総説

免疫調節因子 Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 :
創薬のターゲット分子として山本 康子¹⁾, 村上 由希¹⁾, 星 雅人²⁾, 斉藤 邦明¹⁾

要約：インドールアミン酸素添加酵素 (Indoleamine 2,3-dioxygenase 1: IDO1) は、トリプトファン (Tryptophan: Trp) をキヌレニン (Kynurenine: KYN) に代謝するキヌレニン経路の律速酵素である。近年、IDO1 が免疫系に作用することなどから腫瘍細胞の免疫逃避機構において重要な役割を担っている分子であると考えられ、腫瘍での発現量と予後との関係で注目されている。また IDO1 の活性阻害は、腫瘍における免疫寛容状態の解除など病態と関係する。本稿では、IDO1 の創薬のターゲット分子としての意義について最近の知見を紹介する。

1. インドールアミン酸素添加酵素 (IDO1) とは

トリプトファン (Trp) をキヌレニン (KYN) に代謝する酵素として IDO1 とトリプトファン酸素添加酵素 (Tryptophan 2,3-dioxygenase: TDO) が知られている。同じ経路を代謝する酵素であるが TDO は主に肝臓に存在し生理的なトリプトファン代謝に関与すると考えられている。一方、IDO1 はインターフェロン (IFN)- γ などの種々炎症性サイトカインやリポポリサッカライドによって酵素誘導され、抗原提示細胞 (樹状細胞やマクロファージ等) をはじめ上皮細胞や腫瘍細胞などで強発現する免疫関連分子として、さらには NO との相互作用などで知られる (1)。

IDO1 は 1963 年に京都大学の早石博士の研究グループによって酸素を直接ベンゼン環に取り込む酸素添加反応を行う酵素として報告され、その後 1998 年にマウス妊娠中に胎盤での T 細胞に関連する免疫応答を抑制することによる同種抗原の拒絶を防御することから注目された (2)。近年、IDO1 の構造も決定され、酵素のくぼみの中で進行する Trp への酸素分子添加反応

が、酵素による水素原子の引き抜きではなく、二つの酸素原子と基質の直接反応というこれまで予想されていなかった独自のメカニズムであることが明らかにされている。

IDO1 活性の上昇により Trp より産生される KYN は、さらに下流への代謝産物に分解される。KYN の代謝経路には、3-ヒドロキシキヌレニン (3HK) から 3-ヒドロキシアントラニル酸 (3HAA) に代謝される経路、キヌレン酸 (KA) に代謝される経路、アントラニル酸 (AA) に代謝される経路の 3 つが知られている (図 1)。これらの代謝産物は生理活性を有し、KA は $\alpha 7$ ニコチン受容体のアンタゴニスト、3HK はサイトカイン産生調節など免疫系への関与が報告されている (3)。

2. 種々腫瘍組織における IDO1 発現と予後との関係

1950 年頃より種々の腫瘍患者の尿中で Trp 代謝産物の増加が報告されていた。腫瘍細胞における IDO1 発現と予後との関係について肺がん、乳がん、肝がん、大腸がん、血液腫瘍など様々な検討が行われており、IDO1 高発現症例と予後不良が報告されている。

Uyttenhove らはヒトの大腸がんや胃がんをはじめとする様々な腫瘍において IDO1 が腫瘍細胞に高発現していることを見出している (4)。免疫染色による検討では、IDO1 の発現は腫瘍細胞にのみ見られ、周囲の間質細胞では発現が認められていない。腫瘍組織での IDO1 発現とともに、抗原提示細胞などの免疫系細胞においても IDO1 発現がみられており、メラノーマ、乳がん、肺がんなど様々な腫瘍においてセンチネルリンパ節での IDO1 陽性細胞が免疫染色レベルで確認されている (5)。

キーワード：トリプトファン代謝、インドールアミン酸素添加酵素、免疫寛容

¹⁾ 京都大学大学院 医学研究科 人間健康科学系専攻 (〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53)

²⁾ 鈴鹿医療科学大学 保健衛生学部 (〒510-0293 三重県鈴鹿市岸岡町 1001-1)

E-mail: yamamoto.yasuko.5x@hs.med.kyoto-u.ac.jp 原稿受領日：2013 年 4 月 23 日、依頼原稿

Title: Indoleamine 2,3-dioxygenase 1 modulates the immuneresponse; the new therapeutic targets of this drug

Author: Yasuko Yamamoto, Yuki Murakami, Masato Hoshi, Kuniaki Saito

図1 IDOを基軸としたトリプトファン代謝経路

動物実験モデルを用いた検討も行われ、腫瘍関連抗原で前感作されたマウスでは腫瘍を拒絶する腫瘍関連抗原特異的細胞障害性T細胞が誘導されるが、移植腫瘍細胞にIDO1遺伝子を導入すると細胞障害性T細胞に抵抗性を示し、拒絶を免れることが示されている。また、IDO1発現は腫瘍組織内への細胞障害性T細胞数と相関がみられることも報告されており、細胞障害性T細胞の減少はIDO1の阻害薬である1-MT (methyl tryptophan) の投与により抑制される。SharmaらはB16メラノーマ担がんマウスの領域リンパ節内にはIDO1を高発現した形質細胞様樹状細胞が多数存在し、そのIDO1の作用により免疫抑制状態を持続するが、一旦、IDO1刺激を遮断するとTh17細胞様の形質に変化し免疫抑制能も消失することを報告している(6)。

我々はこれまでにレトロウイルス感染リンパ腫モデル (immunosuppressive murine leukemia virus: LP-BM5) において、IDO1ノックアウトマウスが野生型に比べ生存率を改善することを明らかにしている。IDO1ノックアウトマウスでは、I型IFN産生の増強がみられており、IDO1抑制がサイトカインの産生に影響を及ぼす。さらにIDO1ノックアウトマウスにKYNなどのTrp代謝産物を投与すると野生型と同じ症状を示すことから、IDO1の活性上昇に伴うKYNなどの代謝産物の増加が免疫抑制に関与すると考えられる(7)。

臨床症例およびマウスモデルを用いた検討において、腫瘍細胞におけるIDO1発現上昇とリンパ組織などにおける免疫系細胞においてもIDO1発現の上昇がみら

れる。即ち種々の腫瘍患者においてIDO1活性の上昇によりTrp代謝が亢進し、代謝産物であるKYNの血清中での上昇が認められる。悪性リンパ腫を中心とした造血器疾患におけるTrp代謝と予後との関係を我々は検討しており、びまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)症例における血清KYN値の予後因子としての有用性を報告した(8)(図2)。また肝臓がん再発症例における血清KYN値と予後との関係について、最新の検討では、再発時のKYN値で予後予測を可能とする知見が得られている。

上述の通りIDO1は、これまでの多くの研究より腫瘍の免疫逃避において重要な役割を果たしている分子であると考えられている。IDO1が関与する免疫抑制機構について、腫瘍細胞自身が発現しているIDO1と宿主の免疫系の細胞に発現するIDO1、それぞれの機構について次項で示す。

3. IDO1が関与する免疫抑制機構

1) 腫瘍細胞に発現するIDO1による免疫抑制機構

腫瘍細胞に高発現しているIDO1酵素誘導による結果として、腫瘍細胞内および腫瘍細胞周辺でのTrpの枯渇によるストレスが免疫反応を調節していると考えられている。IDO1活性の上昇によりもたらされるTrpの減少は、細胞内でのアミノ酸の減少に従って遊離t-RNAを増加、さらにはGCN2キナーゼ (general control non-depressive 2 kinase) の活性化をもたらし、IDO1の活性増加によりもたらされるTrp枯渇により腫瘍細胞周辺に存在するT細胞は大きな影響をうける。

つまり、GCN2 キナーゼの活性化により T 細胞は細胞周期を G1 期に停止させる。さらに Trp 減少による免疫抑制機能に加えて、産生される KYN などの Trp 代謝産物の影響も示されている。KYN に代表される Trp 代謝産物が *in vitro* において、T 細胞の増殖に関与していることが明らかとなっており、代謝産物の細胞毒性により T 細胞や NK 細胞などの増殖抑制あるいは細胞死が誘導される (1)。上述の通り、IDO1 誘導が腫瘍細胞を攻撃する役割を持つ T 細胞の増殖抑制や細胞死誘導をもたらすことで免疫抑制に働いている (図 3a)。

2) 宿主の免疫系の細胞に発現する IDO1 による免疫抑制機構

宿主の免疫系細胞の中で制御性 T 細胞 (Treg) は腫瘍の寛容状態の獲得において、重要な因子の 1 つである。Treg の増強は腫瘍の増殖をもたらす。一方 Treg の減少により腫瘍の抑制効果がみられる。IDO1 における免疫抑制作用も Treg と深く関わっており、Grohmann らは、マウスの樹状細胞において Treg 細胞が IDO1 の誘導に関与していることを明らかにしてい

る。Treg 上の CTLA4 と DC 上の B7-1, B7-2b 分子が結合することで、樹状細胞に IDO1 の発現が誘導される。樹状細胞で誘導された IDO1 はタンパク質レベルでの発現も確認され、活性も見られる機能的タンパク質であることが明らかとなっている (9)。また、ヒト単球細胞由来の樹上細胞においても同様に CTLA4 分子と B7-1 との結合と IDO1 活性がみられている (10)。IDO1 の発現細胞は、その形態から宿主の形質細胞様樹状細胞 (plasmacytoid DC) であると考えられている。

最近の *in vitro* における実験において、IDO1 を発現した樹状細胞が naive CD4⁺ T cell から新しい Treg の分化を促進し、IDO1 発現が Treg の増減にかかわることで免疫抑制に働いていることが報告された (11)。これらのことから IDO1 発現と Treg は相互に深く関与していると考えられ、Treg によって発現が誘導された IDO1 がさらにポジティブフィードバックとして働き、Treg の分化を促進させていると考えられる。しかしながら、樹上細胞上に IDO1 が発現するための一番最初のトリガーは、樹状細胞と Treg の結合であること

図 2 血液腫瘍における予後マーカーとしての IDO1 発現および代謝産物測定

a) 免疫組織化学染色における IDO1 陽性と生存率との関係、b) 血清 KYN 値と生存率との関係。(文献 8 より転載)

図 3 IDO1 が関与する免疫逃避機構

a) 腫瘍細胞に発現する IDO1 による免疫抑制機構、b) 宿主の免疫系の細胞に発現する IDO1 による免疫抑制機構。

も示唆され、腫瘍においてIDO1が関与する免疫機構についてはその詳細について今後のさらなる研究結果が望まれる(図3b)。

4. 創薬のターゲットとしてのIDO1阻害薬探索

腫瘍細胞自身と免疫系細胞におけるIDO1発現およびその誘導は、前述の通り腫瘍の免疫寛容の成立に深く関与している。近年IDO1活性を抑制することによる、腫瘍の免疫寛容状態の解除をターゲットとしてがん治療効果に期待したIDO1阻害薬の探索が進められている。

実際に免疫抑制因子であるIDO1阻害薬を抗がん薬などの治療と併用して行うことは予後不良症例において有効な効果をもたらすと期待される。IDO1阻害薬として研究に汎用されている分子は、1-MT (1-methyl tryptophan) であり、マウスモデルにおいても1-MT投与による腫瘍の抑制効果がみられている。Mullerらは、トランスジェニックマウスを用いた乳がんモデルにおいて1-MTの抗腫瘍効果について検討を行っており、抗がん薬と1-MTとの併用により抗腫瘍効果の増強が認められている(12)。

米国では、IDO1の阻害薬であるD-1-MTの臨床試験が始まっている。しかし、D-1-MTとL-1-MTはそれぞれでIDO1抑制効果に差がみられており、L-1-MTの方がIDO1阻害活性がより強いと報告されている。さらに動物実験において腫瘍抑制効果の見られているD-1-MTは、培養細胞でIDO1の活性阻害を認めないとの報告があり、阻害薬研究でのD体、L体による阻害の差に関して、さらなる詳細な検討が必要である。近年、IDO1と45%のホモロジーを有するIDO2遺伝子が同定されており、IDO2はIDO1に比べTrp代謝活性は低いと考えられるが、恒常的に脳、肝

臓、腎臓、精巣上体などで発現している(13)。IDO2は、樹上細胞での発現も認められており免疫系への関与も示唆されるが、IDO2の生理的役割については今だ不明な点が多い。臨床試験に進んでいるD-1-MTは、IDO1よりIDO2に対する抑制作用が強いことが報告されるなど、1-MTの阻害効果の作用機序については不明であり、IDO2の生体内での生理的意義に加え腫瘍との関係についても今後のさらなる研究が期待される。

本稿では、IDO1によるTrp代謝と腫瘍の関係、またIDO1活性や代謝産物測定を用いた疾患の階層化や予後予測などについて我々の最近の知見も含め紹介した。IDO1阻害薬と薬剤の併用による治療効果の改善などを考えるとIDO1活性の阻害は抗腫瘍において有効な手段であると考えられる。即ちIDO1は創薬のターゲットであるのみならず、臨床サンプルの代謝産物一斉解析による疾患バイオマーカーとしての意義を有すると考えられ、今後の新しい阻害薬開発も含めさらなる臨床研究に期待したい。

著者の利益相反：開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) Mellor AL, et al. Nat Rev Immunol. 2004;4:762-774.
- 2) Munn DH, et al. Science. 1998;281:1191-1193.
- 3) Murakami Y, et al. Mediators Inflamm. 2013;2013:391984.
- 4) Uyttenhove C, et al. Nat Med. 2003;9:1269-1274.
- 5) Munn DH, et al. J Clin Invest. 2007;117:1147-1154.
- 6) Madhav D, et al. Blood. 2009;113:6102-6111.
- 7) Hoshi M, et al. J Immunol. 2010;185:3305-3312.
- 8) Ninomiya S, et al. Ann Hematol. 2011;90:409-416.
- 9) Fallarino F, et al. Nat Immunol. 2003;4:1206-1212.
- 10) Munn DH. J Immunol. 2004;172:4100-4110.
- 11) Curti A, et al. Blood. 2007;109:2871-2877.
- 12) Muller AJ, et al. Nat Med. 2005;11:312-319.
- 13) Fukunaga M, et al. J Histochem Cytochem. 2012;60:854-860.