



Title	Single-cell spatial analysis identifies ID1-high endothelial cells in tertiary lymphoid structures as predictors of durable response to immunotherapy in non-small cell lung cancer
Author(s)	松本, 錦之介
Citation	大阪大学, 2026, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/105697
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏名 Name	松本 錦之介
論文題名 Title	Single-cell spatial analysis identifies ID1-high endothelial cells in tertiary lymphoid structures as predictors of durable response to immunotherapy in non-small cell lung cancer (シングルセル空間解析により三次リンパ組織内のID1高発現内皮細胞が非小細胞肺癌における免疫療法への持続的反応の予測因子として同定された)
論文内容の要旨 〔目的(Objective)〕 非小細胞肺癌（NSCLC）は依然として主要な癌死因であり、免疫チェックポイント阻害薬（ICB）は術前補助療法および進行癌の標準治療となっている。一方で、持続的奏効者と非奏効者を確実に識別できる信頼性の高いバイオマーカーは未確立である。腫瘍微小環境における三次リンパ組織（TLS）の細胞構成や成熟度は多癌種で生存予後および治療反応と関連することが報告されている。TLS領域の推定に用いられる12ケモカイン遺伝子シグネチャは腫瘍種間で変動し、単離型scRNA-seqではB細胞などTLSの構造的要素が十分に捉えられないため、in situでの評価には空間トランスクリプトミクスが不可欠である。既報の空間解析はTLSの成熟度と免疫抑制性細胞、線維芽細胞サブセットなどがICB反応性に影響することを示したが、TLS内の血管内皮細胞の時空間的動態は未だ評価されていない。そこで本研究では、切除NSCLC検体に対してXenium In Situプラットフォームを適用し、TLS成熟度とICBの有無に基づいてTLS関連領域の細胞構成、内皮細胞動態、細胞間相互作用を解析した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 2017年1月～2024年2月に、日本の14施設からNSCLC検体および臨床情報を収集した。Xenium探索コホートでは、TLS陽性かつRNA DV200≥30%を満たす切除標本8例（術前ニボルマブ＋化学療法4例、無治療4例）を解析した。多重免疫染色（MIF）コホートでは、術後2年以内に再発し免疫療法が投与された45例を対象として、MIFおよび生存解析を実施した。TLSは免疫組織化学染色により成熟度を分類し、CXCL12およびID1を定量した。Xenium（430遺伝子）解析ではTLS領域を手動で抽出し、SeuratとHarmonyを用いて統合解析を行った。さらに、CellChatおよびstLearnを用いて細胞間相互作用を推定した。全生存期間（OS）はKaplan-Meier法およびCox比例ハザードモデル等により評価した。 Xenium探索コホート8例のTLS領域を空間解析した結果、90個のTLSと319,909細胞が抽出された。これらの細胞を16クラスターに分類し、ICB治療の有無にかかわらず再現性の高いB細胞優位のTLSアトラスを構築した。TLS成熟度はCXCL13、CXCR5、FCER2などの発現に基づいてスコア化し、成熟TLSではCXCL13およびCXCR4発現が高く、B細胞密度が高かった。一方、未成熟TLSではIFN誘導性CXCL9-11が豊富で、CD8 T細胞などが相対的に優位な炎症性ニッチが形成されていた。抽出された内皮細胞は高内皮細胞（HEC）と従来型血管内皮細胞（BEC）に再分類された。成熟TLSのHECではID1発現が上方制御され、接着分子シグネチャーの増加が認められ、リンパ球動員を促進する状態にあることが示唆された。 MIFコホート（n=45）では、ID1高発現HEV群において奏効率が有意に高く（$p<0.05$）、OSも有意に延長していた（$p<0.001$）。さらに、ID1高発現HEVは多変量解析においても独立した予後因子として同定された（$p=0.032$）。加えて、免疫療法により腫瘍縮小が得られた症例では、TLS内のCXCL12-CXCR4シグナルが増幅しており、CXCL12高発現TLSを有する患者でOS延長と関連した（$p=0.014$）。一方、免疫療法奏効例ではHEV密度、接着分子シグネチャー、およびID1発現が低下し、血管リモデリング関連シグネチャーが増加していた。これらの結果に基づき、HEVが「リモデリングされた内皮状態」へ遷移する可能性が示された。 〔総括(Conclusion)〕 TLS成熟ではHECでID1が高発現し、接着分子発現の増加を介してリンパ球動員を促し、良好な臨床転帰と関連した。一方、ICB奏効後の腫瘍退縮期にはHECのID1と接着関連転写産物が低下し、浸潤が減衰して血管リモデリングが誘導された。ID1は免疫療法下の動的バイオマーカーとなり得る。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 松本 錦之介				
論文審査担当者	(職)	氏 名		
	主 査	大阪大学教授	待心 通子	署 名
	副 査	大阪大学教授	猪俣 昌典	署 名
	副 査	大阪大学特任教授	植崎 雅司	署 名

論文審査の結果の要旨

本研究は、非小細胞肺癌に対し空間シングルセル解析プラットフォーム(Xenium)を用いて腫瘍内の三次リンパ構造(TLS)を空間的に抽出・統合解析し、TLS成熟度、高内皮細胞(HEC)動態と免疫療法反応性の関連を解明した。切除検体8例から90個のTLSおよび約32万細胞のTLSアトラスを構築した。成熟TLSのHECでは、血管内皮細胞分化に重要なID1が上方制御され、同時にTLS内へのリンパ球の動員に重要な接着分子シグネチャーが増加していた。多重免疫染色を用いた独立検証(n=45)においても、ID1高発現HECの存在が免疫療法の奏効率増加および生存期間延長に寄与し、多変量解析において独立予後因子であることが実証された。さらに免疫療法奏効後には、HECのID1低下と接着分子シグネチャー低下が認められ、内皮状態の遷移が示唆された。TLS内皮の時空間ダイナミクスを臨床転帰に接続した新規性と検証の妥当性を踏まえ、本研究は学位論文に値する。博士(医学)の学位授与に値すると考えられる。