

題名	獲得免疫の驚くべき幸運
Title	Serendipities of Acquired Immunity
著者名	本庶 佑
Author(s)	Tasuku Honjo
言語 Language	日本語・英語 Japanese, English
書名	稲盛財団：京都賞と助成金
Book title	Inamori Foundation: Kyoto Prize & Inamori Grants
受賞回	32
受賞年度	2016
出版者	公益財団法人 稲盛財団
Publisher	Inamori Foundation
発行日 Issue Date	8/31/2017
開始ページ Start page	154
終了ページ End page	189
ISBN	978-4-900663-32-9

## 獲得免疫の驚くべき幸運

本庶 佑

この度、第32回京都賞を受賞しましたことは、身に余る光栄であります。またこの記念講演を行う機会を与えていただきました稲盛財団の皆様にご心から御礼を申し上げます。本日は、私の研究の歩みの中で遭遇した多くの幸運と人類の祖先が進化の過程で獲得免疫を得たことによる幸運、この二つの幸運についてお話申し上げたいと思います。

人類は太古の時代から感染症に悩まされて来ました。エジプトの石碑に描かれているレリーフ像から、紀元前14世紀後半に活躍したと思われる神官の右足が細く、麻痺していることがわかります(Fig. 1)。おそらくこの当時からポリオウイルス感染による麻痺が人類を悩ませていたことを示しております。麻痺は残ったものの、幸い免疫の力によって生命を失うことはなかったのです。



Fig. 1

免疫系の力は、今日までの人類の生存に不可欠なものでありました。ごく最近までヒトの死因の第一は感染症でした。感染症から命を守る生物が生存競争に勝ち残り、地球上に繁栄したのです。逆に病原体との戦いこそが生物の免疫系の進化を加速させたのです。

ギリシャの歴史家で『戦史』の著者として有名なトゥキディデスによりますと、ギリシャの植民都市国家であったシチリア島のシラクーザとアフリカのフェニキア人国家カルタゴとの間で戦われた紀元前4-5世紀頃の長年の戦いの最中、戦場で天然痘が発生し中断されたことがありました。再度の戦になったとき新兵中心のカルタゴ兵士が大きな被害を受けたのに比べ、以前の天然痘の感染から回復したシラクーザ兵士は再度の感染を免れ戦いに勝利したという事実が記載されております。

このような経験を重ねて人類は免疫immunityという現象を知るようになりました。

## Serendipities of Acquired Immunity

Tasuku Honjo

I am greatly honored to receive the 2016 Kyoto Prize, and sincerely thank the Inamori Foundation for giving me the opportunity to present this Commemorative Lecture. The topic of my talk today will be two kinds of serendipities: first, the many serendipities I have personally enjoyed in the course of my research, and second, the serendipities humanity has gained from our ancestors' development of acquired immunity through the process of evolution.

Humanity has been plagued by infectious diseases since ancient times. A relief on an Egyptian stela depicting a priest believed to have lived in the latter half of the 14th century BC shows a thin, apparently paralyzed right foot (Fig. 1). This probably illustrates that humanity was afflicted by paralysis from poliovirus infection at that time. But although the affected person would remain paralyzed, they would fortunately not lose their life due to the power of immunity.

Immunity remains indispensable for human survival even today. Until very recently, infectious diseases were the leading cause of human death. Life forms that were able to avoid death from infectious diseases won the competition for existence and flourished on the earth. At the same time, this battle with pathogens is what accelerated the evolution of immune systems.

According to Thucydides, a Greek historian famous for writing "The History of the Peloponnesian War," this long war fought between the Greek colony of Syracuse on the island of Sicily and the Phoenician city-state of Carthage in Africa around the 4th to 5th century BC was interrupted when smallpox broke out on the battlefield. He writes that when the war resumed, the Carthaginian army consisting mostly of new recruits suffered greatly, while the soldiers of Syracuse avoided infection due to having previously recovered from smallpox and won the war.

Through a succession of these kinds of experiences, humanity became familiar with the phenomenon of immunity. The word "immunity" comes from the Latin word "immunitas". "Munitas" means social obligations of Roman society, which included taxation and conscription, and "im" means to avoid those obligations. Therefore, "immunity" essentially means avoiding something that is supposed to happen sometime in the future. The human immune system possesses acquired immunity that enables it to remember antigens, which makes it a mechanism for never getting the same disease twice.

The mechanism called acquired immunity that produces immunological memory is present in all animals from vertebrates onward, and is the reason why mammals and



た。immunityとは、ラテン語のim-munitasで、munitasとは税、徴兵などローマ市民の社会的義務を意味し、imはこれを免除されるということです。つまりいつかは来るべきものを避ける事ができるという意味がありました。ヒトの免疫系は抗原を記憶することができる獲得免疫を持つので「同じ病気に二度かかりなしの仕組み」です。

免疫記憶を生じる獲得免疫と呼ばれる仕組みは脊椎動物以上に備わっており、このことが哺乳類を含めた脊椎動物が感染症から逃れて長生きし、地球上で繁栄している理由となっております(Fig. 2)。一方、記憶を残さない免疫、自然免疫は全ての生物に備わっております。

自然免疫ではマクロファージ、好中球などが主な役割を果たします(Fig. 3)。自然免疫の仕組みでは侵入した病原体を体の成分の構造パターンの違いから知ることができますが、特定の病原体、例えば「天然痘ウイルス」だという識別はできず記憶も残りません。抗原を記憶する獲得免疫の中心プレーヤーは、T細胞とB細胞というリンパ球であり、それぞれ細かい抗原の構造の違いを見分けるリセプターを持っております。T細胞は後でお話をするがん細胞を攻撃する細胞であり、B細胞は抗体を産生する細胞であります。

免疫記憶をヒトの病気の予防に応用したワクチンの発見は1796年イギリスの外科医ジェンナーによって行われました。彼は牛の天然痘ウイルスを8歳の少年の腕に接種し、6週間後にヒトの天然痘ウイルスを接種しても少年は発症しなかったということで、ワクチン接種で感染症を予防できることを証明しました。

ワクチンが病気を予防する仕組みを理解する上で非常に大きな貢献をしたのは、エミール・フォン・ベーリングと北里柴三郎であります。彼らはジフテリア毒素を投与した動物の血清中に、この毒素を中和する物質があることを発見しました。1890年のことです。これを利用してジフテリアや炭疽菌感染症に対する血清療法が確立されました。血清の中にあった中和活性を持つ物質は、のちに抗体であることが判明しました。ベーリングはこの業績によって第1回ノーベル賞受賞者となりました。

抗体の構造は長く謎でありましたが、20世紀の中頃に4本のタンパク質からなる全体の構造が明らかになりました(Fig. 4)。抗体はL鎖とH鎖が二本ずつSS結合で結ばれたカニの爪のような構造を致しております。その後、アミノ酸配列の決定によってL鎖とH鎖には可変部と定常部があるということが明らかになりました。可変部は抗原との結合に関わり、H鎖の定常部は結合した抗原の処理方法を決めるクラス決定をします。

other vertebrates have been able to escape infectious diseases, live long lives, and flourish on the earth (Fig. 2). Innate immunity, or immunity without memory, is present in all animals.

Cells such as macrophages and neutrophils play major roles in innate immunity (Fig. 3). Innate immunity allows the body to recognize invading pathogens by differences in structural pattern from bodily components, but cannot identify and remember specific pathogens such as smallpox. The major players in antigen-remembering acquired immunity are lymphocytes called T cells and B cells. Both types of cells have receptors that can discern minute differences in antigen structure. T cells, which I will discuss later, attack cancer cells, whereas B cells produce antibodies.



Fig. 2

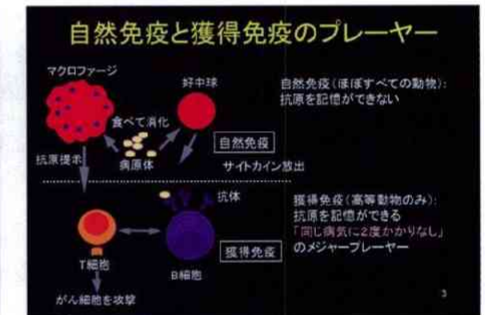


Fig. 3

The first vaccine that utilized immunological memory to prevent human disease was developed in 1796 by the British surgeon Edward Jenner. He inoculated an 8-year-old boy on the arms with cowpox virus, the cow version of smallpox, and the boy did not develop smallpox when inoculated with human smallpox virus six weeks later. Through this, Jenner proved that vaccination can prevent infectious disease.

Two people who made great contributions to our understanding of how vaccines prevent disease are Emil von Behring and Shibasaburo Kitasato. They discovered that the serum of animals injected with diphtheria toxin contains a substance that neutralizes the toxin. This was in 1890. This finding was utilized to establish serotherapies for infectious diseases such as diphtheria and anthrax. It was later discovered that the neutralizing substance in serum was antibodies. Behring was awarded the first Nobel Prize for the work.

The structure of antibodies remained a mystery for a long time until the full structure consisting of four proteins was uncovered in the mid-20th century (Fig. 4). An antibody looks like a crab's claw, with two light (or "L") chains and two heavy (or "H")



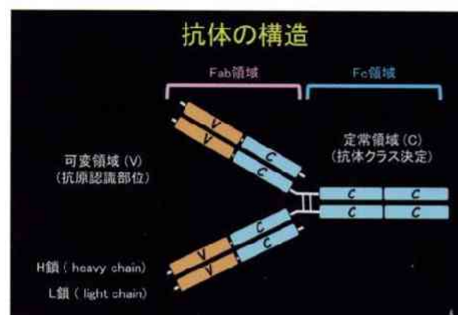


Fig. 4

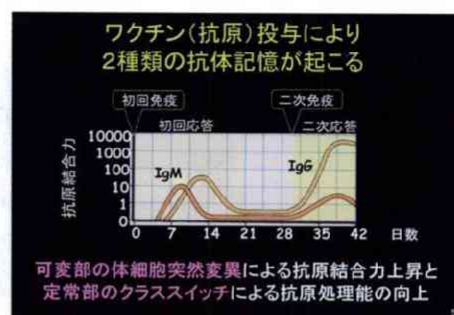


Fig. 5

動物に抗原を投与すると、初回反応としてまずIgMクラスが作られ、少し遅れてIgGクラスが作られます(Fig. 5)。同じ動物に数週間経って同じ抗原を投与したときの二次反応では、抗原と強い結合能力を持ったIgGがすぐに作られます。この二次反応では、二つの変化が起こります。まず、作られる抗体の抗原との結合能力が高くなります。抗原結合部位である可変部に体細胞突然変異が入ったため抗体の抗原との結合能力が上がるのです。次に、最初に作られる抗体クラスがIgMからIgGへのクラスのスイッチを起こし、これにより抗体はつかまえた抗原を効率よく処理できます。この二つの変化によって、動物は「抗原を記憶し再度の感染に対して強い防御力を持つことができる」のです。これがワクチンの原理です。抗体の可変部に変異が入ると、病原体に対する結合の強いものも弱いものも生じますが、抗原と強く結合する抗体を発現する細胞が刺激を受けて増殖することによって、結果として抗原に強い結合能力を持った抗体が身体の中にたくさん作られます。体細胞突然変異はL鎖とH鎖の可変部領域遺伝子に点突然変異が入ります。様々な変異の入った可変部を持つ抗体を作るBリンパ球の中から、抗原への結合力の高い抗体を作るリンパ球が選択されるというダーウィンの原理が一人ひとりのヒトの身体の中で働きます。

一方、クラススイッチではL鎖とH鎖可変部は変わらず、H鎖の定常部のみが別の構造のものに入れ変わります(Fig. 6)。H鎖定常部は抗体のクラスを決め、また抗体クラスは捕まえた抗原をどこでどのように処理するかということを決めますので、クラススイッチによって抗体の抗原結合能力は変わらず、抗原処理能力が変わります。

このようにしてできた記憶抗体がどのように役立つかの一例を示します。母親が病原体に一度感染してできた記憶抗体は、母親から胎児に胎盤を通して渡されますが、この抗体はIgMでなくIgGでなければなりません。また母乳から新生児に移される抗体はIgAでなくてはなりません。こうして体細胞突然変異とクラススイッチは、胎児

chains linked by disulfide bonds. It was later discovered that the L and H chains have variable regions and constant regions that depend on the amino acid sequence. The variable region is involved in antigen binding, whereas the constant region of the H chain determines the class of the antigen that binds to it, and consequently how that antigen will be processed.

When an animal is injected with an antigen, its primary response is to produce IgM class antibodies, and then produce IgG class antibodies shortly thereafter (Fig. 5). Injection of the same animal with the same antigen a few weeks later triggers a secondary response, in which the immune system quickly produces IgG antibodies that bind with high affinity to antigens. Two things change in this secondary response. The first change is that the produced antibodies bind to antigens with higher affinity. This increase in affinity is due to a somatic mutation in the variable region, which is the antigen-binding region. The second change is that the class of the first antibodies produced switches from IgM to IgG. This allows the antibodies to more efficiently process captured antigens. These two changes enable animals to remember antigens and strongly resist repeated infection. This is the principle behind vaccines. Mutations in the variable region of an antibody can produce higher or lower affinity for pathogens. However, when cells that express high-affinity antibodies are stimulated to proliferate, the body produces many high-affinity antibodies. These somatic mutations are point mutations in genes encoding the variable regions of the L and H chains. A Darwinian principle by which lymphocytes producing high-affinity antibodies are selected from all B lymphocytes producing antibodies with various variable region mutations is at work in the body of each and every human.

In class switching, the variable regions of the L and H chains do not change. Instead, only the constant region of the H chain takes on a different structure (Fig. 6). The constant region of the H chain determines antibody class, which in turn determines how the captured antigen will be processed. Therefore, class switching does not change affinity for antigens, but rather antigen processing.

Let me give an example illustrating the utility of these memory antibodies. Memory antibodies produced by a pregnant mother after initial infection with a pathogen are transferred to her child in utero through the placenta, but these antibodies must be IgG rather than IgM. What is more, antibodies transferred from a mother's breast milk to her newborn must be IgA. As you can see from this example, somatic mutations and class switching play critical roles in protecting children from infectious disease in utero and as newborns. Research had shown that animals exposed to



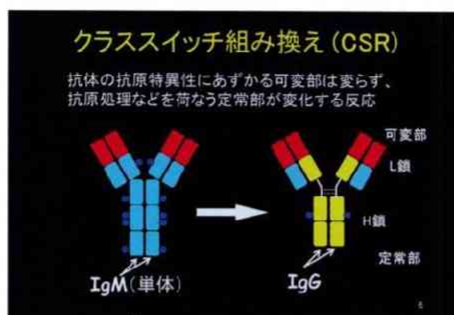


Fig. 6

や新生児を感染症から守るのに非常に重要な役割をいたします。動物は人工的に合成された化学物質などを含めたどんな抗原を投与しても記憶できることから抗体の抗原結合能力は無限のように思えました。どのようにしてこんな巧妙な免疫の仕組みが働くかは1970年代に入っても全く不明でした。

私がこのような素晴らしい免疫の仕組みの謎に出会うまでの道りをご紹介します。私は小学校の校庭で夏休みに理科の先生から天体望遠鏡で土星の輪を見せてもらい、宇宙の不思議のとりことなり、天文学を研究したい、宇宙の果てに何があるか知りたいと思いました。

しかしその後、野口英世の伝記を読み、人の命を救う医学という分野も素晴らしいと大きな興味を持ちました。また父が医師であったことも後押ししたと思いますが、医学の道に進むことにしました。

後に野口英世記念医学賞を受けたとき、父はとても喜んでくれました。

大学に入って間もなく、柴谷篤弘先生の『生物学の革命』という本がみずす書房から出版されました(Fig. 7)。ここで柴谷先生はがんは遺伝子の変異で起こると考え、まずDNAの塩基配列を自動分析する装置を開発しなければならないと述べられています。第二に間違っている塩基配列を見つけたら分子外科手術のように入れ替えなければならないと、1960年当時としては途方もない先見性を述べられていました。半世紀後の今日私たちはようやくこれが現実の話として受け取れます。このように壮大かつ高邁な発想は若者の心を強く惹きつけ、私に医師でなく医学研究者の道を歩む決意をさせました。

医学部卒業後大学院は迷わず医化学教室の早石修先生のもとに進みました(Fig. 8)。早石先生は当時、米国国立衛生研究所(National Institutes of Health)から帰国し着任されたばかりの気鋭の学者で研究者がどうあるべきか、論文を盲信せず

antigens of any type, including artificially synthesized chemical compounds, could remember all of them, making it seem that antibodies have unlimited ability to bind to antigens. Even so, the mechanisms underlying these ingenious workings of immunity were completely unknown as late as the 1970s.

Now, I would like to share with you how I came to encounter these fantastic mysteries of immune mechanisms. When I was in elementary school, my science teacher let me come to school over the summer to look at the rings of Saturn through an astronomical telescope. I was captivated by the mysteriousness of space and wanted to study astronomy to learn what lies at the edge of space.

However, I later read books by Hideyo Noguchi and developed a great interest in the field of medicine and its amazing pursuit of saving lives. The fact that my father was a doctor may also have helped to motivate me, and I ended up deciding to pursue a career in medicine.

My father was very pleased when I later won the Hideyo Noguchi Memorial Award for Medical Sciences.

Soon after I started university, Misuzu Shobo published a book called “The Revolution in Biology” by Dr. Atsuhiro Shibatani (Fig. 7). In this book, Dr. Shibatani explained his belief that cancer is caused by gene mutations and asserted that a machine for automated analysis of nucleotide sequences in DNA must be developed. He also asserted that erroneous nucleotide sequences must be fixed as if performing molecular surgery. He showed amazing foresight by writing these things in 1960. Half a century later, we are finally discussing them as reality. These grand and lofty visions were highly attractive to my young mind and gave me the determination to become a medical researcher rather than a clinician.

After graduating from medical school, I unhesitatingly decided to continue my studies under Dr. Osamu Hayaishi in the Department of Medical Chemistry for

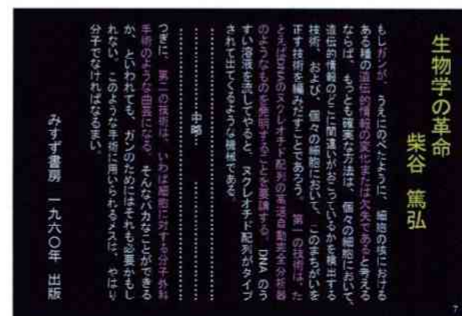


Fig. 7





Fig. 8

疑うこと、研究の国際性、独創性の意味などについて薫陶を受けました。大学紛争で研究ができなくなり、大学から脱出するように1971年米国に留学し、そこで分子免疫学の研究に出会いました。

とっかかりは最初に留学したメリーランド州ボルチモアにあるカーネギー研究所でブラウン先生が抗体の多様性を説明するために抗体遺伝子は多数コピーが存在するという単純明快な説を提唱し、これが分子レベルで検証可能であると講演をされたことであります。

私はこの説に非常に興味を持ち、そのような研究を行える場所を求めて、1973年にNIHのレーダー研究室に移動いたしました。そして、幸運なことに74年頃から組換えDNA技術が開発され、遺伝子の測定や単離が可能になりました。ここでブラウン先生のモデルの検証をする機会を得ましたが、結果は少なくともL鎖定常部遺伝子は1個か2個であるというもので先生の説を否定することになりました。米国にそのままいて研究を続けるように誘われ大変迷いましたが、家族の将来を考え帰国を決意しました。ブラウン博士とレーダー博士から受けた物心両面の大きな恩恵を手みやげに1974年に東京大学栄養学教室に助手として着任しました。

ここで何をやるか大いに悩みました。米国でやっていたのと同じような抗体遺伝子の研究はとても勝ち目が無いから他のことをやれと先輩からアドバイスを受けたが、どうせやるなら一番やりたいことをやろう。失敗したら田舎でのんびりとお医者さんになって過ごしても良いと考え、免疫学の中心課題に挑戦することにしました。しかし、米国でやっていたL鎖可変部の多様化の仕組みでなく、誰も手をつけていなかったH鎖定常部の多様化に取り組みました。

長い準備期間のあと抗体H鎖定常部遺伝子の測定が可能になりました。そこでそれぞれ色々な種類の抗体を作る骨髄腫細胞DNA中の抗体遺伝子を測定したところ、産

graduate school (Fig. 8). At that time, Dr. Hayaishi was an up-and-coming researcher who had just returned from the National Institutes of Health in the United States to take up a position at the university. He taught me many things, including how a researcher should be, not to blindly trust research papers, and the significance of an international perspective and originality in research. During the time of active student protests I became unable to conduct research and went to the United States as a research fellow to escape the university in 1971. That is where I first encountered research in molecular immunology.

It all began when I was doing my first fellowship at the Carnegie Institution of Washington in Baltimore, Maryland. In a lecture, Dr. Brown proposed a clear and simple theory that the diversity of antibodies can be explained by the existence of numerous copies of antibody genes, and that this can be verified at the molecular level.

I became deeply interested in this theory and moved to Dr. Leder's laboratory at the NIH in 1973 looking for an institution where I could conduct research on such topics. Fortunately, the development of recombinant DNA technology around 1974 made it possible to quantify and isolate genes. This gave me the opportunity to validate Dr. Brown's model, but I ended up disproving his theory, at least in regards to the constant region of the L chain, by showing that there are only 1 or 2 genes encoding that region. I was offered to stay in the United States to continue that research. It was a difficult decision, but ultimately I chose to return to Japan in consideration of my family's future. With the great material and spiritual support I received from Dr. Brown and Dr. Leder, I joined the Department of Physiological Chemistry and Nutrition at the University of Tokyo as Assistant Professor in 1974.

I was very conflicted about what to do there. More established professors advised me not to focus on the research on antibody genes I had done in the United States because it had a low chance of success, but I decided that if I was going to research anything, it should be what I wanted to research most. I decided to tackle immunological research, thinking that if I failed, I could just move to the countryside and live a quiet life as a rural doctor. However, rather than studying the mechanisms of diversification of the variable region of the L chain that I researched in the United States, I studied the diversification of the constant region of the H chain, which nobody had worked on before.

After a long period of preparation, it became possible to quantify genes encoding the constant region of the H chain of antibodies. When I started this work by quantifying antibody genes in the DNA of myeloma cells, which make many varieties of antibodies, I



生される抗体の種類によって定常部遺伝子に欠失があるということを見つける幸運に恵まれました。たとえば $\gamma 2b$ 遺伝子を発現する骨髄腫、すなわちIgG2bを産生する骨髄腫では、 $\mu$ 、 $\gamma 3$ 、 $\gamma 1$ といった遺伝子がなくなっていました。

多くのミエローマを比較してみると、抗体遺伝子の欠失パターンに一定の法則があることが見えてきました。帰りの電車の中でデータを見直していたとき、この欠失は抗体定常部遺伝子を一定の順番に並べると、可変部と発現される定常部遺伝子の中間部分が全て欠失すると仮定すると説明できることに気付き、この仮説を提唱いたしました(Fig. 9)。この実験を主にやってくれたのは当時大学院生の片岡徹君であります。

このモデルを証明するには染色体上の遺伝子断片を単離して実際に欠失があるか調べる必要があります。1977年春、ようやく解禁となった組換えDNA技術を習得するために私は再びレーダー研に短期留学し、持参した $\gamma 1$  mRNAからcDNAクローンの単離に成功しました(Fig. 10)。このcDNAをプローブとしてマウスのDNAから $\gamma 1$ 遺伝子の単離に取り組みました。片岡君が中心になりこのDNA断片を純化し、1978年2月末にはベクターに入れる一歩手前まで来ました。しかし彼は新婚旅行に行ったので、止むなくそれを引き継いだ私が3月21日にクローニングに成功しました。このスライドはその時の感激の言葉が、私のノートに残っていたのでコピーしたものです。左のスポットが $\gamma 1$ 遺伝子断片を持ったファージをプローブで検出したスポットです。右はこの $\gamma 1$ 遺伝子と $\gamma 1$  mRNAが会合している電子顕微鏡写真です。

その後、大阪大学遺伝学教室に教授として招かれ、一緒に来てくれた片岡君は実際に遺伝子レベルで $\gamma 1$ 抗体遺伝子を発現している骨髄腫DNA中では組み換えが起こり中間の定常部遺伝子が欠失されて可変部領域と発現される定常部領域が近傍に手繰り寄せられるということ、さらにこの組み換えは反復配列を持つS領域と名付けた領域で起こることを証明し、1979年に論文を発表しました(Fig. 11)。

また、染色体上のH鎖定常部遺伝子群を全て含む長い領域のDNAを単離して、定常部遺伝子の配列順番がモデルで想定した通りであることを清水章君が中心になり、証明して報告しました(Fig. 12)。

次いでこれらの大きな遺伝子の欠失がどうやって起こるのかという分子メカニズムを明らかにしたいと思い、様々な試みをしましたが、成功しませんでした。1984年、大阪大学から京都大学に移る頃、クラススイッチを制御するサイトカインIL-4と5のcDNAを単離し構造決定に成功しました。NIHフォガティスカラーの招へいを受け91年から5年間毎年3ヶ月程度NIHに滞在しました。この間にIgMからIgAに数%

### クラススイッチにおける遺伝子欠失モデル



Fig. 9

### $\gamma 1$ 遺伝子の単離に成功 (1978年)



Fig. 10

was fortunate enough to discover that certain genes encoding the constant region are deleted depending on the type of antibody produced. For example, myelomas that expressed the  $\gamma 2b$  gene and produced IgG2b were missing the  $\mu$ ,  $\gamma 3$ , and  $\gamma 1$  genes.

After comparing many myelomas, I found that the pattern of antibody gene deletions followed a standard set of rules. Looking over the data on the train ride home, I realized how I could explain these deletions, and published my hypothesis that if the genes encoding the antibody constant region were lined up in a certain order, the portion of the chromosome between the variable region and the expressed constant region genes would be completely deleted (Fig. 9). The main person who helped me with this experiment was Dr. Tohru Kataoka, who was a graduate student at the time.

To test this model, we needed to isolate gene segments on chromosomes and determine whether there were actually deletions. In the spring of 1977, the ban on recombinant DNA technology was finally lifted and I returned to Dr. Leder's lab for a short fellowship. There I successfully isolated cDNA clones from  $\gamma 1$  mRNA I brought with me (Fig. 10). I used this cDNA as a probe to isolate the  $\gamma 1$  gene from mouse DNA. With Dr. Kataoka playing a key role in the process, we purified the DNA fragments and were just about ready to insert them into a vector at the end of February 1978. However, at that point Dr. Kataoka left for his honeymoon, I took up the remaining work and completed the cloning process on March 21. This slide shows some excited words from that time that I copied from my notebook. The spot on the left is a spot of phages with  $\gamma 1$  gene segments that the probe detected. On the right is a picture of  $\gamma 1$  gene associating with  $\gamma 1$  mRNA that was taken with an electron microscope.

After that, I was invited to join the Department of Genetics at Osaka University as a professor. Dr. Kataoka accompanied me and actually verified at the molecular level that myeloma DNA expressing the  $\gamma 1$  antibody gene undergoes recombination, the constant region genes in the middle are deleted, and the variable region and the



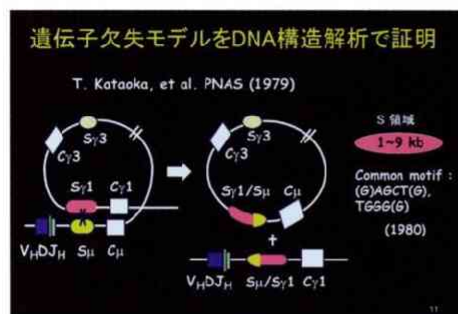


Fig. 11



Fig. 12

スイッチするCH12細胞が存在することを知りました。これが後の発展につながる幸運となりました。しかし、このままでは生化学実験には使えませんので細胞を純化してIL-4などで刺激すると、約40%の細胞がIgAにスイッチするというCH12 F3株を単離することに成功しました。

刺激してIgAを発現するCH12細胞とものIgMを発現するCH12細胞の間でどのような遺伝子発現の差があるのかを調べましたところ、IgAを作る細胞にのみAIDという分子があることを1999年に村松正道君が発見しました(Fig. 13)。

AIDの役割を調べるためにAID遺伝子欠失マウスを作成しました。スライドのブルーの線で示したように、AID遺伝子を欠失させたマウスでは抗原を投与してもIgGを作れずIgMだけが作られるということが分かりました(Fig. 14)。つまりクラススイッチが起こらなくなったのです。

このスライドは体細胞突然変異の頻度を縦軸に、横軸にH鎖可変部領域のアミノ酸の位置を示しておりますが、突然変異が最も高頻度にかかるCDR1、CDR2という領域でAIDがあるネズミではきちんと変異が入りますが、AIDのないネズミでは全くといっていいほど変異が入らないことが、木下和生君らの研究から分かりました(Fig. 15)。さらに、AIDをリンパ球でない細胞に発現させても、体細胞突然変異とクラススイッチが起こることが判りました。

AID遺伝子染色体上の位置が10万人に一人見つかる遺伝病の高IgM血症II型の遺伝子と近いと考え、フランスのAnn Durandy, Alan Fischerグループとの共同研究を行い、この病気がAIDの欠損症であることが分かりました(Fig. 16)。この患者ではマウスと同じようにクラススイッチが起こらずIgMが増え、また体細胞突然変異が起こりません。患者さんは繰り返し感染症に罹ります。

これらの一連の結果からワクチンの仕組みの本体である抗体記憶形成、即ち抗体遺

expressed constant region are pulled closely together, and that this recombination occurs in a region with nucleotide motifs that he named the S region. He published these findings in 1979 (Fig. 11).

A team led by Dr. Akira Shimizu also isolated DNA of a long region including all gene clusters encoding the constant region of the H chain on chromosomes and proved that the sequence of the constant region genes matched the proposed model (Fig. 12).

My next goal was to uncover the molecular mechanisms that produce these major gene deletions. I made several attempts to that end, but none succeeded. In 1984, after moving from Osaka University to Kyoto University, I isolated cDNA for cytokines IL-4 and IL-5, which regulate class switching, and was able to determine their structure. I was invited to be a Fogarty Scholar-in-Residence at the NIH, and worked there for about 3 months a year for 5 years starting in 1991. During this time, I discovered the existence of CH12 cells that switch from IgM to IgA at a rate of a few percent. This was a serendipitous discovery that would lead to future findings, but was not yet useable in biochemical experiments. Instead, I was able to isolate a CH12F3 strain in which about 40% of cells switch to IgA after purification and stimulation with IL-4.

When Dr. Masamichi Muramatsu investigated differences in gene expression between CH12 cells that produce IgA on stimulation and the original IgM-expressing CH12 cells in 1999, he found that only IgA-producing cells have a molecule called AID (Fig. 13).

He then created AID knockout mice to study the role of AID. As you can see from the blue lines on the slide, mice without the AID gene could not produce IgG and produced only IgM when injected with antigens (Fig. 14). In other words, class switching did not occur.

On this slide, the vertical axis shows the frequency of somatic mutations, and the

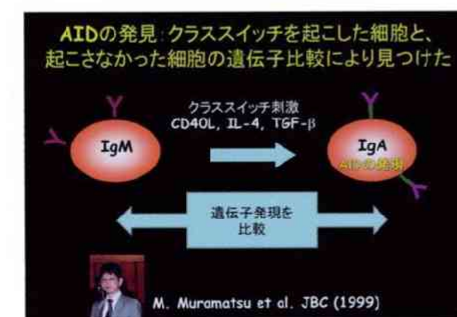


Fig. 13

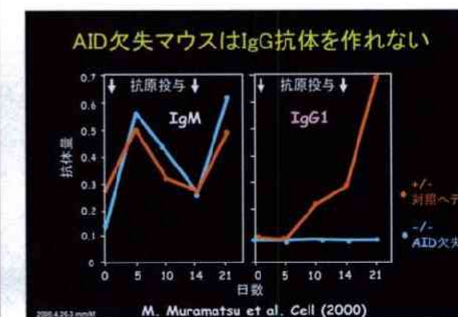


Fig. 14



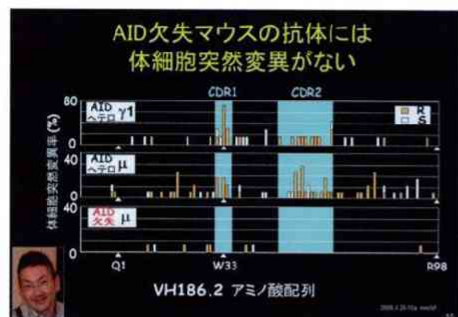


Fig. 15

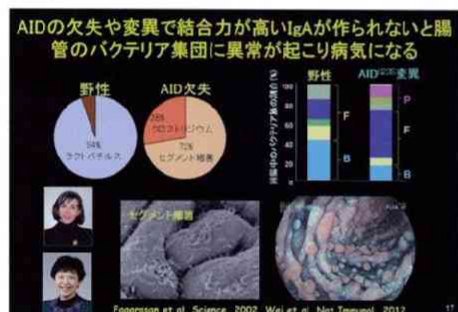


Fig. 17

伝子に抗原の記憶を刻むものはAIDであるということが明らかになりました。

AIDが欠失したマウスを解析した結果、思いがけない現象が見つかりました (Fig. 17)。Sidonia Fagarasanさんおよび新蔵礼子さんは腸管内バクテリア集団と人体の共生には体細胞突然変異が入ったIgAが分泌されることが必要で、このバランスが崩れると重大な病気を引き起こすことを発見しました。この発見から腸内細菌と宿主の適正な共生関係が人体の健康保持に重要であるという研究が世界中で展開されるようになりました。

AIDは不思議な働きをします (Fig. 18)。まず、体細胞突然変異は遺伝子の変異、暗号で言えば文字の入れ換えであります。クラススイッチは遺伝子の組み換え、すなわち暗号の文章の変化でありますから切って繋ぎ合わせる必要があります。両者は従来、別々の分子が起こすと考えられてきましたが、AIDの発見によって両方をひとつの分子が行っていることが解りました。一体これはどのようにして可能なのだろうか、皆が非常に不思議に思いました。我々は現在もこの謎を追及しています。

AIDは198個のアミノ酸からなるタンパク質で中央部分にシチジンデアミナーゼ酵素活性の中心があり、RNA中のCをTにするRNA編集酵素であります (Fig. 19)。

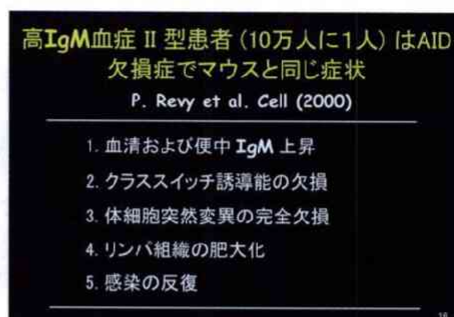


Fig. 16

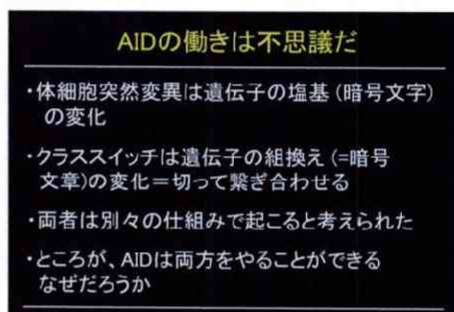


Fig. 18

horizontal axis shows the positions of amino acids in the variable region of the H chain. Dr. Kazuo Kinoshita and his team found that mice with AID in CDR1 and CDR2, the areas with the highest frequency of mutations, have the expected mutations in those areas, but mice without AID have almost no mutations (Fig. 15). They also discovered that somatic mutations and class switching occur even in non-lymphocyte cells made to express AID.

A French group led by Anne Durandy and Alain Fischer noticed that the chromosomal position of the AID gene is close to that of a gene for hyper-IgM syndrome type II, a genetic disease that affects 1 in 100,000 people, and discovered that this disease is caused by AID deficiency (Fig. 16). As in the knockout mice, class switching does not occur in these patients, which causes an increase in IgM, and somatic mutations do not occur either. These patients repeatedly contract infectious diseases.

Through this series of findings, it was determined that antibody memory formation, or the writing of memories of antigens into antibody genes, that is the primary mechanism of vaccines, is the work of AID.

Analysis of AID knockout mice shed light on a completely unexpected phenomenon (Fig. 17). Dr. Sidonia Fagarasan and Dr. Reiko Shinkura discovered that secretion of IgA with somatic mutations is required for symbiosis of gut bacteria populations with the human body, and that imbalance there causes serious disease. This discovery sparked the global development of a new field of research into the importance of proper symbiosis of gut bacteria with their host in the maintenance of human health.

AID works in strange ways (Fig. 18). If we think of genes like a code, somatic mutations, or gene mutations, would be a change in a letter, and class switching, or recombination of genes, would be a change in a paragraph of the code. Therefore, the genes need to be cut and switched. These two processes were previously believed to be performed by separate molecules, but the discovery of AID showed that they are performed by just one molecule. Scientists everywhere were perplexed by how this could be possible. We are still working on this puzzle today.

AID, a 198-amino acid protein with a cytidine deaminase active center in its central section, is an RNA editase that changes C to T in RNA (Fig. 19). Through many years of analysis, Dr. Hitoshi Nagaoka and his team found that the N-terminal of AID has a segment necessary for cleaving DNA and the C-terminal has a segment necessary for recombining DNA. AID is usually expressed in activated B lymphocytes, but is said to sometimes be expressed in other cells or the intestinal epithelium when inflammation or



長岡仁君らの長年の解析結果からAIDのN末端にはDNAの切断に必要な部分とC末端にはDNAを繋ぎ合わせるのに必要な部分が存在します。AIDは通常は活性化Bリンパ球に発現されますが、炎症やその他の刺激で他の細胞や腸管上皮に発現することがあると言われています。

AIDはRNA編集をするために共役因子(コファクター)を使うことをWenjun Hu君が発見しました(Fig. 20)。AIDの単量体はhnRNP Kという分子と共同してマイクロRNAを編集し、DNAの切断に関与します。AIDは二量体を形成するとhnRNP Lという分子と会合してmRNAを編集し、DNA修復に必要な新しいタンパク質を作ります。

AIDによるDNA切断に直接関わるのがTop1という酵素であることを小林牧さんが明らかにしました(Fig. 21)。転写されている抗体遺伝子領域には特別なヒストンが集まり、強い転写を受けることによってこの領域のDNAの構造が緩みます。通常はTop1がこの緩みを巻き戻すのですが、AIDで編集されたマイクロRNAによってTop1の量が低下するとDNAは異常構造を作ってしまう。するとそこではTop1によって不可逆的なDNA切断が起こるということが解りました。

一方、DNA修復はもっと複雑です(Fig. 22)。まずは二つのDNA切断断端を近くに手繰り寄せるために従来知られていたいくつかの修復酵素が必要です。さらにAIDのmRNA編集によって作られる新しいタンパクが関与します。DNA修復のしくみについてはNasim Begumさんが中心になって解明してきました。

これまでの免疫の多様化の仕組みをまとめますと、大変多くの幸運が重なり、獲得免疫の謎の一端を解明し、特に抗体記憶を生む酵素AIDを発見し、その分子機構を解明したということです。

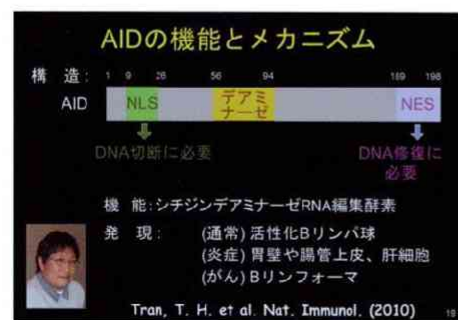


Fig. 19

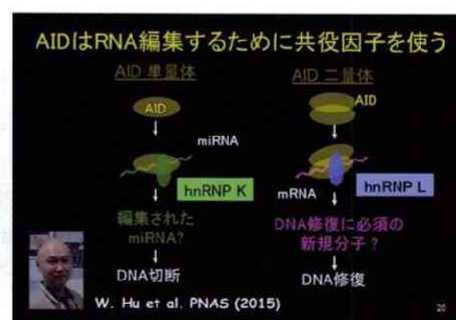


Fig. 20

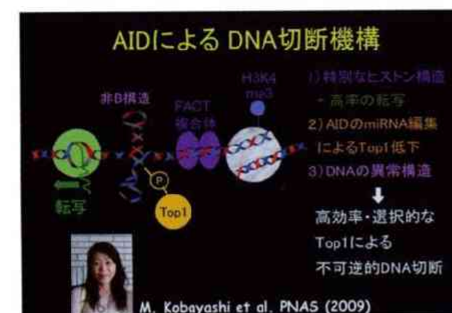


Fig. 21

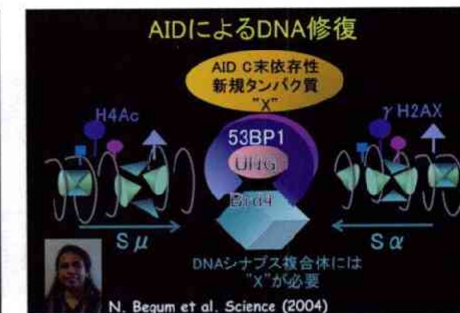


Fig. 22

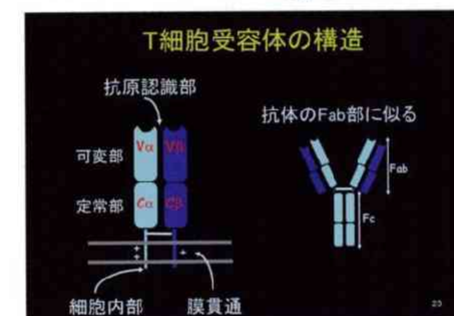


Fig. 23

another stimulus is present.

Dr. Wenjun Hu discovered that AID uses cofactors to edit RNA (Fig. 20). AID monomers work with a molecule called hnRNP K to edit microRNA, and are involved in DNA cleavage. Once AID forms dimers, it associates with a molecule called hnRNP L to edit mRNA and produce new proteins required for DNA repair.

Dr. Maki Kobayashi found that an enzyme called Top1 is directly involved in DNA cleavage by AID (Fig. 21). Special histones gather at the transcribed antibody gene regions, and the DNA structure of these regions unwinds with strong transcription. Top1 normally rewinds unwound DNA, so DNA takes on an abnormal shape when Top1 production is reduced by microRNA edited by AID. It is now known that when it happens, Top1 cleaves the DNA irreversibly.

DNA repair is more complex (Fig. 22). First, several previously discovered repair enzymes must work to pull the two cleaved ends of the DNA close together. A new protein produced when AID edits mRNA is also involved. Dr. Nasim Begum has led the effort to uncover DNA repair mechanisms.

In summary, mechanisms of diversification of immunity have been uncovered through a great series of serendipities. One part of the puzzle of acquired immunity was



さて、獲得免疫のプレーヤーとして抗体を作るB細胞の研究について述べてきましたが、もう一つのプレーヤーはT細胞であります。T細胞にはヘルパーとキラーがありますが、キラーT細胞はウイルス感染細胞やがん細胞を攻撃して殺すことができます。

T細胞の抗原受容体は抗体の一部分と非常によく似た構造をして、可変部で多様な抗原を認識することができます(Fig. 23)。

1983年頃私達もT細胞リセプターの遺伝子単離に挑戦しましたが、これはうまくいきませんでした。1984年大阪大学を去り京都大学に移る直前の頃、IL-2リセプターというサイトカインリセプターの単離に成功し、続いてT細胞が作るサイトカインIL-4とIL-5のクローニングに成功しました。1989年に大学院に入学した石田靖雅君は、しばらくして胸腺T細胞の選択的細胞死にかかわる遺伝子の単離を提案しました。石田君の提案は手技も含めて完成されたアイデアでありました。さらに用いた細胞ではPD-1の発現誘導が極めて強かったので、単離できたのはPD-1のみでしたので、迷うことなくこの分子の機能解析に進むことができました。

石田君、縣保年君達が解析したPD-1 cDNAの構造からこの分子は膜に発現されること、また細胞内側に特徴的な構造を持っていました(Fig. 24)。その時知られていた細胞に正のシグナルを与える分子に共通のチロシンというアミノ酸が2個保存されておりました。しかし、その間隔は従来の分子と大きく違い、新しいタイプの細胞膜受容体であると考えられました。しばらくするとPD-1は細胞死に関わるものではないことがまず判明しましたが、面白そうな分子なのでその機能を続けて研究することにしました。

西村泰行君がPD-1遺伝子の欠失マウスを作り、岡崎拓君がその解析に加わり5年近くの大変な苦勞を重ね、湊長博研究室の協力も得た結果、黒ネズミ、白ネズ

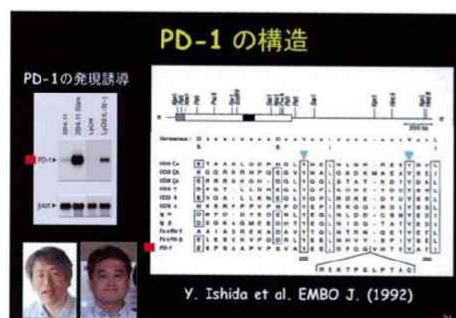


Fig. 24

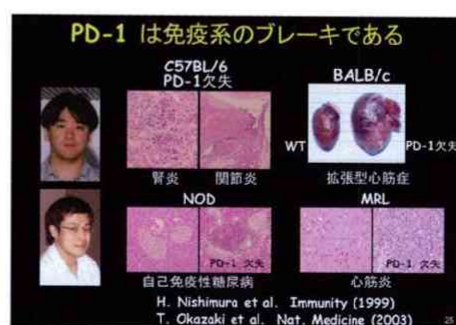


Fig. 25

solved, and most notably, the AID enzyme that creates antibody memory was discovered and its molecular structure determined.

Up to this point, I have discussed research on antibody-producing B cells as a player in acquired immunity. Now I would like to talk about another player: T cells. Types of T cells include helper and killer T cells. Killer T cells can attack and kill virus-infected cells and cancer cells.

Antigen receptors on T cells have a structure that very closely resembles part of an antibody, and its variable region can recognize a variety of antigens (Fig. 23).

Around 1983, my team and I were also working on isolating T cell receptor genes, but were not very successful. In 1984, right before I moved from Osaka University to Kyoto University, we isolated a cytokine receptor called IL-2 receptor, and subsequently cloned cytokines IL-4 and IL-5 produced by T cells. Dr. Yasumasa Ishida proposed that we isolate genes involved in selective cell death of T cells in the thymus shortly after he entered graduate school in 1989. His proposal was a fully developed idea that included the necessary techniques. In addition, he induced very strong PD-1 expression in the cells he used and thus was only able to isolate PD-1, which allowed him to proceed to functional analysis of the molecule unwaveringly.

Dr. Ishida, Dr. Yasutoshi Agata and their team found from their analysis of PD-1 cDNA structure that this molecule is expressed in the membrane and has a characteristic structure inside of the cell (Fig. 24). The molecule has two common tyrosine residues preserved from previously known molecules that transmit positive signals to cells. However, the distance in between was very different from previously discovered molecules, leading the team to conclude that this was a new type of cell membrane receptor. Shortly thereafter, they established that PD-1 is not involved in cell death, but we continued researching its function because it was an interesting molecule.

Over a grueling period of nearly five years, Dr. Hiroyuki Nishimura created PD-1 knockout mice, and Dr. Taku Okazaki analyzed the mice with the assistance of Dr. Nagahiro Minato's laboratory. They found that various species of mouse, including black mice and white mice, develop different diseases (Fig. 25). Nephritis, arthritis, dilated cardiomyopathy, autoimmune diabetes, and myocarditis are all autoimmune diseases that develop when the immune system is abnormally active. In other words, their finding that mice without PD-1 have an overactive immune system showed that PD-1 acts as a brake on immune response.

Regulation of immune response is similar to cruise control of a car (Fig. 26). Initial



免疫制御は自動車走行制御と似ている

	進行	停止	効果
駐車場から出る	アクセル	駐車ブレーキ	発進/駐車
[活性化]	[CD28]	[CTLA4]	
道路走行	アクセル	ブレーキ	0~100km/h
[攻撃]	[ICOS]	[PD-1]	

Fig. 26

ミといった様々な種類のネズミでそれぞれ違う病気が発症することが判りました (Fig. 25)。腎炎、関節炎、拡張型心筋症、自己免疫性糖尿病、心筋炎などはいずれも免疫の力が異常に上がるために起こる自己免疫症状であります。すなわちPD-1がないネズミで免疫が上がるということからPD-1が免疫反応のブレーキ役をしていることがわかりました。

免疫反応の制御は自動車の走行制御に似ております (Fig. 26)。免疫系を最初に活性化するためには自動車が駐車場から出るときのようにパーキングブレーキを解除してゆっくりとアクセルを踏む必要があります。免疫系ではこの時のアクセルに相当するのがCD28、パーキングブレーキはCTLA4という分子であります。これらは自動車運転に似て、発進か停車か、「オン」か「オフ」の効果で働きます。一方、道路を走行するときのアクセルとブレーキに相当するものは、免疫が相手を攻撃するときを使うものでアクセルがICOSであり、PD-1がブレーキです。両者の組み合わせによって時速何十kmでも任意の速度を出すことができるように免疫力の強さを可変的に制御します。

永らく外科手術、放射線、化学抗がん剤のみががん治療法として有効であるとされてきました。がんを免疫の力で治療できないかと多くの人が試みていましたが成功しませんでした。

従来がんの免疫治療に用いられたのは、がん抗原ワクチン治療、即ち抗原をがん細胞から取り出し、これを大量に投与する。あるいは細胞活性化療法といって患者さんのリンパ球を取り出し、試験管の中で活性化させて再び戻すという方法。さらにはインターフェロンなどの免疫活性化サイトカイン療法が試みられましたが、いずれも成功しませんでした (Fig. 27)。そこで私共はPD-1というブレーキを外したら免疫系が活性化するというところを見つけたので、これのがん治療ができないかと考えました。

免疫のアクセルを踏む  
がん治療の試みは成功しなかった

1. がん抗原療法
2. 免疫細胞活性化療法
3. インターフェロンなどの免疫活性化法

→ PD-1ブレーキをはずしてみる

Fig. 27

activation of the immune system requires releasing the parking brake and slowly pressing down on the accelerator as when driving a car out of a parking lot. In the immune system, a molecule called CD28 is the accelerator and a molecule called CTLA4 is the parking brake. Like acceleration and braking when driving a car, these work by being turned “on” or “off”. There are also molecules that correspond to accelerating and braking while driving on a road. In this analogy, ICOS, which the immune system uses to attack invaders, is the accelerator, and PD-1 is the brake. These two molecules work together to dynamically regulate the strength of the immune system to ensure that it can move at any speed, even at tens of kilometers per hour.

For a very long time, surgery, radiotherapy, and chemotherapy were considered the only effective treatments for cancer. Many researchers attempted to treat cancer with the power of the immune system without success.

Earlier immunotherapies for cancer included cancer antigen vaccine therapy, which involves extracting antigens from cancer cells and injecting large doses of those antigens. Another method called cell activation therapy involves collecting a patient's lymphocytes and reinjecting them after activating them in a test tube. Interferon therapy and other cytokine therapies designed to activate the immune system were also attempted unsuccessfully (Fig. 27). In light of these failures, my colleagues and I wondered whether our discovery that releasing the PD-1 “brake” activates the immune system could be applied to the treatment of cancer.

To test this hypothesis, I asked Dr. Yoshiko Iwai, a graduate student at the time, to start research on cancer treatment in early 2000 (Fig. 28). First, she grew tumors in PD-1 knockout mice and normal mice and discovered a significant difference in proliferation speed. For example, as you can see in the graph, the tumors of wild-type mice, shown on the left, proliferated in a linear fashion, whereas the tumors of PD-1 knockout mice with a very active immune system, shown on the right, did not grow. Because of these findings, we decided to do an experiment to test whether antibodies could be used to treat cancer.

Professor Nagahiro Minato, a colleague of mine who specializes in cancer immunology, created some superior antibodies, and Dr. Iwai tested whether injecting mice with these antibodies would suppress tumor proliferation. She found that tumor growth was strongly attenuated and lifespan was longer in mice injected with the antibodies (Fig. 29). PD-L1 is a molecule that binds to PD-1 and acts like a foot pressing on the brake.

Dr. Iwai used a model in which liver metastasis is produced by injecting a skin



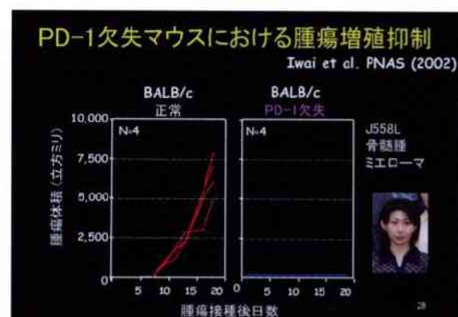


Fig. 28

そこで当時大学院生であった岩井佳子さんに2000年の初めくらいからがん治療の研究を始めてもらいました(Fig. 28)。まずPD-1が欠失しているネズミと正常なネズミで腫瘍を植えて増殖スピードに差が出るかどうかを見てもらったところ有意の差がありました。例えば左のように野生マウスでは腫瘍が直線的に増殖しますが、右のPD-1欠失、すなわち免疫力が非常に上がっているネズミでは腫瘍が増えてこないということがわかりました。そこで次には抗体をがん治療に使えるか実験することになりました。

同僚でがん免疫の専門家の湊長博教授に優れた抗体を作っていただき、抗体投与によって腫瘍増殖の抑制効果があるかのテストをしてもらったところ、抗体を打ったネズミでは腫瘍の増加が強く抑えられ、ネズミの寿命も延びるということがわかりました(Fig. 29)。PD-L1はPD-1と結合するブレーキを踏む足の役割をする分子です。

岩井さんはさらにメラノーマという皮膚がんを脾臓に打ってそれが肝臓に転移するモデルを使って、PD-1抗体を投与すると肝臓への転移が抑えられることを示しました。同じようにPD-1遺伝子がないネズミでは正常ネズミに比べてがんの転移が非常に少ないことも確認いたしました。これらのマウスモデルでの明確な効果を見て、私は是非これをヒトで試したいと考えました。がんの治療というのは多くの医学研究者にとって長年の夢でありました。

PD-1抗体を使えばこれが可能かもしれないという強い思いにかられ、この原理をヒトに応用するためにヒト型抗体を作ること企業に提案しましたが、非常に困難に直面いたしました。これには多くの投資が必要であり、これをすぐ引き受ける企業がありませんでした。特許の共願者である小野薬品工業は、1社では無理なので国内外の企業と共同研究をしたいと言って相談に行きました。1年かけて十数社から全て断

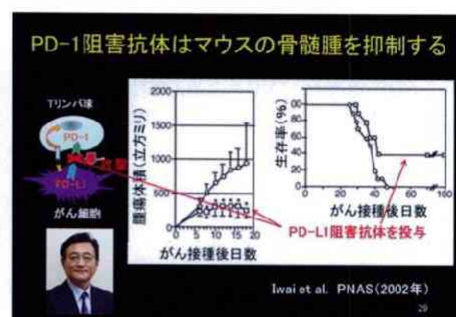


Fig. 29

cancer called melanoma into the spleen to show that anti-PD-1 antibody inhibits metastasis to the liver. Using the same method, she also confirmed that mice without the PD-1 gene have a markedly lower rate of cancer metastasis than normal mice. After seeing these clear results in a mouse model, I was eager to try this method in humans. Curing cancer has been a long-held dream of many medical researchers.

Spurred on by the strong belief that anti-PD-1 antibodies could help me fulfill that dream, I pitched the idea to apply this principle to humans by creating human antibodies to some companies, but ran into great difficulties. This project would require a large amount of funding, and no company wanted to take it on right away. Ono Pharmaceutical, the co-applicant on the patent, wanted to do joint research with another company inside or outside Japan because they could not do it alone, and went to meet with some potential partners. They told me that they spent a year talking to a dozen companies but none accepted, so they had decided to give up on development. Therefore, I decided to develop the antibody myself with an American venture company. When I talked with them, they agreed with zero hesitation. However, their agreement was on the condition that Ono Pharmaceutical would withdraw from the project. I relayed this to Ono Pharmaceutical, but the patent was published while they were considering withdrawal. Fortunately, Medarex, another American venture company, directly asked Ono Pharmaceutical to collaborate after seeing the patent, and development was started.

Soon after, Medarex created fully human anti-PD-1 antibody using their XenoMouse, a mouse with human immunoglobulin genes, and applied for a patent in 2005. These antibodies have high affinity and were designed to not kill T cells even when bound to PD-1. In 2006, the United States FDA approved the antibody as an investigational new drug, and clinical trials were started.

The first phase I clinical trial conducted in the United States in 2006 was a safety study in patients with terminal lung cancer, colorectal cancer, melanoma, kidney cancer, and prostate cancer. A similar clinical trial in patients with recurrent and refractory cancers was started two years later in Japan. The reason why we began with refractory cancer was that nobody believed that the immune system could cure cancer at the time. Doctors were particularly skeptical. It would be very risky to subject our own patients to this kind of trial, so we enrolled patients whom we could offer no other help. During this time, in 2009 Bristol-Myers bought Medarex.

Shortly after the trial began, I started hearing at conferences and in other places



られたので開発を断念したいと言って来ました。そこで、私は自分自身が米国のベンチャーと開発をすることにし、彼らと話しをしたところ、即決即断でやりましようと言いました。しかし、そのためには小野薬品工業に撤退してもらうことを条件とされました。それを小野薬品工業に伝えたのですが、小野薬品工業が撤退を検討している間に特許が公開されました。幸運なことにそれを見た米国の別のベンチャーであるメダレックス社が小野薬品工業に直接共同開発を申し込み、そこで開発が始まりました。

直ちにメダレックスのゼノマウスというヒト免疫グロブリン遺伝子を持ったマウスを用いて完全ヒト型PD-1抗体が作られ、2005年にはこの特許出願されました。この抗体は強い結合力を持ち、またPD-1に結合してもT細胞を殺さないようにデザインされています。2006年にはInvestigation new drug(研究新薬)という形で米国のFDAに承認され、治験が開始されたわけでありす。

米国で2006年に最初に行われた第1相臨床治験は末期の肺がん、大腸がん、メラノーマ、腎がん、前立腺がんを対象とした安全性治験であります。日本では2年遅れで同じような再発性の難治性がんに対する治験がスタートいたしました。難治性がんがで治験がスタートしたのは、当時、誰も免疫でがんが治るとは信じていなかったからです。特に医者さんは信じていませんでした。このような治験に自分の患者さんを預けることは大変リスクが高いので、自分達では手の施しようがない患者さんを治験に参加させました。この間にメダレックスは2009年に Bristol-Myers Squibb に買収されました。

治験開始をしてまもなく安全性を調べる目的だったのにすごく効いているという情報を学会等で聞くようになりました。2012年に発表された最初の第1相治験結果の報告論文は、末期がん患者の20ないし30%に有効であるという報告であり、296名の末期がん患者に実施して、完全寛解、有効例が非小細胞性肺がん、メラノーマ、または腎細胞がんに認められたのであります(Fig. 30)。これは当時がんの分野に大きな衝撃を与え、ウォールストリートジャーナル、フランクフルトアルゲマイナーなどの経済紙にも大きく取り上げられ、「がんは治る」とセンセーショナルな報告が行われました。従来、このような末期がん患者が反応する治療は想定できなかったからであります。

この論文でさらに注目を集めたことは6か月間投与して中止したわけでありすが、そのうち腫瘍が大きくならなかった31名中20名が治療を止めたあと1年半以上再発がなかったというデータが含まれていたことでもあります(Fig. 31)。この図は最

that even though the study was only supposed to be on the safety of the treatment, it was actually yielding amazing results. The results of the first phase I trial published in 2012 showed that 20% to 30% of patients with terminal cancer responded to the treatment. A total of 296 patients with terminal cancer received the treatment, and patients with non-small cell lung cancer, melanoma, and renal cell carcinoma showed a complete response or some response (Fig. 30). This was a major shock to the field of oncology at the time, and was even widely reported in business newspapers such as the Wall Street Journal and Frankfurter Allgemeine. They made the sensational proclamation that “cancer can be cured”. This is because nobody could have imagined before that a treatment so effective in terminal cancer patients could exist.

Another aspect of this report that caught even more attention was that even though the treatment was discontinued after 6 months, data showed that 20 of the 31 patients whose tumors did not grow during that time did not relapse for at least a year and a half after discontinuing treatment (Fig. 31). On this graph, “0” indicates the size of the patient’s tumor at the start of treatment. Tumors that grew are plotted by percentage above that size, and tumors that shrank are plotted by percentage below that size. While it should be noted that this graph does not include data from patients who did not respond at all, you can see on the graph, with the scale marked in weeks, that tumors that did not grow for at least a year and a half after the patient discontinued the antibody treatment at the 6-month mark continued that trend, and some tumors even disappeared completely. This kind of long-lasting effect was unprecedented with conventional cancer treatments and caused a big sensation.

I also collaborated with Professors Ikuro Konishi and Junzo Hamanishi of the Department of Gynecology and Obstetrics at Kyoto University to conduct a clinical trial investigating the efficacy of the anti-PD-1 antibody Opdivo in terminal ovarian cancer refractory to conventional anticancer drugs.

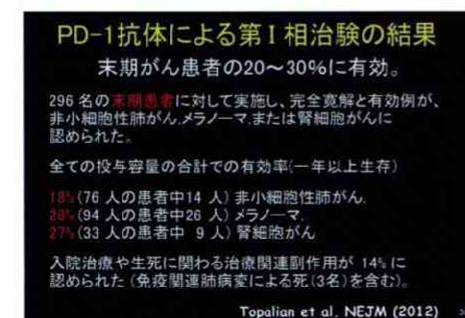


Fig. 30

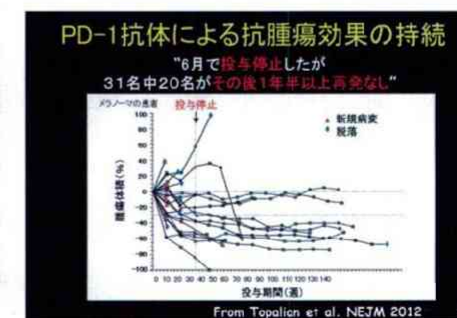


Fig. 31



初に投与したときの患者さんの腫瘍の大きさを0として、腫瘍が大きくなったのは上、小さくなったものは下に%でプロットしたものであります。全く効かなかったヒトについてはプロットとしてありませんが、抗体の投与を6ヶ月で止めたあと、これは週で目盛ってありますので、その後1年半以上腫瘍は大きくならなくてそのまま共存するという現象が見られ、中には完全に腫瘍が消えるものもありました。このような長期持続的な効果というものは従来のがん治療法では全く知られていなかったことであり、大きなセンセーションを巻き起こしました。

私たちが京都大学産婦人科の小西郁生教授、濱西潤三先生らと共同でPD-1抗体、商品名オプジーボを使って従来の抗がん剤治療で治らなかった末期卵巣がん患者さんを対象にした有効性の治験を行いました。

その結果のまとめであります、2種類の用量でそれぞれ10名の患者さんに1年間投与しました。その結果腫瘍が消えたもの、小さくなったもの、大きさが変わらなかったものを集めた群はいわゆる病勢コントロール率として定義され、一定の効果があつた人が約40から50%に達しました。

そのうちの一例であります、卵巣がんの再発による大きな腫瘍が腹腔にありましたが、4ヶ月の投与で完全に腫瘍が消失し、腫瘍マーカーもほぼ0になりました。この方は3年後の今でも非常にお元気で活躍しておられます。

卵巣がんの治験では1年間投与し、その後中止したわけではありますが、2年以上経ってもお元気な患者さんは2名おられます(Fig. 32)。有効であった残りの7名の方も再発したときに追加投与ができれば助かったのではないかと思います。

その後、世界中の大学や病院から様々ながん種についてのPD-1抗体治療の結果が次々と公表されるようになりました。いくつかのものをご紹介します。無治療すなわち初めてメラノーマとして診断された418名の患者さんを無作為に2群にわけて

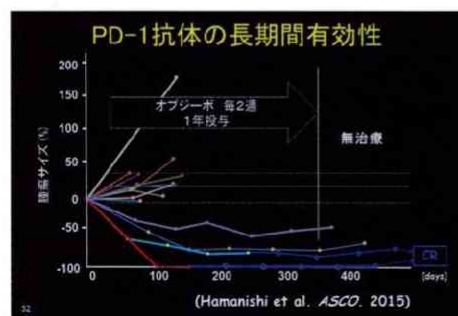


Fig. 32

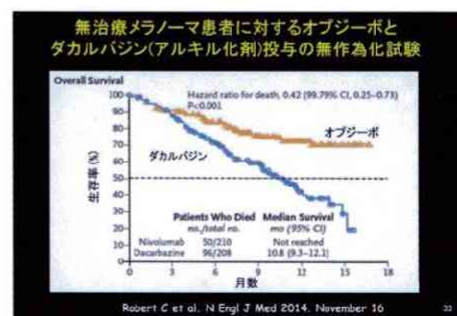


Fig. 33

We used two different doses in groups of 10 patients each for a period of one year. We measured efficacy by the disease control rate, defined as the group of patients whose tumors disappeared, shrank, or remained the same size, and found that 40% to 50% of patients showed some response.

To give an example, in one patient who developed a large peritoneal tumor from recurrent ovarian cancer, the tumor disappear completely and tumor markers decreased to nearly 0 after 4 months of treatment. She is still doing very well today, 3 years after the trial.

In the ovarian cancer trial, treatment was provided for one year and then discontinued, but two patients are still doing well more than 2 years later (Fig. 32). I think we may have also been able to save the other seven patients who responded if we had re-treated them after recurrence.

After this trial, universities and hospitals from all over the world began publishing results of anti-PD-1 antibody therapy for various types of cancer. I would like to present a few examples. In one study, 418 patients with melanoma who were treatment-naïve, meaning that they had been diagnosed with melanoma for the first time, were randomized into two groups and received either Opdivo or the anticancer drug dacarbazine, which was the established best option (Fig. 33). Efficacy was evaluated objectively without the patients knowing which treatment they were receiving. After a year and a half, the survival rate in the Opdivo group was 70%, compared with less than 20% in the dacarbazine group, causing the ethics committee to order the termination of the study because the difference in efficacy was so great.

Another study of Opdivo in patients with Hodgkin's lymphoma refractory to conventional treatment also showed signs of efficacy: all 23 patients had their tumors either shrink or stop growing (Fig. 34).

There are three reasons why cancer immunotherapy by inhibition of PD-1 is such a breakthrough. The first is that it could potentially be effective in all types of cancer, the second is that the effects of treatment persist for several years after discontinuation with low rates of recurrence, and the third is that adverse reactions are relatively mild because the treatment activates the immune system rather than directly attacking cancer cells.

The reason why the power of the immune system can be used to treat cancer is that cancer is a foreign invader (Fig. 35). Analysis of DNA of various cancer cells has shown that all of them have several hundred to several thousand times as many mutations as normal cells. Therefore, even though cancer cells used to be the body's



オブジーボと従来最も良いといわれていた抗がん剤ダカルバジンとを投与しました (Fig. 33)。すなわち患者さん自身もどちらの治療を受けているかわからない形にして客観的効果を判定しました。1年半後、オブジーボを投与した群は70 %の生存率でありましたが、ダカルバジン投与群では20 %以下の生存率でありましたので倫理委員会が治験の中止命令を出しました。非常に大きな有効性の差が見られたからです。

また、同じように従来の治療では難治性のホジキンリンパ腫の患者でオブジーボを投与したところ、23例の全例で腫瘍の大きさ縮小または増加なしという有効性のサインがありました (Fig. 34)。

PD-1阻害によるがん免疫治療が非常に画期的であるといわれる理由は、第一におそらく全ての種類のがんに効くと思われること、第二に治療をやめても数年以上にわたって効果が続き再発は少ないこと、第三にがん細胞を直接攻撃せず、免疫系を活性化するので、副作用はあっても比較的軽いということによります。

がんを免疫力で治療することが出来る理由は、がんは異物だからです (Fig. 35)。様々ながん細胞のDNAを調べますと、いずれも正常の細胞の何百倍、何千倍といった変異が入っております。従ってがんはもともとは自分の細胞でありながら、増殖を繰り返して変異を蓄積し、免疫系が異物と認識する細胞になっているということがわかります。このためPD-1抗体治療法は原理的にどのがんにも効果があると期待されます。

従来の抗がん剤は正常細胞も殺してしまいますので100 %のがん細胞を殺すほどの量は投与できません。少ないけれど残ったがん細胞は増殖し、さらに変異を重ねることになり、これが抗がん剤抵抗性の細胞として再発します。そこでまた違う抗がん剤を使っても同じようにわずかに残ったがん細胞にさらに変異が加わり、新たな抵抗性がん細胞が生じます。ところが免疫系には膨大な数の種類の抗原を見分けるリンパ球

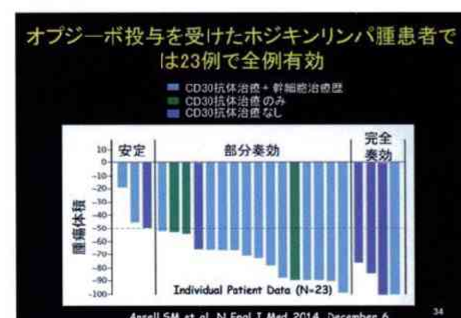


Fig. 34

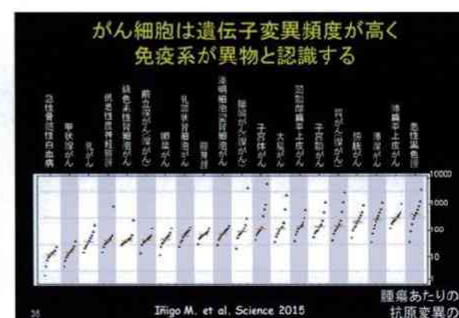


Fig. 35

own cells, they accumulate mutations through repeated proliferation and ultimately come to be recognized by the immune system as foreign. This is why it is hoped that anti-PD-1 antibody therapy will in principle be effective against any type of cancer.

Conventional anticancer drugs also kill normal cells, and thus cannot be administered at the doses required to kill 100% of cancer cells. Though only few cancer cells remain after treatment, they proliferate and acquire even more mutations, which produces recurrent cancer with cells resistant to anticancer drugs. Therefore, even if the cancer is then treated with a different anticancer drug, the same process will repeat: the few cancer cells that remain will gain additional mutations and produce new resistant cancer cells. In contrast, the immune system is equipped with cells called lymphocytes that can distinguish countless types of antigens and make it possible to find and kill all mutated cells, which produces a long-lasting effect with a low rate of recurrence.

If the immune system is on full alert from the onset of cancer, it should be able to eliminate all cancer cells in the early stages. Though the reason is currently unknown, it is believed that cancer cells proliferate because they promote excessive “braking” of the immune system and reduce immune activity. Therefore, removing the brake on the immune system and permanently changing its stable balance to where it can fight cancer may be what produces the long-lasting effects of immunotherapy. Weakening the braking function is effective in treating infectious diseases and cancer, but causes autoimmune diseases as adverse reactions.

With these outcomes from treating cancer with anti-PD-1 antibody, at present the treatment has been approved in Japan, the United States, and Europe for indications such as refractory non-small cell lung cancer and refractory renal cancer, making it possible to save the lives of many cancer patients (Fig. 36). It is a great joy for me as a medical researcher to see this day come.

I believe that anti-PD-1 antibody therapy will become the first-line option for treating all cancers in the near future (Fig. 37). This is because clinical trials in melanoma have shown that the treatment is more effective in the early stages of disease. Besides, chemotherapy, radiotherapy, and surgery all weaken the body's immune activity. It is also known that immunotherapy produces fewer adverse reactions than any other treatment and yields long-term effects with only about 6 months of treatment.

This treatment does present some challenges at present. The first is that, in principle, the anti-PD-1 antibody Opdivo does not cure all types of cancer in all patients. There are clear successes and failures. Further research will be necessary to determine



が備わっており、全ての変異細胞を見つけ出し、殺すことができるので、再発が少なく長く効くのです。

そもそも免疫系がしっかり監視していればがん細胞は初期の段階で全て排除されるはずです。理由は不明ですが、がん細胞が免疫のブレーキを過剰に効かせて、免疫力が低下した状態になったことで増殖したとされています。そこでブレーキをはずしてがん治療のできる方向に免疫系の安定したバランスを恒常的に変えてやることにより長く効果が持続するのではないかと考えられます。ブレーキが弱いと感染症の治療やがん治療に有効ですが同時に自己免疫病の発症という副作用があります。

このようなPD-1抗体によるがん治療の成果で現在日本、米国、欧州でメラノーマ、難治性非小細胞性肺癌、難治性腎がんなどへの承認が下り、多くのがん患者の命が救える状態となりました(Fig. 36)。このような日が来たのは医学研究者として正に無上の喜びであります。

私は将来、PD-1抗体治療が全てのがん治療の第一選択肢になるのではないかと考えております(Fig. 37)。その理由は、初期に使う方が効果が大きいとメラノーマの治験ですでに判明しております。また、化学療法、放射線、外科手術はいずれも身体の免疫力を弱めることになります。また、免疫治療は他と比べて副作用は少なく、半年ほどの短期間投与で長期にわたる効果を得られることも知られております。

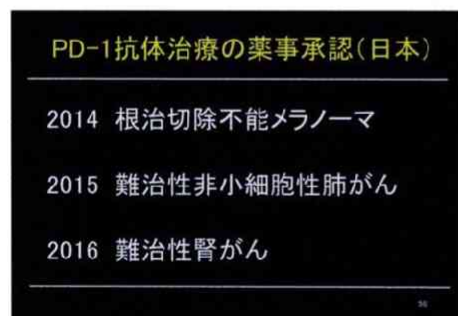


Fig. 36

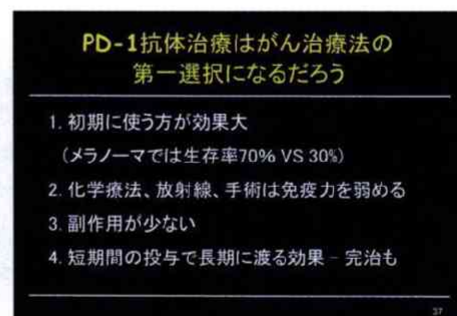


Fig. 37

この治療の当面の課題をまとめてみますと、まず原理的にオプジーボ、PD-1抗体で全てのがん腫で全ての人のがんが治るわけではありません。明らかに有効例と無効例があります。これを投与前あるいは直後に判定できないか、また、その有効率の向上ができないか、を引き続き研究していく必要があります(Fig. 38)。また、がん治療の臨床現場においては多くのがん専門医が免疫治療に十分な知識と経験がありませ

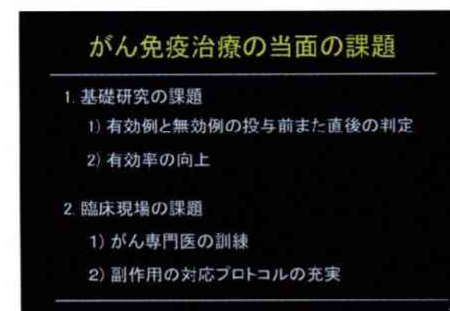


Fig. 38

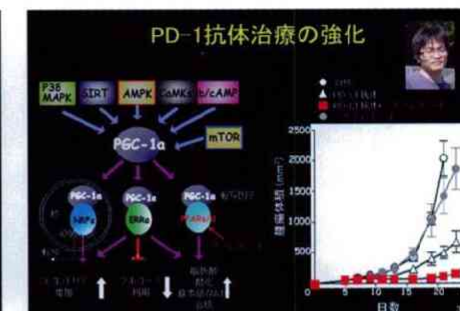


Fig. 39

whether it is possible to predict response before treatment or assess response immediately after treatment, as well as whether response rates can be improved (Fig. 38). Another challenge is that many practicing oncologists have insufficient knowledge of immunotherapy or experience using it and will need to be trained. In particular, they will need to be thoroughly versed in protocols for promptly detecting and responding to adverse reactions.

To that end, my colleagues and I are continuing our research to strengthen anti-PD-1 antibody therapy (Fig. 39). We recently discovered a more potent method in mice. When T cells proliferate and attack cancer cells, mitochondria grow larger and core enzymes involved in energy metabolism such as AMPK and mTOR are activated. Dr. Kenji Chamoto and his team found that treatment with the low molecular weight compound bezafibrate, which activates the downstream transcription factor PGC-1α, produces a tumor-suppressing effect many times more potent than treatment with anti-PD-L1 antibody alone.

This effect occurs because frequent division of activated T cells once every 6 hours requires a large amount of energy. In other words, activation of mitochondria becomes the rate-limiting step. The action of activated oxygen, energy sensors, AMPK, mTOR, and PGC-1α accelerates T cell proliferation.

This new development brought several things to light. First, inhibition of PD-1 activates the mitochondria of tumor-responsive T cells. Next, the therapeutic effect against cancer increases remarkably when this effect is enhanced. Therefore, it will be necessary to select the best compounds and attempt combination therapy in humans as well. Once that happens, I think that cancer immunotherapy will advance much further, as methods become more effective and the decreased antibody dose makes treatment more economical.



るので訓練をすることが必要であります。とくに早めに副作用を発見し対応できるようプロトコルを充実させる必要があります。

この目標に向かって私たちはPD-1 抗体治療法を強化する研究を続けております (Fig. 39)。最近マウスを使ってより強力な方法を発見しました。T細胞が増殖してがん細胞を攻撃するときにはミトコンドリアが大きくなり、エネルギー代謝の中核となるAMPKやmTORという酵素が活性化されます。この下流にある転写因子PGC-1 $\alpha$ を活性化する低分子化合物ベザフィブレートを使うとPD-L1抗体単独よりも数倍強い腫瘍抑制効果が現れることを茶本健司君が見出しました。

このような併用効果が生じるのは、T細胞が活性化されると6時間に1度という高頻度の分裂を繰り返すため、大量のエネルギーを必要とするからです。つまりミトコンドリアの活性化が律速段階になるからです。活性化酸素、エネルギーセンサ、AMPK、mTOR、PGC1- $\alpha$ などの活性によりT細胞にアクセルが入ります。

このような新展開により明らかになったことは、まずPD-1 阻害治療法は、がん反応性T細胞のミトコンドリアを活性化する。次にこれを増強すると、がん治療効果が格段に上がる。従って、最も良い化合物を選び、併用治療をヒトでも試していく必要がある。その結果がん免疫治療法がより効果的になり、また抗体用量を下げられるので経済的となり一層推進されるようになると思います。

2016年3月に発表された『New Scientist』という英国の科学雑誌の記者が「我々は今、がんにおけるペニシリンの発見ともいうべき時期にいる」と述べています (Fig. 40)。ペニシリンは全ての感染症を治したわけではないが、それに続く一連の抗生物質の発見によって医学に大変革をもたらした、以前は致死的であった感染症がほとんど消滅したということにたとえたものであります。

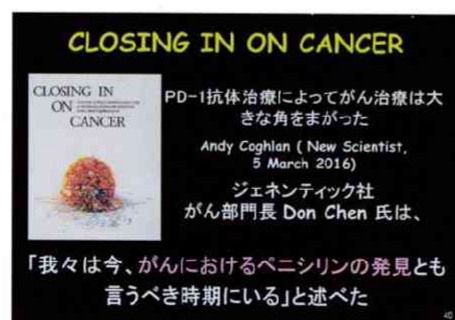


Fig. 40

The author of an article in the British scientific journal New Scientist published in March 2016 states that “we’re at the point where we’ve discovered the cancer equivalent of penicillin” (Fig. 40). He uses this analogy because although penicillin did not cure all infectious diseases, the series of discoveries of antibiotics that followed after that brought about a major revolution in medicine, almost eliminating once-fatal infectious diseases.

I have four predictions about the future of cancer treatment. The first is that immunotherapy centered on inhibition of PD-1 will become more effective. The second is that it will be basically possible to treat all cancers with the power of the immune system (in the United States, there is a very large-scale program called Cancer MoonShot 2020 aimed to enhance cancer immunotherapy). The third is that we may continue to see the current trend of tumors not disappearing completely but still not growing larger. Finally, the fourth is that a time will come when cancer will be considered a single chronic disease and will be able to be controlled as such.

Vertebrates’ development of acquired immunity in the evolution of their fight with pathogens yielded a dramatic increase in lifespan. It has been proved that infinitely proliferating cancer cells become recognized as foreign invaders as they accumulate mutations, and then become a target of acquired immunity. This has brought unforeseen serendipities to humanity in the course of evolution (Fig. 41).

Acquired immunity helped humanity to overcome infectious diseases, and, coupled with the discovery of antibiotics, allowed us to completely escape the threat of infectious diseases. We may be able to defeat cancer with PD-1 inhibition through immunotherapy in the twenty-first century. Humanity should put our serendipities to use and contribute to the sustained development of the world (Fig. 42).

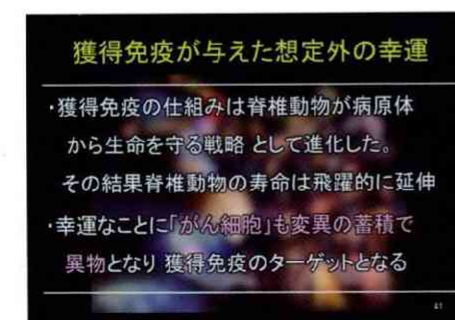


Fig. 41



Fig. 42



がん治療の未来について私の予想は第一にPD-1阻害を中心とした免疫治療の有効性が高まる、第二に全てのがんは免疫力で基本的に治療できる(米国ではCancer MoonShot 2020という非常に大きなプロジェクトによってがん免疫治療を強化する動きがあります)、第三にがん腫が完全に消失しなくても大きくならない状態が続くこともある、第四にがんは一種の慢性疾患となりコントロールできる時代になるでしょう。

脊椎動物は病原体との戦いの進化で獲得免疫を手に入れた結果、寿命を飛躍的に延ばしました。無限の増殖を続けるがん細胞は変異の蓄積で異物となり、獲得免疫のターゲットとなるということが実証されました。これは進化の過程では想定外の幸運を人類にもたらしました(Fig. 41)。

人類は獲得免疫のおかげで感染症を克服し、抗生物質との発見と相まって完全に感染症の恐怖から逃れました。21世紀、PD-1の阻害による免疫治療でがんの克服の可能性が出て参りました。人類はこの幸運を生かし、地球の永続的発展に貢献すべきです。(Fig. 42)

まとめさせていただきますと、まず、多くの幸運が重なり獲得免疫の謎の一端を解明しました。抗体記憶を生む酵素AIDを発見し、その分子機構を解明しました。免疫のブレーキ PD-1分子を発見し、PD-1阻害によりがん治療ができることを証明しました。さらに、獲得免疫が発揮する思いがけない幸運で人類はがんを克服できるだろうという展望を述べました。

この研究は、長期間ここに記載した国内外の多くの機関からの援助によって支えられました。厚く御礼申し上げます。

私の研究は長い間の共同研究者、スタッフ、学生、ポスドク、テクニカルスタッフ、秘書などおよそ600名に亘る研究者の協力なくしてはなし得なかったことです。また、教室以外にも、スウェーデン、米国、フランス等の多くの研究者との共同研究も大きな助けになっております。ここに深く御礼申し上げます。

また、私の勝手気ままな研究生活を支えてくれた家内、子供達、いずれも暖かくサポートしてくれたことに心から感謝を申し上げます。

ご静聴ありがとうございました。

To summarize, scientists were able to solve part of the puzzle of acquired immunity due to a great series of serendipities. The AID enzyme that creates antibody memory was discovered and its molecular structure was determined. The PD-1 molecule, which acts as a brake on immunity, was discovered, and treatment of cancer by inhibiting PD-1 was proved to be possible. Finally, my outlook on the future is that these unbelievable serendipities of acquired immunity may enable humanity to defeat cancer.

The many Japanese and international institutions listed here have supported this research for many years. I am very grateful to them.

My research would not have been possible without the assistance of about 600 research collaborators, staff members, students, postdocs, technical staff, and administrative assistants. Collaborative work with many researchers outside my department, from countries such as Sweden, the United States, and France, has also been of great assistance. I would like to take this opportunity to thank these collaborators.

I would also like to thank my wife and children for kindly supporting my self-indulgent academic lifestyle.

This concludes my presentation. Thank you for your attention.



稲盛財団2016——第32回京都賞と助成金

発行 2017年8月31日

制作 公益財団法人 稲盛財団

〒600-8411 京都市下京区烏丸通四条下ル水銀屋町620番地

Phone: 075-353-7272 Fax: 075-353-7270

E-mail [press@inamori-for.jp](mailto:press@inamori-for.jp) URL <http://www.inamori-for.jp/>

**ISBN978-4-900663-32-9 C0000**