

令和 4 年 6 月 7 日現在

機関番号：16301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22766

研究課題名（和文）老化T細胞除去による抗腫瘍活性増強法の開発

研究課題名（英文）The enhancement of anti-tumor activity by removal 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） 2,200,000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。そこで本研究では老化T細胞の生存に関与するGfi1を標的に老化T細胞を除去する抗腫瘍効果増強法の確立を試みた。しかしながらGfi1の発現を抑制すると抗腫瘍活性は低下傾向にあった。そのためGfi1を標的とした老化T細胞除去では抗腫瘍活性の増強は見込めなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者の所属する研究室ではこれまでに転写抑制因子Gfi1が老化T細胞の生存に必須であることを見出しているが、本研究遂行により新たにGfi1が腫瘍局所のようなIL-2非存在下、もしくは低濃度条件下において、老化T細胞以外のT細胞の生存にも関与していることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Chimeric antigen receptor T-cell therapy is the most remarkable cancer treatment. However, there are many problems that need to be solved. One of them is the T cell senescence. During in vivo transplantation, Senescent T cells interfere with sufficient anti-tumor activity.

In this study, we attempted to establish a method to enhance the anti-tumor activity of removal senescent T cells by targeting Gfi1, which is involved in the survival of senescent T cells.

However, suppression of Gfi1 expression tended to decrease antitumor activity. Therefore, removal of senescent T cells targeting Gfi1 did not enhance anti tumor activity.

研究分野：免疫学

キーワード：T細胞 養子免疫療法 T細胞老化

1. 研究開始当初の背景

がんを標的とした T 細胞免疫療法において、T 細胞の老化・疲弊を回避し、腫瘍抗原特異的な T 細胞による記憶免疫を形成することは、抗腫瘍免疫の増強や長期間の再発防止を達成する上で非常に重要である。近年、T 細胞に腫瘍抗原特異的な T 細胞受容体や腫瘍に特異的に発現する表面分子を認識するキメラ型抗原受容体を導入した遺伝子改変 T (CAR-T)細胞や 腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)などを用いた腫瘍に対する養子免疫細胞療法が精力的に実施され、その劇的な効果から非常に注目を集めている。いずれの T 細胞養子免疫療法でも、患者から得た T 細胞を *in vitro* で長期間培養し、T 細胞を増やして患者に再移入するという手法が取られる。しかし、*in vitro* で長期間培養した T 細胞は患者体内に戻した際、細胞増殖能が著しく低下するとともに、活性化受容体発現が低下し抑制性受容体の発現が上昇するなど、T 細胞老化が起こるため生体内での抗腫瘍活性が著しく低下する。さらに、老化 T 細胞は、メモリー T 細胞への分化能が低下するため長期的な抗腫瘍効果が期待できず、がんの再発を防止できない可能性がある。また、T 細胞を含む老化細胞では、炎症性サイトカインを分泌する細胞老化随伴分泌現象 (SASP)が誘導され、慢性炎症やがんの促進に関わるとともに、正常な T 細胞機能を抑制することが分かってきた。そのため、*in vitro* 培養時に老化 T 細胞を除去し、正常 T 細胞のみを患者体内に戻す方法論、技術の開発が急務となっている。この目標を達成するためには、養子免疫療法に使用する T 細胞の品質を判断するための指標(老化 T 細胞特異的マーカー)を確立することが必須である。

申請者が所属する研究室ではこれまでに、T 細胞老化の制御機構の解明研究を行ってきた (Kawahara M. et al. Nature Commun. 2014, Suzuki J. et al. Nature commun. 2018)。上記の研究過程で、転写抑制因子 Gfi1 が、老化 T 細胞の生存に必須であることを新たに見出した。Gfi1 は T 細胞の機能分化に関わることが報告されているが、老化 T 細胞における役割は明らかになっていない。そこで申請者らは、Gfi1 の発現や機能を制御することで老化 T 細胞を選択的に除去できると考え本研究を立案した。

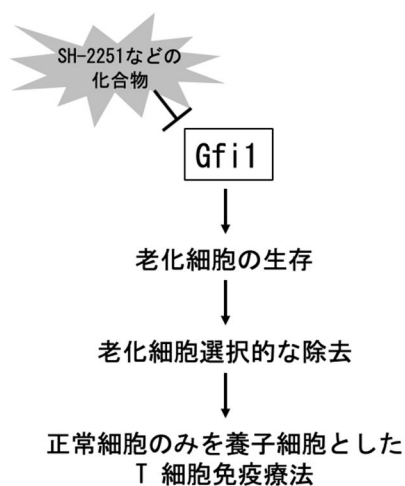


図1. 老化細胞除去は抗腫瘍免疫の増強へ繋がる (仮説)

2. 研究の目的

本研究では、転写抑制因子 Gfi1 の発現・機能の阻害による老化 T 細胞の選択的な除去法を開発するとともに、老化 T 細胞特異的マーカーを同定し免疫細胞療法の効率化を目指す。

申請者らはこれまでに、*in vitro* の長期培養時に Gfi1 欠損マウス由来 CD8 T 細胞では、野生型に比べ死細胞が増加し、老化 T 細胞様の形質が減少することを見出している。この知見は、Gfi1 が老化 T 細胞の生存維持に深く関わることを示唆している。そのため、Gfi1 の発現や機能を制御することで老化 T 細胞を選択的に除去できるのではないかと考えた。

3. 研究の方法

T 細胞特異的 Gfi1 欠損マウスは Gfi1^{fllox/fllox} マウスと CD4-Cre トランスジェニックマウスを交配して作成した。

まず Gfi1 が老化 T 細胞の生存に関与することから、Gfi1 の発現を抑制する低分子化合物 SH-2251 を用いて Gfi1 の発現抑制が抗腫瘍活性に与える影響を調べた。腫瘍細胞 EG7 を皮下に移植した担がんマウスに SH-2251 を連日経口投与し腫瘍サイズを測ることで抗腫瘍活性を評価した。

次に腫瘍環境を模した条件下での Gfi1 欠損 T 細胞の生存について評価した。マウス脾臓由来の CD8T 細胞を固相化した抗 TCR 抗体、抗 CD28 抗体で 2 日間刺激し、増殖させた細胞を用いた。腫瘍環境を模すため IL-2 などのサイトカイン非存在化で培養した。

4. 研究成果

担がんマウスに対し Gfi1 の発現を抑制する低分子化合物 SH-2251 を連日経口投与したところ、コントロール群と比較して腫瘍サイズが増大する傾向が見られた。申請者の所属する研究室では Gfi1 が老化 T 細胞の生存に関与することを見出していたため、欠損することで老化 T 細胞を選択的に排除し抗腫瘍活性の増強を期待したが予想に反する結果となった。腫瘍局所では低栄養・低酸素といった免疫細胞にとって劣悪な環境となっている。そこで、腫瘍環境下を模した

条件での T 細胞の生存を *in vitro* で検証したところ、IL-2 非存在化で Gfi1 欠損 T 細胞では死細胞が大きく増加した。このことは Gfi1 が IL-2 非存在化において老化 T 細胞だけではなく正常な T 細胞の生存にも関与することを示唆している。これらの結果から腫瘍局所において Gfi1 の発現が必要である。そのため SH-2251 を用いた Gfi1 の発現抑制は老化 T 細胞だけでなく正常 T 細胞にも細胞死を誘導してしまい、Gfi1 を標的とした老化 T 細胞の選択的除去は適切ではない。そのため申請者らは Gfi1 の発現制御に関わる転写抑制因子 Bach2 の発現制御により抗腫瘍活性の増強に繋がるか検討した。Bach2 を T 細胞特異的に欠損したマウス由来 CD8T 細胞を *in vitro* で培養したのち、担がんマウスに移入した。その結果、Bach2 欠損 T 細胞移入群ではコントロール群と比較して腫瘍サイズの減少傾向が見られた。また、Bach2 を T 細胞特異的に欠損させたマウスおよび Bach2 の発現調節に関与する腫瘍抑制因子 Menin を T 細胞特異的に欠損させたマウスにおいて腫瘍細胞を移入すると野生型マウスに比べ腫瘍細胞の生着が抑制された。これらの結果は Bach2 や Menin が抗腫瘍活性を抑制的に制御していることを示している。一方で申請者の所属する研究室ではこれまでに、Bach2 欠損 CD4T 細胞および Menin 欠損 CD8T 細胞では抗原認識後早期に老化 T 細胞様の表現型を示すことを報告している。抗原認識後早期に細胞老化が誘導されるにも関わらず野生型に比べ強い抗腫瘍活性が見られる理由については今のところ明らかとなっていない。

本研究では、最終的に CAR-T 細胞を用いて老化 T 細胞の選択的除去による抗腫瘍活性の増強を目指す。そのため本研究最終年度に CD19 を認識する CAR-T 細胞の作製系および CAR-T 細胞の抗腫瘍活性の評価系を構築し確立した。Bach2 欠損 T 細胞、Menin 欠損 T 細胞における抗腫瘍活性増大が見られたため今後、Bach2 欠損 T 細胞および Menin 欠損 T 細胞を用いて作成した CAR-T 細胞においても同様に抗腫瘍活性の増強が見られるのか検討していく。さらに、老化 T 細胞と抗腫瘍活性の亢進についての関係についても明らかにしていく予定である。

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
---------	---------