

難治性がんの新しい治療標的の解明 — T細胞サイトカインに癌細胞を感受性化する —

概要

京都大学医生物学研究所 伊藤能永教授と、Harvard Medical School の Kai Wucherpfennig 教授らの研究グループは共同で、T細胞からのサイトカイン^{*1}に対する感受性を高めることが難治性がんに対する新規治療戦略となりうることを明らかにしました。

がん組織内のがん細胞の多様性は、免疫療法を含むがん治療における大きな障壁となっています。例えばT細胞は、がん細胞表面のMHC-I分子^{*2}に提示されたペプチドを認識しがん細胞を殺傷しますが、それが選択圧となってMHC-I欠損抵抗性がん細胞の増殖を促します。本研究では、T細胞によるMHC-I欠損抵抗性がん細胞の殺傷を可能にする分子経路がないか、ゲノムワイドCRISPRスクリーニング^{*3}を用いて探索しました。その結果、オートファジー^{*4}とTNFシグナル経路を新規標的として見出しました。これら経路の阻害により、MHC-I欠損がん細胞がT細胞由来サイトカインに対して感受性化しアポトーシス死することを示しました。本成果は、2023年2月22日（米東部時刻午前10:00）に、国際学術誌「*Cancer Discovery*」にオンライン掲載されました。

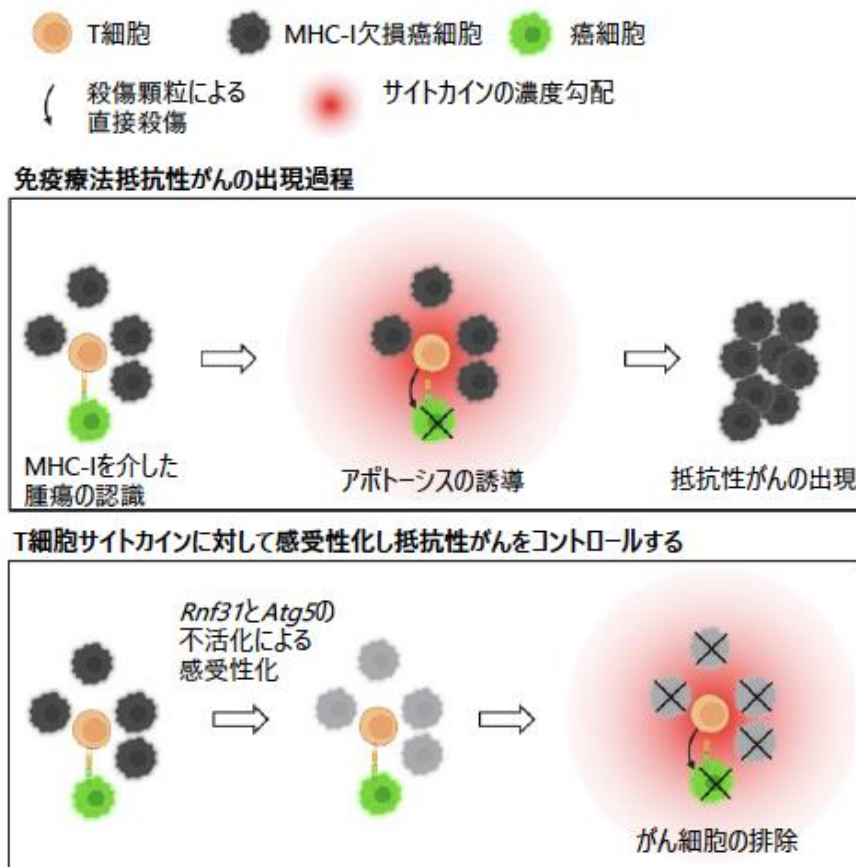


図: T細胞サイトカインに対して感受性化し抵抗性がんを制御する

1. 背景

がん組織には、単一患者由来のものであっても、遺伝的、あるいは非遺伝的な違いを有する多様ながん細胞が含まれています（腫瘍の不均一性）。このことは、治療に対する抵抗性の主な原因の一つです。すなわち、遺伝的不安定性などにより生み出された多様ながん細胞を含むがん組織に対して治療を行うと、多くの場合治療が強力な選択圧となって抵抗性がん細胞の割合が増加し、がん組織内で大半を占めるようになります。

T細胞は腫瘍を殺傷する機能を持ち、がん免疫療法では中心的な役割を担います。T細胞は、がん細胞表面上のMHC-I分子によって提示されたがんペプチドを認識してT細胞受容体を活性化し、パーフォリンやグランザイムを含む細胞殺傷顆粒をがん細胞に向けて放出することでがん細胞を殺傷します。T細胞による腫瘍殺傷は、がん組織に対しては強力な選択圧として作用し、その結果MHC-I発現を低下あるいは失ったがん細胞の増加を引き起こします。実際さまざまながんでMHC-Iの消失が報告されています。細胞殺傷性CD8 T細胞の、T細胞受容体を介した腫瘍細胞の認識はMHC-I分子に依存しているため、このようなMHC-I欠損がん細胞はT細胞には検知されません。このようにMHC-I欠損がんはT細胞による免疫反応を逃れる代表的な抵抗性がんです。本研究では、MHC-I欠損がん細胞を活性化T細胞の標的に変えうるような分子標的を明らかにすることを目的としました。

2. 研究手法・成果

感受性がん細胞と抵抗性がん細胞が混在したがん組織のモデルとして、T細胞標的抗原であるOVAを発現したがん細胞と、MHC-I欠損がん細胞の共培養系を用意しました。MHC-I欠損がん細胞(Cas9タンパクを強制発現)にゲノムワイドのガイドRNAライブラリーを導入しておき、OVA特異的活性化T細胞を共培養系に加えました。その結果、T細胞標的抗原OVA発現がん細胞はOVA特異的T細胞によって認識されパーフォリンやグランザイムにより殺傷されます。T細胞は周囲に大量のサイトカイン(IFN γ やTNF α)を放出し、周囲に炎症環境を作り出します。周囲に存在するMHC-I欠損がん細胞はT細胞には認識されませんが、炎症環境に対する感受性の違いによって数が増減します。このようなゲノムワイドCRISPRスクリーニングによって、MHC-I欠損がん細胞の抵抗性に関連する遺伝子を明らかにしました。その結果、TNFシグナル経路とオートファジーにそれぞれ関わる遺伝子が見つかってきました。

実際に*Rnf31*遺伝子(TNFシグナル経路)と*Atg5*遺伝子(オートファジー関連遺伝子)を遺伝子ノックアウトにより不活化すると、MHC-I欠損がん細胞がT細胞由来サイトカイン(IFN γ とTNF α)に対して感受性化しアポトーシスによって死滅することを見出しました。次にその分子機序の解明を試みました。オートファジーは、アポトーシスの機能分子であるCaspase 8を分解していました。そのためオートファジーを阻害することで、腫瘍細胞内でサイトカインによるアポトーシス誘導が増強されることが分かりました。またRNF31分子は、TNFシグナルを受けた細胞が生きるか、アポトーシスで死ぬかを決定するスイッチとして機能してすることが分かっています。実際に*Rnf31*を失活させるとMHC-I欠損がん細胞はTNFシグナルによってCaspase 8依存性の細胞死を起こしました。また*Rnf31*遺伝子と*Atg5*遺伝子の両者を欠損させると、Caspase 8の増加による相乗的なアポトーシス誘導効果があることを明らかにしました。このようにしてアポトーシスに陥ったMHC-I欠損がん細胞は、樹状細胞によってT細胞に対して効率よく交差提示され腫瘍に特異的なT細胞を活性化、結果として腫瘍に浸潤するIFN γ あるいはTNF α 産生T細胞数を増加させることが分かりました。このように、抵抗性がん細胞内のTNFシグナル経路とオートファジーを不活性化することで、T細胞由来のIFN γ やTNF α によるMHC-I欠損がん細胞の

アポトーシス誘導、アポトーシス細胞のクロスプレゼンテーション増強、 $IFN\gamma+TNF\alpha$ 産生 T 細胞のさらなる腫瘍浸潤という、フィードフォワードループが形成されることが分かりました。さらにマウスモデルを用いて、TNF シグナル経路とオートファジー双方を薬物あるいは遺伝子操作により阻害することで、MHC-I 欠損がん細胞を有するがんをコントロールできることを明らかにしました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究では、治療抵抗性の原因の一つである腫瘍の不均一性に着目し、そこに含まれる抵抗性がん細胞の TNF シグナル経路とオートファジーを標的として不活性化することが、新たな治療戦略となりうることを示しました。例えば、免疫チェックポイント阻害剤による治療を行う際に両経路に対する薬剤を併用すれば、MHC-I 欠損がん細胞の増加による治療抵抗性がんの出現を抑えることができる可能性があります。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は、日本学術振興会 (JSPS) 科学研究費助成事業 (22K20758「新規抵抗性経路の網羅的同定と解除による免疫治療抵抗性癌の克服と、分子機序の解明」) と令和 4 年度京都大学教育研究振興財団研究活動推進助成の支援を受け、実施しました。

<用語解説>

※1 サイトカイン：細胞から分泌される可溶性タンパク質で、細胞間の情報伝達の役割を担っています。主に標的細胞の分化・増殖・生存・活性化を誘導または抑制します。

※2 MHC-I分子：脊椎動物の全ての有核細胞の細胞表面に存在し、細胞内のタンパク質に由来するペプチド断片を細胞傷害性T細胞へ提示する機能を持つ。また外来タンパク質から形成されたペプチドを提示することもあり、この過程は交差提示として知られている。

※3 ゲノムワイドCRISPRスクリーニング：CRISPR-Cas9による遺伝子ノックアウトをゲノムスケールで行って、特定の表現型に関わる遺伝子を包括的に検出する方法。CRISPR-Cas9は、標的とするDNA配列を特異的に認識して結合するガイドRNAと、核酸切断酵素であるCas9からなる。

※4 オートファジー：真核生物にみられる、細胞内のタンパク質を分解する仕組みの一つ。異常なタンパク質の蓄積を防いだり、細胞内の病原微生物の排除を行うことで生体の恒常性維持に関与する。

<研究者のコメント>

治療抵抗性の克服は、がん制圧のための非常に重要なテーマです。がん細胞は体内で急速に進化し、多様性を獲得します。免疫系は元々多様な病原体への対応に優れており、うまく利用することができれば、現在よりもさらにさまざまながんの制御が可能になると考えられます。本研究はそのような試みの一つですが、このような挑戦に興味のある方の参加をお待ちしています。

<論文タイトルと著者>

タイトル : Addressing Tumor Heterogeneity by Sensitizing Resistant Cancer Cells to T cell-secreted Cytokines

著者: Yoshinaga Ito, Deng Pan, Wubing Zhang, Xixi Zhang, Tiffany Y. Juan, Jason W. Pyrdol, Oleksandr Kyrtsyuk, John G. Doench, X. Shirley Liu, Kai W. Wucherpfennig

掲載誌 : *Cancer Discovery*

DOI : 10.1158/2159-8290.CD-22-1125