

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：16301

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K15609

研究課題名（和文）T細胞老化制御による抗腫瘍活性増強法の確立

研究課題名（英文）The enhancement of anti-tumor activity by regulating of senescent T cells

研究代表者

松岡 祐子（Matsuoka, Yuko）

愛媛大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：10879711

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：T細胞養子免疫療法では生体外での長期間の培養が必要であり、場合によっては遺伝子操作も加えられるため、一部のT細胞でT細胞老化が誘導され生体内で十分な抗腫瘍効果を発揮できないことが問題となっている。近年、老化細胞の代謝は正常細胞と異なることが報告されていることから、本研究では老化T細胞の特性を標的とした除去を目標とした。単一細胞RNAシーケンズの結果から、高齢マウス由来T細胞ではエフェクター細胞を多いこと、解糖系関連遺伝子の発現が低い傾向にあることがわかった。今後解糖系以外の代謝経路の検討を行う必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

養子T細胞療法におけるT細胞の品質管理は極めて重要であり、細胞老化を示すT細胞は生体移入前に選択的に除去することが望まれる。近年、老化細胞の代謝は正常細胞と異なることが報告されていることから、本研究では老化T細胞の特性を標的とした除去を目標とした。しかし検討の結果、老化T細胞を排除するための標的因子同定は叶わなかったが、老化T細胞が老化個体において抗腫瘍効果を発揮し、腫瘍排除に機能することを見出した。これまで老化T細胞は抗腫瘍効果を減弱させるものとして考えられていたが、本研究過程において必ずしもそうでないことを明らかにすることができた。

研究成果の概要（英文）：T cell adoptive immunotherapy requires long-term culture in vitro and, in some cases, genetic manipulation, which induces senescence in some T cells and renders them unable to exert sufficient antitumor effects in vivo. Since the metabolism of senescent cells has recently been reported to differ from that of normal cells, the objective of this study is to target and eliminate the characteristics of senescent T cells. Single-cell RNA sequencing results indicate that T cells in aging mice tend to have more effector cells and lower expression of glycolytic system-related genes. Metabolic pathways other than the glycolytic system should be investigated in the future.

研究分野：免疫学

キーワード：養子細胞療法 T細胞老化

1. 研究開始当初の背景

CAR-T細胞に代表されるがんT細胞養子免疫療法では、T細胞老化を回避し、がん抗原特異的な免疫記憶を誘導することが、長期間の再発予防に極めて重要である。T細胞養子免疫療法では、患者から得たT細胞を *in vitro* で長期間培養することで細胞数を増やし患者に移入する。この長期間の培養や、生体に戻した後のがん抗原による持続的な刺激により、細胞周期の停止、活性化受容体分子の発現低下と抑制性受容体分子の発現上昇などの老化T細胞様形質が誘導され、抗腫瘍効果が減弱する。加えて、がん微小環境では、栄養素や酸素の大部分ががん細胞によって消費され、免疫細胞にとっては、低栄養・低酸素など極めて劣悪な微小環境となっている。そのため、養子T細胞が腫瘍局所へと到達した場合でも、理想的な抗腫瘍効果を発揮できるものは少なくなる。このような問題を解決し、がんの再発を長期的に防止するためには、老化マーカーを同定し、老化T細胞を選択的に除去したり、移入後に細胞老化の進行を抑制したりする技術の確立が急務となっている。

T細胞では、抗原認識後、細胞内代謝が劇的に変化する「代謝リプログラミング」が起こる。近年の研究から、代謝リプログラミングは、T細胞の活性化や増殖、分化(新規機能獲得)に必須であることがわかってきた。代謝リプログラミングによる細胞内代謝産物の変化がエピジェネティック変化を誘導し、老化を含むT細胞分化の運命決定に関与している可能性が考えられることから、申請者らは、網羅的な代謝産物解析と遺伝子解析を用いて老化T細胞マーカーを同定し、老化抑制T細胞の作製や老化T細胞の選択的除去法を確立することが可能であると考え、本研究を立案した。

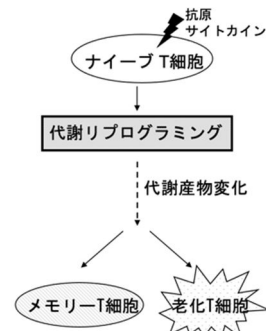


図1. 代謝リプログラミングによる代謝産物変化がT細胞の運命決定に影響する(仮説)

2. 研究の目的

本研究では、代謝リプログラミングによる代謝産物変化がT細胞老化に与える影響について明らかにし、代謝調節を介したT細胞老化抑制を試みる。さらに、老化T細胞特異的マーカーを同定し、老化T細胞選択的除去法を見出すことで老化T細胞の除去や発生誘導を阻害し、将来的に、長期間抗腫瘍活性を発揮するCAR-T細胞作製のためのプロトコル確立を目指す。

3. 研究の方法

高齢マウスは1年齢以上、若齢マウスは20週齢以内のものを使用した。高齢マウスおよび若齢マウスの脾臓細胞由来のCD3⁺T細胞を用いて一細胞RNAシーケンス解析した。また高齢マウスおよび若齢マウスの脾臓細胞由来のCD8⁺T細胞を固相化した抗TCR抗体、抗CD28抗体を用いて2日間刺激し、増殖させた細胞を用いてRNAシーケンスを行った。

4. 研究成果

高齢マウス脾臓由来のCD3⁺T細胞と若齢マウス脾臓由来CD3⁺T細胞を用いて一細胞RNAシーケンス解析を行うと、11のクラスターに分けることができた。その中で、高齢マウス由来CD3⁺T細胞ではエフェクター画分およびメモリー画分が若齢マウスのCD3⁺T細胞よりも増加傾向にあった。一方で、ナイーブ画分は大幅に減少していた。加齢に伴い胸腺の退縮が見られることから、新規T細胞の供給が減るため、既存のT細胞を自己増殖させることで恒常性を維持することが知られている。そのためこの結果は既知の事実と一致する。老化T細胞が含まれると考えられるセントラルメモリーCD8⁺T細胞画分を再解析したところさらに3つのクラスターに分けることができた。これらは解糖系に関わる遺伝子の発現が低下傾向にあった。また、*in vitro* で2日間抗原刺激を加え、7日間培養したCD8⁺T細胞の用いたRNAシーケンスの結果においても同様の傾向が見られた。これまでの報告によると、老化したT細胞では解糖系が亢進するとされているが、今回私たちは異なる結果を得た。老化T細胞の代謝においては正常T細胞と比べ代謝状態が大きく変化することが知られてはいるが、老化細胞を誘導する刺激によって異なる変化を生じると言われている。そのため、今回の結果は老化T細胞の一つのサブセットである可能性が考えられる。今後、更なる検討が必要であると考え。一方で本研究過程において、T細胞

胞老化マウスモデルおよび加齢マウスを用いた *in vivo* での抗腫瘍効果の検討では、野生型および若齢マウスに比べ強い抗腫瘍効果を示すことを明らかにした。加齢に伴い発生頻度が上昇することから発がんは加齢関連疾患の一つに数えられているが、今回私たちは高齢マウスおよび T 細胞老化モデルマウスにおいてがんは、個体に生着するものの、早期に排除されることを明らかにした。このことは老化 T 細胞が高齢個体の抗腫瘍活性に何かしらの影響を与えるなど、腫瘍排除に寄与している可能性を示唆している。これまでに、老化 T 細胞は抗腫瘍活性において十分な機能を発揮できず腫瘍排除において負の影響をもたらすとされ、老化 T 細胞の除去や発生抑制法の開発が精力的に行われ、本研究においてもその目的で遂行していたが、今回の結果から老化 T 細胞は高齢個体において腫瘍排除に寄与する役割を担う可能性が示唆されたことから、排除する対象以外にコントロールする方法を得る必要があると考えられた。今後、老化 T 細胞の腫瘍排除に寄与するメカニズムや代謝状態を理解することで新たな養子免疫療法の提唱ができると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松岡祐子
2. 発表標題 Transcription factor Bach2 controls anti-tumor immunity via regulation of CD8 T cell innate immune function
3. 学会等名 日本免疫学会
4. 発表年 2024年

〔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
---------	---------