

学 位 論 文 要 旨

氏 名 角田 俊雄

論 文 名

老化 CD8 T 細胞は NK 細胞様の自然免疫能の獲得により抗腫瘍免疫を増強する

学位論文要旨

高齢個体においては加齢に伴い T 細胞の成熟の場である胸腺が退縮するため、新たな T 細胞の供給が減る。そのため老化した個体では、末梢の T 細胞をホメオスタティック増殖させることで T 細胞の数を維持する。しかし、この増殖の繰り返しにより T 細胞老化が誘導される。また、サイトメガロウイルスの持続感染により T 細胞老化の誘導や TCR レパトアの偏りが生じる。そのため、老化 T 細胞は獲得免疫能が低下すると考えられ、老化した個体の T 細胞は、がんや感染症の発症に関与する可能性が指摘されている。その一方で、老化した個体の一部の CD8 T 細胞がナチュラルキラー(NK)細胞様の形質を獲得することや、NK 細胞様の形質を示す CD8 T 細胞は、T 細胞抗原受容体を介さない細胞傷害活性を示す自然免疫様の抗原排除能を獲得することが報告されている。しかし、老化 T 細胞が、生体防御においてどのように働くのかは明らかとなっていない。そこで私たちは老化 CD8 T 細胞の腫瘍免疫における役割について検討した。

まず私たちは若齢マウス (6~10 週齢) と老齢マウス (≥30 週齢) における生体の抗腫瘍活性について、B16 メラノーマの肺転移モデルを用いて検討した。興味深いことに、私たちの予想に反して、若齢マウスよりも老齢マウスで肺転移が有意に抑制されていることが判明した。続いて *in vitro* で、若齢マウスと老齢マウスから単離・活性化させた CD8 T 細胞の細胞傷害活性について腫瘍細胞を用いた killing assay により評価した。その結果、老齢マウス由来の CD8 T 細胞の方が若齢マウス由来の CD8 T 細胞より高い細胞傷害活性を示し、この細胞傷害活性は、T 細胞抗原受容体を介さない可能性が示された。老齢マウス由来の CD8 T 細胞の形質を検討するため、老齢マウス及び若齢マウス由来の CD8 T 細胞の遺伝子発現を RNA-シーケンスを用いて網羅的に解析した。その結果、老齢マウス由来の CD8 T 細胞では、細胞傷害分子であるグランザイムの発現が有意に増加した。さらに、*Fcgr1g*、*Klrg1* といった一部の NK 細胞関連遺伝子の

発現上昇が認められた。これに加え、老齢マウス由来の CD8 T 細胞は若齢マウス由来の CD8 T 細胞と比較し、細胞老化の特徴である細胞の肥大化・扁平化、老化細胞のマーカーである老化関連 β -ガラクトシダーゼ陽性細胞の増加といった細胞老化の形質が野生型に比べ早期に誘導された。私たちはこれまでに、腫瘍抑制因子 *Menin* が欠損する T 細胞は、野生型に比べ抗原刺激後の早期に T 細胞老化の形質が誘導されることを報告している。老齢マウス由来の CD8 T 細胞においても、著しく *Menin* の発現が低下することを見出した。そこで、T 細胞特異的 *Menin* 欠損 (*Menin* KO)マウスを老化 T 細胞モデルとして用いて、老化 CD8 T 細胞の抗腫瘍免疫における役割を検討した。野生型 (WT) マウスと *Menin* KO マウスを用いて B16 メラノーマ肺転移モデルで評価した結果、WT に比べ *Menin* KO マウスで有意に肺転移は抑制された。また、細胞傷害活性を *in vitro* で評価した結果、*Menin* KO CD8 T 細胞は、WT に比べ高い細胞傷害活性を持ち、T 細胞抗原受容体に依存しない抗腫瘍活性を獲得している可能性が示された。*Menin* KO CD8 T 細胞の遺伝子発現を RNA-シーケンスを用いて解析した結果、老齢マウス由来の CD8 T 細胞と同様に、*Menin* KO CD8 T 細胞では、細胞傷害分子や NK 関連遺伝子の発現上昇を認めた。NK 様形質の獲得における *Menin* の役割を解析するため、*Menin* の標的遺伝子と標的遺伝子座のヒストン修飾状態について ChIP-シーケンスを用いて検討した。その結果、*Gzma*, *Gzmb*, *Gzmc*, *Perforin1* といった細胞傷害活性を示す遺伝子領域や、NK 関連分子 *Cd244*, *Fcrlg*, *Klrb1c(NK1.1)* で *Menin* が結合することが明らかとなった。さらに、*Gzma*, *GzmC*, *Perforin1*, *Cd244*, *Fcrlg*, *Klrb1c(NK1.1)* 遺伝子座の活性化ヒストン修飾であるヒストン H3K27 のアセチル化レベルは、WT に比べ *Menin* KO CD8 T 細胞で増加した。これらのことから *Menin* は CD8 T 細胞の細胞傷害分子の発現や NK 様機能をエピジェネティックな調節を介して負に制御することが示唆された。そのため *Menin* の発現が低下した老化 CD8 T 細胞は、高い細胞傷害活性や NK 細胞様の機能を獲得すると考えられる。

私たちの研究結果から、新たな CD8 T 細胞の供給減少や TCR レパトアの偏りが生じ、獲得免疫能が低下する高齢個体において、老化 CD8 T 細胞が NK 細胞様の自然免疫能を獲得することで腫瘍免疫を維持している可能性が示された。

この動物実験は、愛媛大学医学部の動物実験の倫理委員会によって承認されている。

キーワード (3~5)	老化CD8 T細胞 (Senescent CD8 ⁺ T cells)、抗原非依存的細胞傷害活性 (Antigen-independent cytotoxicity)、 <i>Menin</i> 、免疫老化 (immunosenescence)、T細胞性自然免疫能 (T cell innate functions)
-------------	---