脚光を浴びる免疫チェックポイント阻害薬「オプジーボ®」

開発のカギとなるPD−1の発見者

石田靖雅氏に聴く

7月28日（木）、奈良先端技術大学院大学の石田靖雅准教授にPD−1発見の経緯や免疫学についてインタビューを行う機会を得ました。新世代のがん治療薬として注目されている、免疫チェックポイント阻害薬「オプジーボ」開発のカギとなるPD−1を発見された同氏には、当会役員の紹介を得てインタビューが実現しました。馬場淳副理事長が主にお話を伺い、宮際幹副理事長が同席しました。

馬場副理事長（以下馬場）　奈良県保険医協会の馬場と申します。本日はお忙しいところありがとうございます。

石田靖雅准氏（以下石田）　仕事先に置かれている「月刊保団連」は時々拝見しています。

免疫学研究の道へ、そしてPD−1の発見

馬場　年頭「免疫が挑むがんと難病」（講談社）を読んでいる時に、たまたま石田先生のことを知りました。そして高薬価問題などを調べているうちにオプジーボ（小野薬品、一般名ニボルマブ）という薬を知り、親しいI先生からPD−1を発見した研究者を紹介できると聞かされ、ぜひお会いしお話をお伺いしたいと思いました。

はじめに先生が免疫学に目覚められたきっかけを教えてください。

石田　名古屋大学医学部の学生の時に、愛知県がんセンター研究所で研究を始めました。その時自分の机と名札もがんセンターにあり、学校にはあまり行っていない医学生でした。3回生の頃、学生教育委員として、研究室配属のために同級生の配属先を割り振っていたのですが、最後に自分の行き先がなくなってしまい、どうしよう？と思っていた時ご縁があり、がんセンターに通うようになりました。

馬場　先生の論文等を拝見して「自己」と「非自己」の問題をずっと研究されていると思いますが、その時はこの研究ががん治療に使われるとは思っておられなかったのでしょうか。

石田　おっしゃる通りです（笑）。学生時代からもともと臨床ではなく基礎医学にすすむつもりでいました。先輩の先生から臨床を一年は経験しておきなさいというアドバイスにより、がんセンター病院の血液化学療法部で一年の研修をした後、京大医学部大学院で本庶佑（ほんじょたすく）先生の研究室に入りました。

馬場　そこでPD−1と出会うわけですね。

石田　92年に論文発表。その時はPD−1という遺伝子を発見したのみで、その後ハーバード大学に留学しましたので、その後の研究、開発はすべて本庶先生他、同じ研究室の後輩達に託しました。

石田靖雅氏　プロフィール

1986年名古屋大学医学部卒業後、愛知県がんセンター病院で臨床研修。1987年京都大学医学部大学院入学、本庶佑氏の研究室で免疫学を研究。1992年11月にPD −1（programmed death−1）の発見をEMBO Journal誌に発表。1993年米国ハーバード大学に留学。帰国後国内の大学等で研究を続け、2014年より奈良先端技術大学院大学バイオサイエンス研究科・機能ゲノム医学研究室　独立准教授。

The EMBO Journal vol.11 no.11 pp.3887–3895, 1992

Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death

Yasumasa Ishida, Yasutoshi Agata, Kaichi Shibahara and Tasuku Honjo[1]

Department of Medical Chemistry, Kyoto University Faculty of Medicine, Yoshida, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

[1]Corresponding author

Communicated by J Tonie

The classical type of programmed cell death is characterized by its dependence on *de novo* RNA and protein synthesis and morphological features of apoptosis. We confirmed that stimulated 2B4.11 (a murine T-cell hybridoma) and interleukin-3 (IL-3)-deprived L_3D9 (a murine haematopoietic progenitor cell line) died by the classical type of programmed cell death. Assuming that common biochemical pathways might be involved in the deaths of 2B4.11 and L_3D9, we isolated the PD-1 gene, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, by using subtractive hybridization technique. The predicted PD-1 protein has a variant form of the consensus sequence found in cytoplasmic tails of signal transducing polypeptides associated with immune recognition receptors. The PD-1 gene was activated in both stimulated 2B4.11 and IL-3-deprived L_3D9 cells, but not in other death-induced cell lines that did not show the characteristic features of the classical programmed cell death. Expression of the PD-1 mRNA in mouse was restricted to the thymus and increased when thymocyte death was augmented by *in vivo* injection of anti-CD3 antibody. These results suggest that activation of the PD-1 gene may be involved in the classical type of programmed cell death.

Key words: apoptosis/growth factor deprivation/immunoglobulin superfamily/programmed cell death/subtractive hybridization

Introduction

Developmentally and physiologically controlled cell deaths can be observed in almost all tissues of various animals (Truman, 1984; Ellis *et al.*, 1991; Golstein *et al.*, 1991; Oppenheim, 1991). Such cell deaths are generally considered 'programmed' and distinguished from 'accidental' deaths that occur by pathological mechanisms (Lockshin and Zakeri, 1991). Most of the cells undergoing programmed death have been shown to require *de novo* synthesis of RNA and protein. Examples are: the death of the intersegmental muscle of the moth *Manduca sexta* after its metamorphosis (Schwartz *et al.*, 1990), the metamorphotic cell death in the tadpole tail (Tata, 1966) and the neuronal death in the chick embryo (Oppenheim *et al.*, 1990). In all of these cases, cell death can be blocked by the inhibitors of macromolecular synthesis, such as actinomycin D or cycloheximide. There are also the *in vitro* experiments showing the inhibitory effect of actinomycin D or cycloheximide on the death of nerve growth factor (NGF)-deprived rat neurons (Martin *et al.*, 1988) and that of mouse thymocytes induced by glucocorticoids (Cohen and Duke, 1984) or by an endogenous superantigen (MacDonald and Lees, 1990). These facts suggest that at least a few genes, if not specific ones, must be expressed to cause programmed cell death.

The term 'apoptosis', on the other hand, is used to describe the morphological characteristics of a class of cell death (Kerr and Harmon, 1991). In cells dying by apoptosis, the chromatin condenses around the periphery of the nucleus, while the mitochondria and other organelles are unaffected. A unique biochemical feature of apoptotic cells includes fragmentation of DNA into oligonucleosomal pieces. Apoptosis is often associated with programmed cell death, but some of the cells undergoing programmed death apparently do not show the characteristic features of apoptosis (Lockshin and Zakeri, 1991). In addition, there are apoptotic cell deaths that can be induced in the absence of any macromolecular synthesis (Golstein *et al.*, 1991). Thus, it is important to note that apoptosis is not synonymous with programmed cell death.

Here we refer to the apoptotic cell death that is dependent on *de novo* synthesis of RNA and protein as the classical type of programmed cell death. A well-known case included in this type is the death of self-reactive immature T lymphocytes (Smith *et al.*, 1989; MacDonald and Lees, 1990). Cells triggered for the classical type of programmed death are likely to determine their fate by turning on 'death-inducing' genes. In order to isolate such genes, it is essential to establish the experimental system in which the classical type of programmed cell death can be easily induced. Four murine cell lines shown below, which can die by apoptosis upon stimulation, are good candidates to be used for the purpose. Like immature T lymphocytes, a T-cell hybridoma 2B4.11 (Ashwell *et al.*, 1987) dies when it is stimulated with its cognate antigen (I-E^k + pigeon cytochrome *c*) or with a combination of ionomycin and phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) (Ucker *et al.*, 1989). An immature B-cell line WEHI-231 (Lanier and Warner, 1981) can be induced to die when its surface IgM molecules are crosslinked by anti-IgM antibodies (Benhamou *et al.*, 1990; Hasbold and Klaus, 1990). A lymphoid/myeloid progenitor cell line L_3D9 (Palacios *et al.*, 1987; Kinashi *et al.*, 1988) and a cytotoxic T-cell line CTLL-2 (Gillis and Smith, 1977) require interleukin-3 (IL-3) and interleukin-2 (IL-2), respectively, for their survival and proliferation, and the two cell lines die upon deprivation of the growth factors from the culture.

In this report, we examined whether *de novo* RNA synthesis is required for the apoptotic cell deaths of the above four cell lines and confirmed that it is required for the deaths of 2B4.11 and L_3D9, but for that of WEHI-231 or CTLL-2. Assuming that common biochemical pathways might be involved in the classical programmed deaths of

© Oxford University Press　3887

T細胞表面の受容体PD-1（programmed death-1）に関する最初の論文

がん治療に新たな光

馬場　最近では「クローズアップ現代（NHK）」、アメリカでも「ウォールストリートジャーナル」はじめさまざまなメディアで取り上げられ、世界中から注目されていますね。がんと闘う患者さんにとっては今までの三大療法（手術、抗がん剤、放射線）に次ぐ治療法で画期的なことだと思います。先生自身はどう見ておられますか。

石田　やはり元々自分の体に備わっている機能（免疫）を利用できるということが今までの治療法とは違う点です。現在、国内では、悪性黒色腫（メラノーマ）と肺がんにしか医療保険で認められていませんが、今年中にも（あるいは来年の前半くらいには）腎臓がんとホジキンリンパ腫にも適用されると予想されています。その他の固形がん（食道がん、胃がん、肝臓がん等）にも今、臨床試験を行っています。最大の問題点は一部の人にしか効かないということです。

2013年特に注目される研究として取り上げられる

馬場　効かない人にいくら投与しても仕方ないということも言われ始めていますね。これからは、効く人と効かない人の違いも検査等でわかってくるのでしょうか。

石田　がん細胞変異の起こっている場所の違いだと思います。変異したタンパク質がT細胞の認識しやすい変異であれば効く、変異が多くてもT細胞が認識できなければ攻撃対象とみなされず、効かないということになる。リンチ症候群（遺伝性大腸がん）では変異が多いため、ひとつの大きな傾向として効きやすいということがあります。

研究者として、新薬開発とも関わり

馬場　日本とアメリカの両方で研究をされて、違いを感じたことはありますか？

石田　アメリカでは研究以外の雑用をまったくしなくてよいのが良い点です。すべて専門スタッフがサポートしてくれますので、研究に専念できる環境が優れています。日本では研究以外の雑用が多い。自分の仕事（研究）以外の各種委員会やら、それこそゴミの処理に至るまで（笑）。研究費自体は30年前に比べると恵まれています。アメリカでは独立志向が強くチームになりにくい。日本ではチームでまとまることが得意なため、爆発的成果に結び付くことがあるのが良い点と言えるでしょう。

馬場　新薬の研究・開発については？

石田　PD−1についても、最初は薬になるとはまったく考えていませんでした。発見や発想は、研究者の幅広く、すそ野の広い知的好奇心、自由意思に任せてやっている中から生まれてくるものだと思っています。最初から狙って作った薬からは、所詮それ程目新しいものは出ないのではないでしょうか。

馬場　新薬開発はギャンブルとも言われていますが？

石田　小野薬品のオプジーボの開発者とは実は本庶研究室で一緒に研究していた時期がありました。PD−1のことにも興味を持ってもらい、ずっと研究を続けて新薬開発までこぎつけられました。研究開発しても医薬品にはならない事例は山ほどあるので、オプジーボができたことは本当に良かったとおっしゃっていました。

馬場　高薬価について中医協で問題になっていますがその辺りのことについては？

石田　オプジーボについて確かに高すぎるので、将来的には値下げが行われる可能性があるということを聞いています。また適用拡大もあるとのことです。

今後の研究テーマと可能性

馬場　先生の研究テーマである免疫学の自己と非自己に深くかかわると思いますが、自己免疫疾患は増えていると思われますか。

石田　自己免疫疾患とは言えないかもしれませんが、アレルギーは確実に増えていると思います。世の中きれいになり過ぎて、免疫細胞が暇をしていて新たな対象を攻撃するようになったのではと考えています。

馬場　臨床医学と生命科学のどちらに関心をお持ちですか。今後の研究課題についても教えてください。

石田　PD−1はネガティブレギュレーター（負の調節分子）と言われていますが、免疫にかかっているブレーキをはずすとどうなるか。オプジーボが今何故これだけもてはやされているのかを考えると、副作用はほとんどなく、ある一定の患者さんには劇的に効くからだと思われます。他のCTLA4などの免疫チェックポイント阻害薬（薬品名イピリムマブ）では副作用が強いのです。PD−1についてもまだよくわかっていない点が多く、PD−1が何をネガティブにレギュレートしているかを明らかにしていきたいと思っています。

もう一つはがんの治療だけでなく自己免疫疾患でもPD−1が応用できないかと考えています。私は直接関わっていませんが、製薬会社は既に研究開発に取りかかっています。

馬場　地元でこんなに素晴らしい研究者の方にお会いできて光栄でした。本日はお忙しいところありがとうございました。

【文責は編集部】