

令和4年度 学内研究助成金 研究報告書

研究種目	<input type="checkbox"/> 奨励研究助成金	<input type="checkbox"/> 研究成果刊行助成金
	<input checked="" type="checkbox"/> 21世紀研究開発奨励金 (共同研究助成金)	<input type="checkbox"/> 国際共同研究推進助成金
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
研究課題名	腫瘍実質内高浸潤型 CD8T 細胞分化 機構の解明	
研究者所属・氏名	研究代表者：医学部免疫学・高村 史記 共同研究者：医学部産科婦人科学・松村 謙臣 共同研究者：医学部産科婦人科学・宮川 知保 共同研究者：医学部産科婦人科学・村上 孝祐 共同研究者：医学部病理学・井上 敬夫	

1. 研究目的・内容

粘膜上皮に定着する滞在型メモリーT細胞 (T_{RM}) と類似した性質を持つ T_{RM} 様腫瘍内 CD8T 細胞 (T_{RM}-like CD8 TIL) は腫瘍実質深部へ効率よく浸潤し、高い抗腫瘍活性を持つ。腫瘍内に T_{RM}-like CD8 TIL を多く含む患者は比較的予後が良好で免疫チェックポイント阻害剤などの治療も良く奏功するが、腫瘍内にて T_{RM}-like CD8 TIL が分化しない腫瘍も多く存在し、その分化機構は未だ不明である。申請者 (免疫学) は腫瘍内科学、病理学との共同研究にて世界で初めて腫瘍内における T_{RM}-like CD8 TIL 分化部位を特定し、同時に複数種の分化部位が存在することも発見した。本研究では、申請者が特定した種々の分化部位における空間トランスクリプトーム解析により各領域特有の遺伝子発現を解析すると共に、産婦人科学が保有する各分化部位形成を模倣するマウス腫瘍モデルを用いて免疫学的解析を行うことで、腫瘍内における T_{RM}-like CD8 TIL 分化機構を分子レベルで解明し、T_{RM}-like CD8 TIL 誘導を目的とした新規治療法開発の基盤を構築する。

2. 研究経過及び成果

本大学附属病院にて2014年以降、手術により切除・採取した頭頸部がん (約30症例) 及び卵巣がん (漿液性腺癌) (約40症例) のホルマリン固定パラフィン包埋組織を用い、CD8及びCD103抗原に対する免疫染色にてCD8T細胞と (CD8+) と T_{RM}-like CD8 TIL (CD8+CD103+) の局在をスクリーニングし、T_{RM}-like CD8 TIL の分化部位を特定した。該当部位に対して、Nanostring社の空間トランスクリプトーム GeoMx を実施した。GeoMx では我々が発見した T_{RM}-like CD8 TIL の分化部位 differentiation site: DS と remodeling site: RS、それ以外の間質、更に腫瘍内の CD8T 細胞、もしくは T_{RM}-like CD8 TIL を選別し、網羅的な遺伝子発現解析を実施した。また、同部位に高密度に存在し、且つ DS、RS では形態学的に異なる性質をもつマクロファージが CD8T 細胞に分化誘導刺激を供給していることが示唆されたため、CD8T 細胞同様、マクロファージに関しても GeoMx 解析を行った。これらの受託解析はメーカー n の都合により実施時期が遅れ、まだ一部しか解析が進んでおらず、今後、詳細な解析を実施する予定である。ただ、DS 及び RS の CD8T 細胞では B 細胞関連遺伝子が、腫瘍内部の CD8T 細胞では上皮系細胞遺伝子が検出されており、一部、隣接細胞遺伝子の混入が予測される。今後は解析可能な遺伝子数は少ないものの、1細胞レベルの解像度をもつ CosMx を用いた解析も検討する。

また、DS のマウスモデルとして期待される卵巣がんマウスモデルを用い、原発の卵巣がん、血性腹水、更には腹膜播種（このがん組織内に T_{RM-like} CD8 TIL が誘導される）から分離した CD8T 細胞の TCR シーケンスを実施し、腹膜播種にて誘導される T_{RM-like} CD8 TIL のルーツを辿った。まずは各組織のバルク TCR シーケンスにて、卵巣、腹水、腹膜播種間にてドミナントクローンが一致する個体、もしくは転移巣では全く異なるクローンが増殖している個体が存在することが判明し、腹膜播種巣に浸潤する T 細胞は必ずしも卵巣原発がん内 T 細胞と同一のクローンとは限らないということが判明した。また、腹水中の T 細胞は卵巣及び腹膜播種に共通するクローンを効率に含んでいることも判明した。腹水中の抗原感作 CD8T 細胞の多くが予想に反して活性化マーカーである PD-1 を高発現していたことより、卵巣、腹膜播種間で共通のクローンの大部分は腹水中にも浸潤するということがわかった。更に、腹膜播種内に分化誘導される CD103 陽性 T_{RM-like} CD8 TIL と同一クローンの分布を検討すべく、シングルセル TCR シーケンスを実施した。こちらは現在解析を進めているところである。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

T_{RM-like} TIL は主にヒト腫瘍内にて検出されるが、これを効果的に誘導するマウスモデルが存在しない。我々は T_{RM-like} TIL を誘導可能な卵巣がんマウスモデルの解析に着手し、そのルーツに迫ろうとしている。今後、標的因子が同定された際は、胚性血管内皮前駆細胞を用いて該当因子を腫瘍内にて発現誘導することで（血管新生部位、すなわち腫瘍内に目的抗原発現を誘導可能）、腫瘍内における T_{RM-like} TIL 分化を誘導し、抗腫瘍免疫応答の向上が図れるかどうかを検討する。

4. 成果の発表等

発表機関名	種類(著書・雑誌・口頭)	発表年月日(予定を含む)
2022年 日本免疫学会総会	口頭(シンポジウム)	2022年12月8日