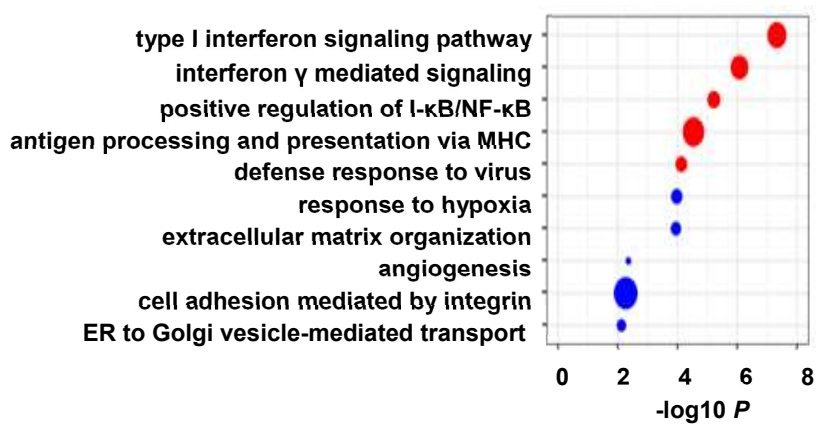


図2 PD-L1 は免疫応答関連遺伝子群の発現を制御する
MDA-MB-231 細胞（内在性 PD-L1 あり）と PD-L1 ノックダウン MDA-MB-231 細胞から RNA を抽出し、RNA シーケンス解析を行った。PD-L1 ノックダウン細胞で発現の低下が見られた遺伝子群のリスト。

また、マウスを用いた解析では、HDAC2 阻害剤を抗 PD-1 治療薬と共に投与することで、抗 PD-1 治療薬による抗腫瘍効果の増強が認められました。このことから、PD-L1 の脱アセチル化酵素の阻害剤は抗 PD-1 治療薬との併用療法に有効であることが示唆されました（図3）。

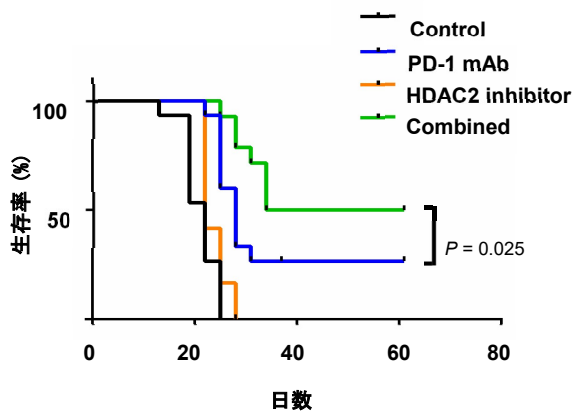


図3 HDAC2 阻害剤は抗 PD-1 抗体による抗腫瘍効果を促進させる
6-8 週齢の C57BL/6 マウス(メス)に MC38 細胞を皮下移植したのち、抗 PD-1 抗体、もしくは HDAC 阻害剤、またはその両方を投与し、マウスの生存率を算出した。

【研究成果の意義】

本研究によって、細胞膜上に発現していると考えられていた PD-L1 が、細胞質ドメインのリジン残基の脱アセチル化によって、様々な細胞内局在の制御因子との会合を可能とし、その結果、核内へと移行することを明らかにしました。そして、核内に移行した PD-L1 は DNA に直接結合し、免疫応答や炎症に関わる遺伝子の転写

誘導を制御していることを世界に先駆けて明らかにしました。この核内での機能は PD-L1 が癌微小環境の形成に関わっていることを示唆していると考えられます。また、マウスを用いた解析により、HDAC2 阻害剤による核内移行の阻害は、抗 PD-1 治療薬による抗腫瘍効果を増強させることが明らかとなりました。このことから、PD-L1 の局在制御を標的とした阻害剤が抗 PD-1 治療薬との併用治療の新たな選択肢となることが期待できます。

【用語解説】

※1 免疫チェックポイント: 免疫細胞が自己の細胞に対する免疫応答を抑制するための仕組みで、過剰な免疫反応を抑制するために存在している。癌細胞はこの仕組み利用し、免疫系からの攻撃を回避し増自的殖を可能としている。

※2 リジン: アミノ酸の一種。蛋白質は生合成された後、糖鎖付加、脂質付加、ユビキチン化、メチル化、アセチル化、リン酸化などの翻訳後修飾され、これらの修飾によって蛋白質の機能や活性が調節されている。リジンはその構造からリジン残基は、アセチル化やユビキチン化、SUMO 化によって修飾されることが知られている。

【論文情報】

掲載誌: Nature Cell Biology

論文タイトル: Acetylation-dependent regulation of PD-L1 nuclear translocation dictates the efficacy of anti-PD-1 immunotherapy

【研究者プロフィール】

仁平 直江(ニヒラ ナオエ) Naoe Taira Nihira
東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子遺伝分野
日本学術振興会 特別研究員 RPD
・研究領域 分子生物学



三木 義男(ミキ ヨシオ) Miki Yoshio
東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子遺伝分野 教授
・研究領域 分子腫瘍学



【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子遺伝分野

氏名 三木 義男(ミキ ヨシオ)

仁平 直江(ニヒラ ナオエ)

TEL: 03-5803-5825; FAX: 03-5803-0242

E-mail: miki.mgen@mri.tmd.ac.jp, nihira.mgen@mri.tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 総務部総務秘書課広報係

〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45

TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272

E-mail:kouhou.adm@tmd.ac.jp