

【目的】 がん免疫療法はその有効性が証明され広く臨床応用されているが、その効果は不十分で腫瘍微小環境 (TME) の本態解明が求められている。免疫チェックポイント阻害薬 (ICI) によって引き起こされる抗腫瘍免疫応答の中心は CD8 陽性 T 細胞とされている一方、CD4 陽性 T 細胞に関する報告は少ない。我々は ICI の効果が乏しいとされる悪性リンパ腫の TME では CD4 陽性 T 細胞が細胞傷害性を発揮し、ICI によってそれらが増強されることを見出した。さらに腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) のシングルセルシーケンスから、CD4 陽性濾胞性ヘルパーT細胞 (T_{FH}) の中に、細胞傷害性を有する新規の T_{FH} 様細胞集団の存在を同定した。これらを詳細に解析し、悪性リンパ腫さらには固形がんにおける CD4 陽性 T 細胞の抗腫瘍免疫応答での新しい役割を明らかにするために本研究を行った。

【方法】 メラノーマ患者の抗 PD-1 抗体治療前後の検体を用いて TIL と腫瘍細胞を分離した。TIL はシングルセルシーケンスを行い、個々の細胞の遺伝子発現と T 細胞受容体 (TCR) 配列を同時にシーケンスした。腫瘍細胞は *in vitro* で培養し細胞株として樹立した。シングルセルシーケンスの結果から T_{FH} のなかでも数的上位の TCR 配列を組み込んだウイルスベクターを作製し、T 細胞株 Jurkat 細胞に遺伝子導入した。これらを樹立した同一患者由来の腫瘍細胞株と共に培養し、TCR シグナル強度をルシフェラーゼアッセイを用いて評価して腫瘍と反応する腫瘍特異的 T 細胞を同定した。

【結果】 TIL のシングルセルシーケンスの結果から、T_{FH} の細胞集団の中に細胞傷害性を有する新規の T_{FH} 様細胞集団が存在し、*in vitro* のアッセイでそれらが MHC クラス II 発現腫瘍細胞を直接攻撃する腫瘍特異的な T 細胞であることを見出した。そこで従来から存在する従来型 T_{FH} と新規に同定した細胞傷害性 T_{FH} 様細胞の遺伝子発現を比較すると、従来型 T_{FH} は TCF1 高発現、BLIMP1 低発現である一方、細胞傷害性 T_{FH} 様細胞は TCF1 低発現、BLIMP1 高発現であり、これらは CD8 陽性 T 細胞における progenitor exhaustion および terminally differentiated exhaustion と同様の表現型であった。そこで、これらの遺伝子発現解析の結果を基に TCF1 を強制発現または BLIMP1 を発現抑制した T_{FH} の機能解析を行うと、双方ともグランザイム B の低下を認めたため、実験的にも従来型 T_{FH} と細胞傷害性 T_{FH} 様細胞は CD8 陽性 T 細胞の exhaustion の概念と同様であることが明らかとなった。以上のような T_{FH} の二面性に関して MHC クラス II が一般的に発現している悪性リンパ腫の TME で果たす役割を解明するための実験を進めている。

従来型 T_{FH} と細胞傷害性 T_{FH} 様細胞における疲弊の再定義

