

令和 3 年 6 月 20 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16790

研究課題名（和文）がん抗原階層化による細胞傷害性T細胞の活性化・疲弊化のメカニズムの解明

研究課題名（英文）The mechanism of activation/exhaustion of cytotoxic T cells by stratification of cancer antigens

研究代表者

板橋 耕太（Itahashi, Kota）

国立研究開発法人国立がん研究センター・先端医療開発センター・研究員

研究者番号：10828990

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：T細胞受容体の癌抗原への親和性の強弱が、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の表現型やPD-1阻害薬の奏効に与える影響に関しては不明な点が多い。本研究では、担癌マウスモデルを用いて、がん抗原へのT細胞受容体親和性が高い腫瘍浸潤CD8陽性T細胞が深い疲弊状態に陥っていることと、その深い疲弊状態に至る機序について明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、がん抗原へのT細胞受容体親和性の階層性により、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の表現型やエピゲノムプロファイルが変化することを明らかにした。PD-1阻害薬の精度の高い効果予測マーカーの同定や、今後の免疫療法との併用療法の同定の一助となるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Little is known about the impact of T-cell receptor affinity for cancer antigens on the phenotype of tumor-infiltrating CD8 positive T cells. In this study, we found that tumor-infiltrating CD8 positive T cells with high T-cell receptor affinity for cancer antigens are in a state of deep exhaustion and the mechanism that induces the state of deep exhaustion.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：腫瘍免疫

## 1. 研究開始当初の背景

近年、免疫チェックポイント阻害薬の有効性が様々ながん種において証明され、がんに対する免疫療法は一段と注目を集めている。その反面、無効例も相当割合で存在し、効果予測バイオマーカーの同定やより有効性の高い治療の開発が期待されている。免疫チェックポイント阻害薬の効果予測バイオマーカーの一つとして、腫瘍の遺伝子変異数が知られている。腫瘍の遺伝子変異数が多いほど、アミノ酸置換を伴う変異(非同義置換)が生じやすく、この非同義置換によるペプチド産物がT細胞に非自己として認識されるため(がん抗原)、免疫反応が誘導されやすいと考えられている。一方で、TCGAのデータベースを用いてT細胞に関連する遺伝子の発現を肺腺癌のセットで検証したところ、腫瘍の遺伝子変異数とT細胞に関わる遺伝子発現はある程度の相関はあるものの、変異数が多いもののT細胞に関わる遺伝子発現が低い症例、変異数が少ないにも関わらずT細胞に関わる遺伝子発現が高い症例が存在した。この乖離の原因の一つとして、がん抗原由来ペプチド-MHC class I複合体と、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞上のT細胞受容体(TCR)との結合には、親和性の強弱の階層性があることが考えられる。そもそも、TCR親和性の強さ、それに続くTCRシグナルの強さはT細胞の運命を決定する複数のシグナルカスケードを促進し、CD8陽性T細胞の胸腺での分化の決定や、末梢での抗原提示後の増殖、メモリー・エフェクター細胞への分化の決定など、様々な状況で重要な役割を担っていることが報告されている。しかしながら、がん抗原のTCRへの親和性の強弱が、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の免疫学的表現型や免疫応答、免疫チェックポイント阻害薬に対する応答に与える影響に関して系統的に追及した研究は存在しない。本研究は、TCR親和性の強弱が、腫瘍中のCD8陽性T細胞に与える影響を評価することを目的に開始した。

## 2. 研究の目的

がん抗原へのTCR親和性の強弱による腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の免疫学的表現型とエピジェネティクスプロファイルの変化を明らかにし、TCR親和性が高いCD8陽性T細胞が深い疲弊状態へ分化する機序を解明する。更には、臨床検体を用いた検討から、免疫療法の効果予測バイオマーカーや耐性機序を明らかにすること、将来的な新規の免疫療法の開発につなげることを目的とした。

## 3. 研究の方法

本研究はマウスの担癌モデルを用いて検討を開始した。階層化したがん抗原をマウスの腫瘍細胞株のMC38とB16F10にレトロウイルスベクターを用いて強制発現することによって、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の免疫学的表現型やエピジェネティクスプロファイル、免疫チェックポイント阻害薬に対する応答に与える影響に関して、検討を進めた。しかしながら、TCR親和性の低いCD8陽性T細胞の腫瘍への浸潤がわずかであったため、フローサイトメトリーでの免疫学的表現型の解析は可能であったものの、トランスクリプトーム解析やオープンクロマチン解析といった網羅的な解析のために十分な検体量を採取することが困難であった。このため、ペプチドとアジュバンドの投与などを行うことで、より正確に腫瘍浸潤リンパ球を評価するマウスモデルの確立に努めた。十分量の腫瘍浸潤リンパ球が獲得できるようになったため、腫瘍浸潤リンパ球をセルソーターで分取し、トランスクリプトーム解析やオープンクロマチン解析に進んだ。

## 4. 研究成果

階層化したがん抗原をマウスの腫瘍細胞株に強制発現し、それぞれの異なるがん抗原が、腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の免疫学的表現型に与える影響を評価した。抗原に対するTCR親和性が高いCD8陽性T細胞では、PD-1やLAG-3、TIGITといった免疫チェックポイント分子が上昇している一方で、IFNやTNFといったサイトカイン産生能は低下しており、「深い疲弊状態」にあることが判明した。LCMV慢性感染モデルでは、CD8陽性T細胞の疲弊に関わる転写因子として、EOMESやT-betなどの転写因子が知られているが、今回の実験系ではこれらの転写因子の蛋白発現には有意な差は検出されず、他の転写因子やシグナルが、この「深い疲弊状態」への誘導に関与していると推察された。トランスクリプトーム解析とオープンクロマチン解析、フローサイトメトリーなどの結果から、CD8陽性T細胞を深い疲弊化状態に誘導する転写因子Xを同定した。今後は同定した転写因子Xのノックアウトマウスを作成し、転写因子Xの腫瘍浸潤CD8陽性T細胞の機能への影響や、腫瘍増殖に対する影響について、詳細な解析を進めていく予定である。また*in vitro*の系においても、転写因子Xの強制発現やノックダウン・ノックアウトが、CD8陽性T細胞の表現型や遺伝子発現に与える影響に関しても、評価を進めていく。更には転写因子Xに関連するシグナルを阻害する薬剤とPD-1阻害薬との併用効果の可能性についても検討を進めていきたい。最終的には、臨床検体を用いた検証を行う。現在、免疫チェックポイント阻害薬投与前後を含め、腫瘍浸潤リンパ球の蓄積を進めている。これらの検体を用いて、免疫チェックポイント阻害薬の予測バイオマーカーとしての有用性や耐性機序との関連性を検証

していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------