

免疫チェックポイント制御とがん免疫治療

鶴殿平一郎

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 免疫学

キーワード：がんワクチン, CTL, 免疫チェックポイント, T細胞疲弊

Cancer immunotherapy with blocking of immune checkpoints

Heiichiro Udono

Department of Immunology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

要 旨

がんワクチンによる免疫治療では、如何にCD8T細胞を感作（プライミング）しその数を増やすか（免疫増強）という点に多大の努力が払われて来た。樹状細胞への抗原デリバリーと抗原プロセッシング/提示、Toll様受容体などの刺激、即ち自然免疫系の活性化の併用などはそれに該当する。しかし十分に活性化されたT細胞をもってしても癌の拒絶は容易ではない。それには癌組織という特殊な環境が禍している。T細胞は癌塊内に入り込み莫大な数の癌細胞と遭遇する。癌組織内での繰り返す抗原認識の過程でT細胞は疲弊し、次第に本来あるべき機能を喪失していく。この疲弊（exhaustion）と呼ばれる現象は、T細胞に発現する複数の免疫抑制性分子—免疫チェックポイント分子—と腫瘍に発現するそのリガンドの結合によってもたらされる。代表的なチェックポイント分子の機能を抑制し、エフェクターT細胞が疲弊することなくそ

の機能を長く維持できれば、これからのがん免疫治療に飛躍的な進展がみられるかもしれない。

はじめに

1991年、T. Boonらによりヒトがん抗原ペプチドの発見・同定が技術的に可能であることが示され¹⁾、その後この最小の抗原単位、即ちMHCクラスI結合性ペプチド（8～10個のアミノ酸）を究極のがんワクチンとして応用するという治療の実現を当時の免疫学者と臨床家は夢見た。数百を超えるがん抗原ペプチドが同定され、その多くはがん患者に投与され臨床効果がテストされた。しかしながら結果は期待はずれであった^{2,3)}。何故ペプチドワクチンの効果が限定的であるのか、その理由は以前より指摘されていた。一つの理由は、MHCクラスI結合性ペプチドを外から投与した場合、プロフェッショナル抗原提示細胞、即ち樹状細胞以外の細胞膜表面にも直接結合するため、ペプチド特異的CD8T細胞を逆に抗原特異的に免疫不応答な細胞（アナジー細胞）に陥れていることが示唆されている。この問題は少し長いペプチド（20～30個のアミノ酸）に変えて、樹状細胞による取り込みと抗原プロセッシング過程を強制するなどの方策によって回避さ

平成24年12月受理

〒700-8558 岡山市北区鹿田町2-5-1

電話：086-235-7187 FAX：086-235-7193

E-mail：udono@cc.okayama-u.ac.jp

—◆プロフィール◆—



昭和60年 長崎大学医学部医学科卒業
 昭和60年 長崎大学医学部 第二内科 研修医
 平成2年 長崎大学大学院（腫瘍医学）修了
 平成3年 ニューヨーク・マウントサイナイ医科学研究所 留学
 平成5年 岡山大学医学部 助手（生体防御医学）
 平成10年 長崎大学大学院医学研究科 講師（医動物学）
 平成11年 同 助教授
 平成15年 （独）理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター
 免疫シャペロン研究チーム チーム・リーダー
 平成23年 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 腫瘍制御学講座免疫学分野 教授

熱ショック蛋白質が癌の拒絶抗原になりうること、そのメカニズムについて研究。さらに熱ショック蛋白質と免疫の関係について研究、とりわけ抗原提示との関わりに興味をもつ。平成23年、岡山大学に赴任してから癌の免疫学的治療のために何が必要なのか、トランスレーショナル研究も含めて推進中。

れる。だがこの問題を克服したとしても、活性化された腫瘍特異的T細胞が何らかの理由で十分に機能を発揮できない、腫瘍免疫にとっては深刻な問題が存在することが次第に明らかになってきた。

そもそもヒトの免疫系には、胸腺における自己応答性T細胞の排除（負の選択）に始まり、末梢では制御性T細胞（regulatory T cells；Treg.）や抑制性マクロファージによる免疫抑制に加え、T細胞自体の幾重にも重なる自己収束機能、即ち自律的アポトーシス誘導機構が存在する。これらが総掛かりで過剰な免疫反応を抑制し、決して自己を攻撃しない安全システムを構築している。従って、本来は自己細胞であった癌細胞・組織への免疫反応時には、とりわけ強固な抑制機構が発動する。慢性のウイルス感染症、癌塊による持続的な抗原刺激はCD8T細胞を疲弊させ次第にそのサイトカイン産生能を奪う。これはT細胞の免疫寛容を誘導するための必然的な成り行きであるが、これを可能にするT細胞上の分子群はチェックポイント分子と呼ばれる。このチェックポイント分子から発生する抑制シグナルが実は問題であり、これを如何に解除して癌に対する初期の免疫応答を蘇らせることができるのが今問われている。本総説では、現時点における免疫チェックポイント分子を説明し、癌免疫療法の方向性を解説する。

T細胞抗原認識に伴う刺激性と抑制性副分子

T細胞受容体（T cell antigen receptor：TCR）は抗原提示細胞（antigen presenting cell：APC）に発現したMHCクラスIないしMHCクラスIIに提示された抗原ペプチドを認識するが、同時に数多くの副分子（accessory molecules）と呼ばれる分子群がAPC上のリガンドと会合することが知られている。副分子は数多くあり、刺激性と抑制性のシグナルを入れるものに分類される。どちらのシグナルが優勢になるかは抗原認識の強さ、抗原認識後の時間経過、サイトカインなどのT細胞微小環境、抗原の存在時間の長さ、などに影響を受ける。抑制性副分子とそのリガンドが現在続々と同定されており、繰り返しになるがこれらが腫瘍に対する免疫応答の強さを大きく制御している。

これまで癌免疫療法については、如何にT細胞プライミングを行うかについてワクチン形態の試行錯誤（交差抗原提示を可能にするものを探すなど）と自然免疫系の活性化のためのアジュバント探しに多くの努

力が注がれてきた。様々な努力の末、がんワクチンによって確かに循環血液中に抗原特異的細胞傷害性T細胞が誘導されることが明らかになったが、そのことと患者の生存率とは必ずしも一致しない。このことが多くの研究者を悩ませた。循環血液中に存在するT細胞機能はこれまでに丹念に調べられて来た一方、腫瘍塊局所におけるT細胞の状態が如何なるものかということが十分に解明されてこなかった。局所において抑制性分子とそのリガンドの存在がどれほどT細胞機能を無力化しているか、それを回避ないし解除するにはどうしたらよいのか、という問題を克服しない限り如何なる免疫療法も十分な力を発揮できない。抑制性分子（immune inhibitory molecules）、即ち免疫チェックポイント（immune checkpoints）分子の制御が腫瘍に対する免疫応答に極めて重要である。そのためにはT細胞活性化に伴い必然的に発現してくる抑制性分子群とそのリガンドの種類と性状を十分に知る必要がある。

Cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA4) 経路

T細胞はTCRによるAPC上の抗原認識（第一シグナル）と同時に、CD28分子とAPC上のCD80（B7.1）、CD86（B7.2）が結合すること（第二シグナル）により初めて活性化される。しかしやや遅れてCTLA4分子が出現し自らがCD80、CD86分子と結合し（結合力がCD28よりも強い）CD28からのシグナルを奪い、さらにSHP2ホスファターゼを引き込みTCR下流に存在するリン酸残基を外して活性化から不活性化の状態にもっていく。抗原認識の際に正のシグナルが強く入れればCTLA4がそれだけ多く細胞膜に出現し、今度は逆に負のシグナルを強く入れようと働く。CTLA4は細胞内腔に常時保存されており、T細胞の活性化の度合いに従って細胞膜表面へ押し出されてくるわけである。このようにしてT細胞が過剰反応しないようにバランスをとっている。このようなイベントはT細胞のプライミングのときに起こることであり、従ってリンパ節の中での応答である。CTLA4欠損マウスでは多くの移植癌細胞が拒絶され、かつ多くの臓器で自己免疫様の破壊が見られることより、同分子は強力な負のシグナル産生分子として最初に発見された^{4,5)}。この事実からCTLA4経路をブロックする抗体は免疫を活性化し、強力な抗腫瘍免疫を誘導すると長らく考えられてきた。

抗 CTLA4 抗体による CTLA4 抑制経路のブロック

CTLA4 分子は活性化 T 細胞及び Treg. の細胞膜表面に発現する。T 細胞上の CTLA4 分子は機能抑制性だが、Treg. のそれは機能促進を誘導し、その結果免疫抑制をもたらす。従って CTLA4 経路のブロックとは T 細胞の活性化と Treg. による免疫抑制の解除という 2 つの因子が関与することになる。CTLA4 経路のブロックを目論んだヒト化抗体 tremelimumab と ipilimumab が作成された。両抗体とも臨床的に効果が認められるのはメラノーマ患者の 10% 程であるが、免疫活性化に伴う各臓器の障害は 25~30% にのぼる⁶⁻⁸⁾。Tremelimumab に関しては、Phase III スタディにおいて残念ながら生存延長が認められなかったため現在は行われていない。一方、ipilimumab は期待できる効果が認められている。がんペプチド免疫 (gp100 を標的抗原) の併用の有無に関係なく転移性メラノーマ患者の生存期間が ipilimumab 単独で 3.5 ヶ月延長し⁹⁾、FDA は進行性メラノーマの治療薬として 2010 年にこれを認可した。Ipilimumab 単独投与患者の 2 年以上の生存率は 18% であり、これは gp100 がんペプチドワクチンの 5% に比べ良好な結果である⁹⁾。15mg/kg を 3 ヶ月毎に 4 回投与して 3 万ドルほどの費用がかかるようだ。この治療では皮膚と大腸に副作用が出るが、重篤な症状に至るのは 10~15% であり、ステロイドや TNF 阻害薬でうまくコントロールできるとされる。分子標的薬の効果は投与後数週間以内に現れるが、ipilimumab などの免疫チェックポイントに関係する治療は投与後半年ほどして効果が出る場合の多いことが特徴である。

Programmed cell death protein 1 (PD1) 経路

PD1 分子も T 細胞の活性化に伴い発現してくる分子であり、同分子が発現されると T 細胞の活性状態に歯止めをかける。その機構は完全には解明されていないが、SHP2 ホスファターゼをリクルートし脱リン酸化により T 細胞機能を抑制する。CTLA4 分子と同様に Treg. にも発現しており、PD1 リガンド (PDL) との結合により Treg. 依存性の免疫抑制をもたらす。PDL には B7-H1 (PDL1) と B7-DC (PDL2) が存在し、とりわけ腫瘍組織では非常に高い発現が認められる。

驚いたことに PDL1 は炎症性サイトカイン、特に IFN γ に反応して腫瘍細胞表面 (正常組織でも) に発

現する。従って腫瘍を取り囲む炎症を伴う微小環境下では浸潤 T 細胞は PD-1/PDL1 会合を通して抑制状態に置かれていることが予想される。また、癌細胞の AKT や STAT3 が恒常的に活性化された状態では、サイトカインとは無関係に PDL1 の発現が促進され、その結果 PD-1/PDL1 会合が進み免疫抑制に至る。CTLA4 はリンパ組織における T 細胞の活性化を制御するのに対し、PD1 は腫瘍などの組織におけるエフェクター T 細胞の機能を制御し、末梢組織における炎症を制御する機構である。腫瘍組織などの場合は長期にわたり慢性的に抗原刺激が入っており、浸潤 T 細胞には非常に高いレベルの PD1 が発現している。このような細胞は疲弊状態 (exhaustion) ないしアナジー状態に置かれている。疲弊状態の T 細胞は抗原刺激が入ってもサイトカインを分泌する能力が低下している。しかしながら、PD1 陽性 CD8T 細胞でも PD1 経路を抗体によりブロックすることで部分的に機能が回復する¹⁰⁾。

抗 PD1 抗体による PD1 抑制経路のブロック

上述の理由から、抗 PD1 抗体により PD1 経路をブロックできれば腫瘍組織内における免疫応答を維持・強化できる可能性がある。実際、PD1, PDL1, PDL2 欠損マウスモデルの実験では抗腫瘍効果が認められる一方、有り難いことに CTLA4 欠損マウスのような副作用は認められていない¹¹⁻¹³⁾。ヒト臨床研究でも同様の事実が報告されている。即ち、抗 PD1 抗体の効果は、CTLA4 に対する抗体と比較して副作用が軽い一方、同等以上の抗腫瘍効果が見られたとされる。大腸がん、肺がん、腎臓がん、メラノーマにおいて腫瘍の完全拒絶を含めた効果が観察された¹⁴⁾。この場合、当然かもしれないが転移腫瘍巣に多くのリンパ球浸潤が認められた。腫瘍への浸潤細胞増加は強い免疫応答が起こっていることを示唆する。抗 PD1 抗体の効果は腫瘍組織での PDL1 発現と相関がある。腫瘍にリガンドである PDL1 の発現がなければ効果は皆無である。一方で 5% 以上の腫瘍に PDL1 の発現があれば何らかの効果がみられるようである。もちろん PDL1 は細胞膜表面に出る必要があり、細胞質に留まっているような腫瘍では効果がない。2 年間に及ぶ抗体投与では、75% の患者で完全寛解を含む何らかの治療効果が見られたという。副作用が軽いため長期にわたる投与が可能であることが抗 PD1 抗体の大きな魅力である。

T cell membrane protein 3 (Tim3) 経路

Tim3 分子も腫瘍組織内や慢性ウイルス感染症などでT細胞表面に発現が誘導され、疲弊マーカーとして最近注目を集めている。PD1 よりも疲弊マーカーとしての特異性は高いようである。Tim3 のリガンドはガレクチン9であり、多くの癌組織、Treg. などから分泌される。ガレクチン9の存在により、Tim3陽性のTh1細胞の機能は抑制される¹⁵⁾。抗Tim3抗体投与により同経路をブロックすれば、腫瘍に対する免疫応答は促進される¹⁶⁾。また、PD1とTim3に対するブロック抗体を併用する事により、単独使用の場合と比較して劇的な効果があることがマウスモデルにて確認されている¹⁷⁻¹⁹⁾。同分子に関する臨床研究はまだ施行されておらず、前臨床研究の段階である。

Lymphocyte activation gene 3 (LAG3) 経路

LAG3はTreg. に非常に強く発現されており、Treg. の免疫抑制作用を促進する分子である。またCD8T細胞にも発現しており、Treg. とは無関係にT細胞機能を抑制する。LAG3のリガンドとしては、唯一MHCクラスII分子が知られている。炎症の場でIFN γ に晒された癌細胞はMHCクラスII分子を一過性に発現する。さらに癌局所に浸潤した樹状細胞、マクロファージは高いレベルのMHCクラスII分子を発現している。これらのMHCクラスII分子とLAG3は会合し、CD8T細胞の機能を抑制する。PD1とLAG3はともにアナジーT細胞と疲弊T細胞にも発現しており、この両者の経路をブロックすることによりウイルスや癌特異的CD8T細胞のアナジー状態が解除される。実際、PD1とLAG3のダブルKOマウスでは、悪性度の高い癌細胞でも拒絶されるだけでなく、単独KOマウスに比較して早い段階で自己免疫様疾患に陥る²⁰⁾。

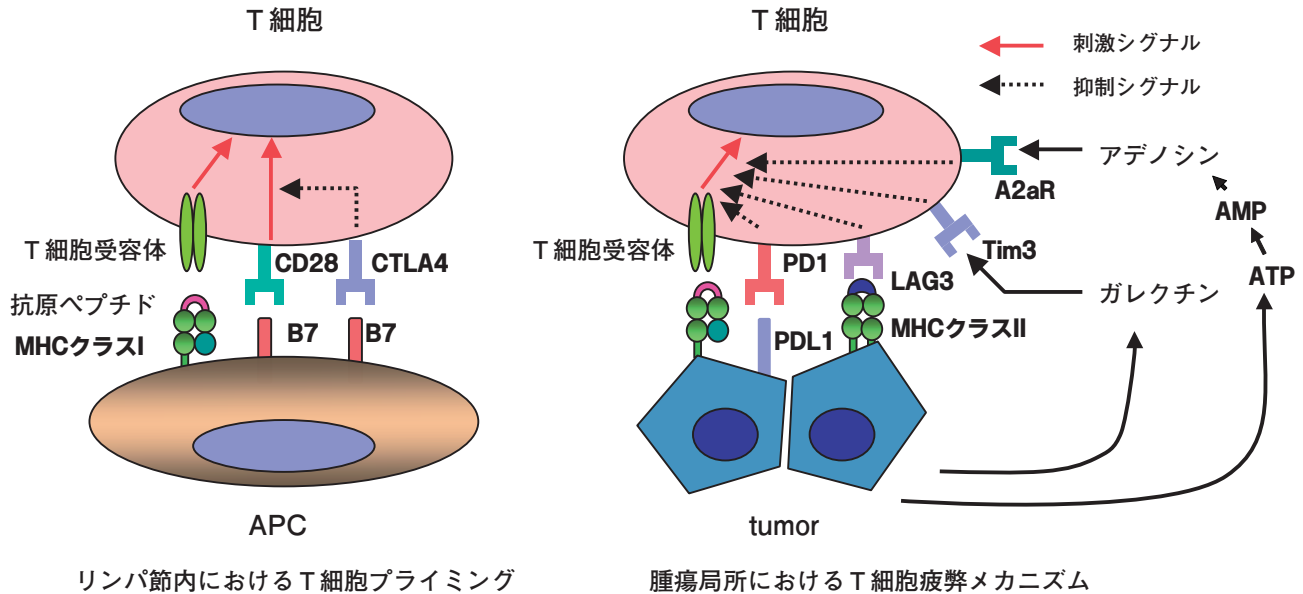
Adenosine A2a receptor (A2aR) 経路

A2aRはアデノシンに対する細胞膜受容体であり、この受容体が欠損すると感染症に対し強烈な炎症を伴うようになる。Treg. はCD39 (NTPDase) を細胞膜上に発現し細胞外のATPをAMPへと変換する。さらにTreg. はCD73 (5'-NT) を発現しており、これはAMPをアデノシンへと変換する。アデノシンはT細胞上のA2aRに結合するとそのT細胞にはTreg.

のマスター転写因子FoxP3が誘導されるようになり、従ってTreg. へと分化する²¹⁾。つまり腫瘍の一部に細胞死が起こればATPを放出し、この経路を用いて腫瘍塊の内側にTreg. 細胞を誘導し免疫応答を抑制することが想定される。また、最近ではTGF- β とIL-6の働きによりTh0からTh17細胞が分化した場合、Treg. と同じようにCD39とCD73の両方を発現するようになり、ATPを分解しながらアデノシン産生に至り免疫を抑制する事が言われている²²⁾。Th17細胞の腫瘍免疫における評価は今ひとつ定まらない。しかしTGF- β の存在下で分化したTh17は癌の増殖を促進し、一方非存在下で分化したTh17は癌の増殖を抑制するようである。双方のTh17細胞はともにIL17を分泌するが、アデノシン産生の有無が決定的な違いを生み出している。A2aRとアデノシンの結合をブロックする抗体又はアデノシン類似物質による阻害剤などでアデノシン産生性Th17細胞とTreg. を抑制することができるはずだが、癌患者での使用はこれまでに施行されていない。

おわりに

免疫チェックポイント分子とそのシグナル解除を中心に現時点におけるがんの免疫療法の方向性を解説した(図1)。先に述べたように、IFN γ は腫瘍免疫発動にとって不可欠のサイトカインであるが、これが腫瘍細胞に作用するとPDL1発現を促し、PD1/PDL1の結合を通してT細胞を疲弊させる。さらにIFN γ は腫瘍細胞その他の正常細胞にも作用しMHCクラスII分子の発現を高める。そしてLAG3/MHCクラスIIの会合はやはりT細胞を疲弊させる。また、折角腫瘍の一部に細胞死を起こし得たとしても、放出されたATPからアデノシン産生に至り結局は免疫抑制に向かう。この辺りが腫瘍免疫の難しさである。チェックポイント分子自体、本来は自己免疫疾患にならないように生体が備えたシステムであり、本来の仕事にただ従事しているに過ぎないが癌の場合には悪玉となる。T細胞に発生する正のシグナルを善、負のシグナルを悪と捉える癌免疫上の概念にはやや違和感を覚える。自己免疫疾患にも陥らず、癌にもならないというのが本来の我々の体のはずである。正・負のシグナルのバランスが大切なのは言うまでもないが、一見対立するように見える分子群の働きを統御している何かが存在しているはずであり、この本質的なものが明らかにされる日



リンパ節内におけるT細胞プライミング

腫瘍局所におけるT細胞疲弊メカニズム

図1 リンパ節内でT細胞は抗原認識を行いプライミングされるが、同時にCTLA4が発現されるようになり、過度の活性化を押さえ込むように働く(図左)。一方、エフェクター細胞となったT細胞は腫瘍組織内に入ると、PD1、LAG3、Tim3、A2aRなどの様々な抑制性分子を発現するようになる(図右)。これらは腫瘍細胞の細胞膜表面に発現されるリガンドあるいは分泌分子と会合し、その結果抑制シグナルがT細胞に生まれ、機能疲弊が始まり遂には細胞死に至る。これらの抑制経路を如何に解除するのが現在問われている。

を待ち望む次第である。いずれにしても、がんワクチンによりまずT細胞をプライミングし、同時にチェックポイントの解除とTreg、や今回は述べなかったがMDSCなどの細胞機能を抑制する。できれば記憶T細胞の数を増やすような処置(CSK3β, mTOR阻害など)²³⁻²⁵⁾も併用しながら、今後のがん免疫療法は改良を加えられていくと考えられる。

文 献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, Knuth A, Boon T : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* (1991) 254, 1643-1647.
- 2) Rosenberg SA : Shedding light on immunotherapy for cancer. *N Engl J Med* (2004) 350, 1461-1463.
- 3) Rosenberg SA, Dudley ME, Restifo NP : Cancer immunotherapy. *N Engl J Med* (2008) 359, 1072.
- 4) Waterhouse P, Penninger JM, Timms E, Wakeham A, Shahinian A, Lee KP, Thompson CB, Griesser H, Mak TW : Lymphoproliferative disorders with early lethality in mice deficient in Ctla-4. *Science* (1995) 270, 985-988.
- 5) Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, Lynch WP, Bluestone JA, Sharpe AH : Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* (1995) 3, 541-547.

- 6) Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, Hwu P, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, Restifo NP, Haworth LR, Seipp CA, Freezer LJ, Morton KE, Mavroukakis SA, et al. : Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* (2003) 100, 8372-8377.
- 7) Ribas A, Camacho LH, Lopez-Berestein G, Pavlov D, Bulanhagui CA, Millham R, Comin-Anduix B, Reuben JM, Seja E, Parker CA, Sharma A, Glaspy JA, et al. : Antitumor activity in melanoma and anti-self responses in a phase I trial with the anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody CP-675, 206. *J Clin Oncol* (2005) 23, 8968-8977.
- 8) Beck KE, Blansfield JA, Tran KQ, Feldman AL, Hughes MS, Royal RE, Kammula US, Topalian SL, Sherry RM, Kleiner D, Quezado M, Lowy I, et al. : Enterocolitis in patients with cancer after antibody blockade of cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4. *J Clin Oncol* (2006) 24, 2283-2289.
- 9) Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, Gonzalez R, Robert C, Schadendorf D, Hassel JC, Akerley W, van den Eertwegh AJ, et al. : Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* (2010) 363, 711-723.
- 10) Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, Zhu B, Allison JP, Sharpe AH, Freeman GJ, Ahmed R : Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature* (2006) 439, 682-687.

- 11) Dong H, Strome SE, Salomao DR, Tamura H, Hirano F, Flies DB, Roche PC, Lu J, Zhu G, Tamada K, Lennon VA, Celis E, et al. : Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis : a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* (2002) 8, 793–800.
- 12) Blank C, Brown I, Peterson AC, Spiotto M, Iwai Y, Honjo T, Gajewski TF : PD-L1/B7H-1 inhibits the effector phase of tumor rejection by T cell receptor (TCR) transgenic CD8⁺ T cells. *Cancer Res* (2004) 64, 1140–1145.
- 13) Iwai Y, Ishida M, Tanaka Y, Okazaki T, Honjo T, Minato N : Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* (2002) 99, 12293–12297.
- 14) Brahmer JR, Drake CG, Wollner I, Powderly JD, Picus J, Sharfman WH, Stankevich E, Pons A, Salay TM, McMiller TL, Gilson MM, Wang C, et al. : Phase I study of single-agent anti-programmed death-1 (MDX-1106) in refractory solid tumors : safety, clinical activity, pharmacodynamics, and immunologic correlates. *J Clin Oncol* (2010) 28, 3167–3175.
- 15) Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, Zheng XX, Strom TB, Kuchroo VK : The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* (2005) 6, 1245–1252.
- 16) Ngiow SF, von Scheidt B, Akiba H, Yagita H, Teng MW, Smyth MJ : Anti-TIM3 antibody promotes T cell IFN- γ -mediated antitumor immunity and suppresses established tumors. *Cancer Res* (2011) 71, 3540–3551.
- 17) Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, Blazar BR, Kuchroo VK, Anderson AC : Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity. *J Exp Med* (2010) 207, 2187–2194.
- 18) Fourcade J, Sun Z, Benallaoua M, Guillaume P, Luescher IF, Sander C, Kirkwood JM, Kuchroo V, Zarour HM : Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8⁺ T cell dysfunction in melanoma patients. *J Exp Med* (2010) 207, 2175–2186.
- 19) Baitsch L, Legat A, Barba L, Fuertes Marraco SA, Rivals JP, Baumgaertner P, Christiansen-Jucht C, Bouzourene H, Rimoldi D, Pircher H, Rufer N, Matter M, et al. : Extended co-expression of inhibitory receptors by human CD8 T-cells depending on differentiation, antigen-specificity and anatomical localization. *PLoS One* (2012) 7, e30852.
- 20) Woo SR, Turnis ME, Goldberg MV, Bankoti J, Selby M, Nirschl CJ, Bettini ML, Gravano DM, Vogel P, Liu CL, Tangsombatvisit S, Grosso JF, et al. : Immune inhibitory molecules LAG-3 and PD-1 synergistically regulate T-cell function to promote tumoral immune escape. *Cancer Res* (2012) 72, 917–927.
- 21) Zarek PE, Huang CT, Lutz ER, Kowalski J, Horton MR, Linden J, Drake CG, Powell JD : A2A receptor signaling promotes peripheral tolerance by inducing T-cell anergy and the generation of adaptive regulatory T cells. *Blood* (2008) 111, 251–259.
- 22) Martin F, Apetoh L, Ghiringhelli F : Controversies on the role of Th17 in cancer : a TGF- β -dependent immunosuppressive activity? *Trends Mol Med* (2012) 18, 742–749.
- 23) Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, Pos Z, Paulos CM, Quigley MF, Almeida JR, Gostick E, Yu Z, Carpenito C, Wang E, Douek DC, et al. : A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med* (2011) 17, 1290–1297.
- 24) Araki K, Turner AP, Shaffer VO, Gangappa S, Keller SA, Bachmann MF, Larsen CP, Ahmed R : mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. *Nature* (2009) 460, 108–112.
- 25) Wang Y, Wang XY, Subjeck JR, Shrikant PA, Kim HL : Temsirolimus, an mTOR inhibitor, enhances anti-tumour effects of heat shock protein cancer vaccines. *Br J Cancer* (2011) 104, 643–652.