

令和 3 年 5 月 9 日現在

機関番号：32612

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2019～2020

課題番号：19K23850

研究課題名（和文）T細胞老化を司るエピジェネティック制御機構の解明

研究課題名（英文）Epigenetic regulation of T cell senescence

研究代表者

永井 直（Nagai, Nao）

慶應義塾大学・医学部（信濃町）・特任助教

研究者番号：80828145

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：免疫系の中心を担うT細胞は、加齢や疾患に伴って機能不全（老化・疲弊）に陥ることが知られている。本研究では、次世代シーケンサーやバイオインフォマティクス等の先進技術を用いて、このメカニズムに関する解析を行った。その結果、抗腫瘍免疫を担うCD8陽性T細胞が腫瘍内で疲弊化することに関わる遺伝子の候補を1つ発見することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

加齢に伴うT細胞の老化は、易感染性やワクチンに対する応答性の低下を引き起こす。また、がんにおけるT細胞の疲弊は、抗腫瘍免疫の低下による腫瘍の進展に関わる。T細胞の疲弊に関わる候補遺伝子を発見したことは、新規のがん免疫療法を開発したり、昨今注目を浴びる免疫チェックポイント阻害剤の治療効果を最大化する戦略を開発したりすることに結びつく。また、この遺伝子が老化と疲弊に共通して重要である場合には、加齢に伴う免疫応答の低下に対する予防・治療方法の開発にもつながる。

研究成果の概要（英文）：It has been widely recognized that T cells, which play a central role in the immune system, become dysfunctional with aging and diseases (termed "senescence" and "exhaustion", respectively). In this study, we analyzed this mechanism using advanced technologies such as next-generation sequencers and bioinformatics. As a result, we found one candidate gene that is involved in exhaustion of CD8-positive T cells, which are responsible for anti-tumor immunity, in tumors.

研究分野：腫瘍微小環境

キーワード：T細胞 疲弊 老化 エピジェネティクス 転写制御 がん

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

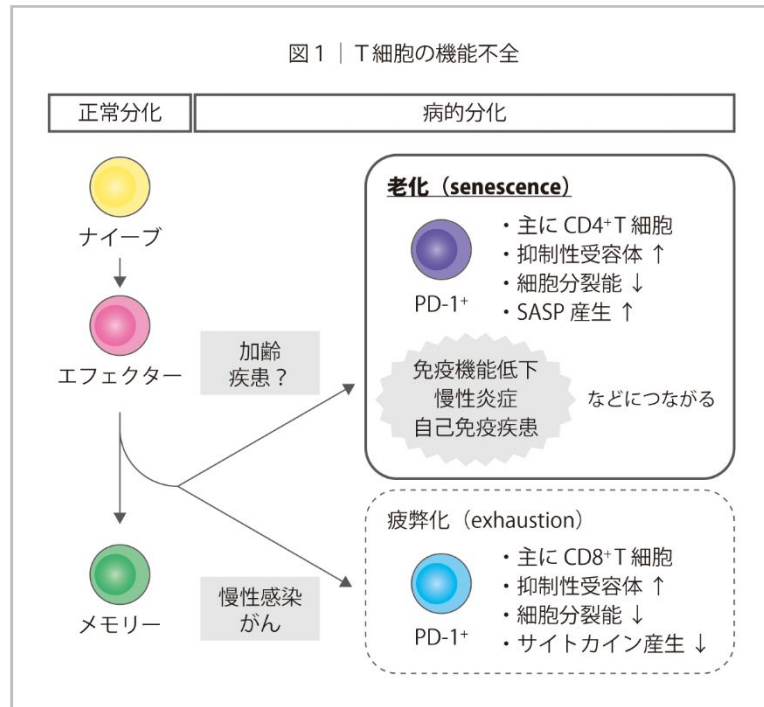
様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

免疫系は、感染防御だけではなく、個体の恒常性や疾患の発症・進展に密接に関係する。特に、T細胞は、生涯に渡る個体機能の維持や抗腫瘍免疫に極めて重要な役割を持つ細胞である。

正常な免疫応答では、未感作(ナイーブ)T細胞は、病原体やがん細胞を認識すると増殖し、エフェクターT細胞に分化して異物を排除する。ほとんどのエフェクターT細胞は短命であるが、一部はメモリーT細胞に分化し、二次感染制御や生体恒常性の維持に寄与する。しかしながら、加齢あるいは慢性感染・がんといった病的な状態では、老化(senescence)や疲弊化(exhaustion)といった病的分化が起こり、T細胞が機能不全に陥る(図1)。

したがって、T細胞の老化・疲弊メカニズムを解明し、正常メモリーT細胞へ「脱分化」させることで機能を回復させることができれば、加齢に伴う免疫機能の低下や疾患の発症・進展を抑え、健康長寿社会の実現に大きく貢献できる。



2. 研究の目的

本研究では、T細胞の老化・疲弊を司るエピジェネティック制御機構を解明すること、T細胞の老化・疲弊が疾患の発症・進展に与える影響を解析すること、T細胞の老化・疲弊を解除する方法を開発すること、の3点を目的とする。

3. 研究の方法

(1) 老化メカニズムの解析

老化T細胞の同定とキャラクタライズ

リンパ球欠損マウスにナイーブ CD4 陽性 T細胞を移入する既報の実験系(Kawahara et al., Nat Commun 2014;5:3555)を用いて、実験的に老化T細胞を誘導する。次に、シングルセル RNA-seq 解析を行い、老化T細胞を定義するマーカーを決定する。

T細胞の老化メカニズムの解析

老化T細胞と非老化T細胞を対象に、トランスクリプトーム解析(RNA-seq)およびクロマチンアクセシビリティ解析(ATAC-seq)を行い、新規の老化関連遺伝子を同定する。

T細胞の老化が疾患に与える影響の解析

老齢マウスや適切な疾患モデルを用いてT細胞の老化が、実際に健康に与える影響を個体レベルで解析する。

(2) 疲弊メカニズムの解析

疲弊関連遺伝子の探索

がんあるいはウイルス慢性感染のマウスモデルを用いて、疲弊T細胞と正常T細胞との比較で得た出版済みの5つのRNA-seqデータを解析し、疲弊で発現が上がる/下がる遺伝子として共通するものをリストアップする。

疲弊関連遺伝子のスクリーニング

B16-OVA 担がんマウスに OT-I CD8 T細胞を移入し、疲弊を誘導する。このとき、疲弊で発現が上がる遺伝子についてはロックダウンベクター、下がる遺伝子については強制発現ベクターを OT-I CD8 T細胞にトランスフェクションしておき、コントロールと比較して疲弊化がブロックされる遺伝子をスクリーニングする。

当該遺伝子の疲弊における役割の探索

遺伝子改変マウスを用いて当該遺伝子の機能について解析を行うとともに、疲弊を解除する方法についても探索する。

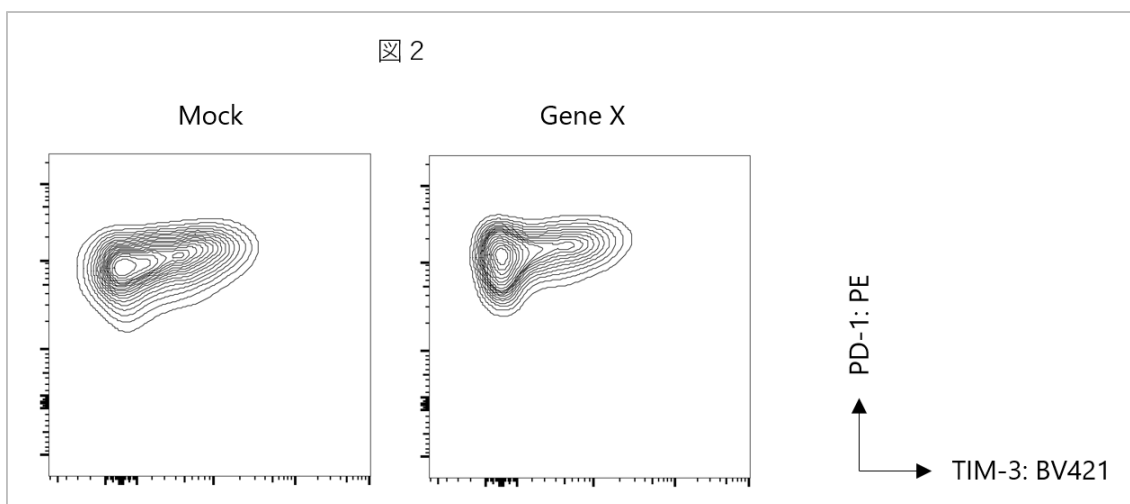
4. 研究成果

(1) 老化メカニズムの解析

シングルセル RNA-seq によって機能不全状態の CD4 陽性 T 細胞集団を同定し、この細胞集団を規定する細胞表面分子のリストアップを行った。リストアップされた細胞表面分子をもとに、フローサイトメトリーでこの細胞集団を特定し、解析を進めることを試みたが、濾胞ヘルパー T 細胞との区別ができなかったことで解析が難航した。他方、*in vitro* において老化 T 細胞を誘導することも並列して検討を進めていたが、既報の論文で報告されているような明確なフェノタイプは得られなかった。

(2) 疲弊メカニズムの解析

出版済みの 5 つの RNA-seq データを解析し、疲弊によって発現が上昇あるいは低下する遺伝子を 20 個程度リストアップした。次に、リストアップされた遺伝子をノックダウン（疲弊で発現が上昇する遺伝子）あるいは過剰発現（疲弊で発現が低下する遺伝子）させた際に、疲弊化がブロックされるかを *in vivo* スクリーニングにより解析した。2 週のスクリーニングの結果、疲弊により発現が低下する遺伝子 X を過剰発現させると、PD-1 陽性 TIM-3 陰性のポピュレーションが増加し、PD-1 陽性 TIM-3 陽性に示される疲弊ポピュレーションが減少することが確認された（図 2）。



この遺伝子や遺伝子産物である蛋白質を治療標的とすることによって、T 細胞の疲弊を予防したり、あるいは解除したりできる可能性があると考えている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kondo T, Ando M, Nagai N, Tomisato W, Srirat T, Liu B, Mise-Omata S, Ikeda M, Chikuma S, Nishimasu H, Nureki O, Ohmura M, Hayakawa N, Hishiki T, Uchibori R, Ozawa K, Yoshimura A	4. 巻 80
2. 論文標題 The NOTCH-FOXM1 Axis Plays a Key Role in Mitochondrial Biogenesis in the Induction of Human Stem Cell Memory-like CAR-T Cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 471-483
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/0008-5472.CAN-19-1196	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Higashijima Y, Matsui Y, Shimamura T, Nakaki R, Nagai N, Tsutsumi S, Abe Y, Link VM, Osaka M, Yoshida M, Watanabe R, Tanaka T, Taguchi A, Miura M, Ruan X, Li G, Inoue T, Nangaku M, Kimura H, Furukawa T, Aburatani H, Wada Y, Ruan Y, Glass CK, Kanki Y	4. 巻 39
2. 論文標題 Coordinated demethylation of H3K9 and H3K27 is required for rapid inflammatory responses of endothelial cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The EMBO Journal	6. 最初と最後の頁 e103949
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.15252/embj.2019103949	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Higashijima Y, Nagai N, Yamamoto M, Kitazawa T, Kawamura YK, Taguchi A, Nakada N, Nangaku M, Furukawa T, Aburatani H, Kurihara H, Wada Y, Kanki Y	4. 巻 3
2. 論文標題 Lysine demethylase 7a regulates murine anterior-posterior development by modulating the transcription of Hox gene cluster	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 725
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s42003-020-01456-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Nagai N, Kudo Y, Aki D, Nakagawa H, Taniguchi K	4. 巻 22
2. 論文標題 Immunomodulation by Inflammation during Liver and Gastrointestinal Tumorigenesis and Aging	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2238 ~ 2238
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/ijms22052238	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔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
---------	---------