

令和3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
研 究 課 題 名	腫瘍に対する新規免疫チェックポイント阻害治療効果増強法の開発	
研究者所属・氏名	研究代表者： 医学部免疫学教室・高村 史記 共同研究者： 医学部腫瘍内科学教室・米坂 仁雄 共同研究者： 医学部腫瘍内科学教室・川上 尚人 共同研究者： 医学部腫瘍内科学教室・林 秀敏 共同研究者： 医学部腫瘍内科学教室・高濱 隆幸 共同研究者： 医学部腫瘍内科学教室・中川 和彦 共同研究者： 医学部腫瘍内科学教室・井上 敬夫	

1. 研究目的・内容

がん抗原特異的 CD8T 細胞はがん細胞を直接認識・破壊する抗腫瘍免疫の最重要要素である。しかしながら、間質に浸潤した CD8T 細胞が腫瘍実質内に浸潤できないケースも多く、たとえ腫瘍実質内に浸潤しても過剰な抗原刺激に伴い疲弊、即ち、高発現する PD-1、Tim-3 などの免疫チェックポイント因子を介した抑制性シグナルによりその機能が制御されてしまう。免疫チェックポイント阻害 (ICI) 療法による疲弊 CD8T 細胞の賦活化は抗腫瘍免疫応答を増強するが、実際に機能を回復する腫瘍組織浸潤 CD8T リンパ球 (CD8 TIL) はごく一部であり、大半の CD8 TIL は極度の疲弊を強い回復不能である。従って、腫瘍内に効率よく浸潤し、且つ、ICI 治療高反応型の CD8 TIL サブセットの分化機構解明 (即ち誘導法の開発) が急務である。

近年、顕著な治療反応性と自己複製能を備える TCF1⁺ CD8 TIL が同定され、疲弊程度の浅い疲弊前駆細胞 (precursor exhausted) であることが判明した。一方、tight-junction 結合インテグリン CD103 を発現するなど**滞在型 (レジデント) メモリーCD8 T 細胞 (CD8 T_{RM})** と極めて類似した特徴を持つ細胞集団、**T_{RM} 様腫瘍内リンパ球 (T_{RM}-like TIL)** の存在がヒト腫瘍で確認された。T_{RM}-like TIL は高い抗腫瘍活性を保持し、その頻度が ICI 治療反応性や生存率向上と正の相関を持つことより、TCF1⁺ CD8 TIL とは異なる治療高反応型サブセットである可能性が示唆されている。しかしながら、無治療の担がんマウスモデルでは CD103 陽性の T_{RM}-like TIL が効率良く誘導されず、その誘導刺激の本態も不明であることから、その分化機構及び性状解析は進んでいない。

本研究では本学腫瘍内科学教室との共同研究にて得られたヒト頭頸部がん検体を用いて、T_{RM}-like TIL の分化機構を解明し、T_{RM}-like TIL 誘導による ICI 効果の向上を目的とした新規免疫療法開発の基礎研究を行う。

2. 研究経過及び成果

本学腫瘍内科が保有する ICI 治療を経験した頭頸部がん患者 22 検体のホルマリン固定パラフィン切片を用いて、 T_{RM} のマーカーである CD103 の発現を指標に T_{RM} -like TIL と通常の CD8 TIL の存在および分布を検討したところ、① T_{RM} -like TIL の分化が顕著に見られる検体、②CD8 TIL の浸潤がみられるが T_{RM} -like TIL への分化が見られない検体、③CD8 TIL の浸潤すら見られない検体の 3 パターンに分類できることが判明した。①の検体にて T_{RM} -like TIL の分布を調べたところ、 T_{RM} -like TIL へ分化した細胞が優位に腫瘍組織内に浸潤していること、そして、間質には T_{RM} -like TIL と通常の CD8 TIL とが混在していることが判明した。すなわち、CD8T 細胞は間質の血管から浸潤したのち、間質の特定の部位にて T_{RM} -like TIL へと分化する (CD103 発現を獲得する) ことで腫瘍内部に効率よく浸潤できるということがわかった。そこで、このような抗腫瘍免疫応答が活発に起こっている部位では T_{RM} -like TIL が腫瘍辺縁に並んだ像が見られるとの仮説の下、そのような部位を探索したところ、複数の患者にて該当部位を発見した。そして、その腫瘍組織と境界を隔てた間質に T_{RM} -like TIL と CD8 TIL が共局在している部位を発見した。この部位が T_{RM} -like TIL の分化部位であり、Differentiation sites (DS) と命名した。また、DS とは別に腫瘍細胞が壊死している周囲の間質にも T_{RM} -like TIL と CD8 TIL が共局在している部位が存在することを発見した。こちらは組織修復巣に形成される CD8 T_{RM} 分化部位と類似した特徴を持つ頃より、DS とは異なる T_{RM} -like TIL 分化部位、即ち、Remodeling sites (RS) と命名した。つまり、腫瘍組織には少なくとも 2 種の異なる T_{RM} -like TIL 分化部位が存在し、DS に存在する T_{RM} -like TIL はエフェクター、RS に存在する T_{RM} -like TIL はメモリーであることが示唆された。実際、RS に存在する T_{RM} -like TIL は DS に存在するものと比較し優位に転写因子 Eomes を抗発現しており、よりメモリーに近い性状であることが示唆された。また、切片内には複数のリンパ節様構造 (Tertiary lymphoid structure (TLS)) の存在が確認されたが、この部位における T_{RM} -like TIL の分化は確認されなかった。TLS は ICI に効果的に反応する TCF1⁺ CD8 TIL の分化部位であることが知られているが、TCF1⁺ CD8 TIL と T_{RM} -like TIL は異なる部位にて分化する、共存しない細胞集団であることが示唆された。本研究成果は、腫瘍内の CD8 TIL の性状が大きく疲弊型 (TCF1⁺ CD8 TIL を含む) と T_{RM} -like TIL 型に分かれる現状をよく反映している。 T_{RM} -like TIL 型にて ICI が良く奏効するという現状より、腫瘍内にて T_{RM} -like TIL の分化を誘導することは ICI 効果を高める効果的な手段であることに疑いの余地はない。本研究では世界に先駆けて T_{RM} -like TIL の分化部位を複数発見することができた。今後はその部位にて何が起きているのかの詳細を解明し、 T_{RM} -like TIL 誘導法の確立を目指す。

3. 本研究と関連した今後の研究計画

我々はヒト組織切片を用いて T_{RM} -like TIL 分化部位の同定に成功したが、切片から得られる情報は限られているのも現状である。今後は近年急速に進歩した空間トランスクリプトーム技術を応用し、微小環境内で起こっているイベントの詳細を解き明かす。また、 T_{RM} -like TIL を効果的に誘導するマウスモデルが存在しないことがこの細胞集団の研究発展の大きな障害となっていたが、近年、本学産婦人科学との共同研究にて、卵巣がん自然発症マウスモデルより採取したがん組織に非常に高頻度に T_{RM} -like TIL が存在することが明らかとなった。今後はヒト検体に加えてこの卵巣がんモデルを用いて T_{RM} -like TIL が分化するのに必要な条件を追求していく。

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)
2021 年 日本免疫学会総会	口頭	2021 年 12 月 9 日
2022 年 日本免疫学会総会	口頭 (シンポジウム)	2022 年 12 月 8 日