

【目的】 近年、免疫チェックポイント分子阻害薬の有効性が明らかとなり様々な癌種で臨床応用されているが、その効果は限定的で、更なる CD8T 細胞の疲弊化誘導メカニズムが存在することが想定される。我々が独自に確立したマウス腫瘍モデルでは抗原特異的 CD8T 細胞を生体内の 10~50 倍程度まで誘導でき、その細胞を詳細に解析することが可能となる。このモデルを用いて以下の 2 点を解析し新規癌免疫療法の開発につなげる。1. 疲弊化 CD8T 細胞を単離し、遺伝子発現変化を網羅的に解析し新規免疫チェックポイント分子を同定する。2. 外科的切除後または放射線治療後のメモリー細胞の産生・維持の分子機構を解明し新規アジュバント療法を確立する。

【方法】 1. OT-I マウス (OVA₂₅₇₋₂₆₄ 特異的 T 細胞レセプタートランスジェニックマウス) の脾臓から CD8T 細胞を単離し C57BL/6 マウスに移入後、EG.7 (卵白アルブミン産生 EL-4 細胞) を皮下接種した。経時的に脾臓における OT-I 細胞の動態、その機能および疲弊化マーカーをフローサイトメータで解析した。さらに 14 日目と 21 日目の OT-I 細胞をそれぞれセルソーターで単離後、RNA を抽出し網羅的解析が可能か評価した。2. 放射線照射モデル: OT-I 細胞を移入した系で腫瘍接種 14 日目に腫瘍照射 (10 Gy: CR 量) し、7 日目のリンパ組織および非リンパ組織における OT-I 細胞の誘導とメモリーマーカーの発現を非照射群と比較検討した。続いて、メモリー細胞の長期維持を照射 60 日目の OT-I 細胞の割合で調べ、さらに二次免疫応答をペプチドパルス骨髄由来樹状細胞投与または腫瘍再投与で評価した。腫瘍切除モデル: OT-I 細胞を移入した系で腫瘍接種後 14 日目に腫瘍を切除し上記と同様の検討を行った。

【結果】 ①腫瘍接種後、脾臓で誘導される OT-I 細胞は 14 日目でピークを迎え以後減少し、14 日目又は 21 日目のその細胞の IFN- γ 産生またはグランザイム発現は、それぞれ 70%と 35%、30%と 1%であり、14 日目は活性化細胞、21 日目は疲弊化細胞であると判断した。それぞれの OT-I 細胞を単離すると 100%の純度で単離でき (図 A)、RNA を抽出し定量したところ、21 日目では少なく網羅的解析のためには PCR での増幅が必要だった。また、RNA 分解度の解析で RIN 値は 5.0 未満でソーティング操作にて細胞ダメージがあり条件を検討する必要があった。②照射モデル: 照射後 7 日目の OT-I 細胞は非照射群と比較しリンパ組織だけでなく非リンパ組織においても著明に増加し (図 B)、その表面マーカーはエフェクター細胞とエフェクターメモリー細胞がそれぞれ増加していた。60 日目ではリンパ組織および非リンパ組織でメモリー細胞が維持され、その 2 次免疫応答ではペプチドパルス樹状細胞投与または腫瘍再投与で OT-I 細胞はすみやかに再活性化した。これらから照射で誘導されるメモリー細胞は再発制御に有効な細胞で、IL-7R を発現し IL-7 が有効な癌免疫療法の候補として考えられた。腫瘍切除モデル: 腫瘍切除後 7 日目の OT-I 細胞は非切除群と比較しリンパ節では差がなかったが脾臓で有意に増加し (図 C)、表面マーカーではエフェクターメモリー細胞が誘導されていた。このことから外科的切除後でも IL-7 がアジュバント療法で有効な可能性が示唆された。

新規モデルによる癌免疫療法の開発

