



Title	Clinical importance of the expression of CD4+CD8+ T cells in renal cell carcinoma
Author(s)	西田, 謙太郎
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/77544
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	西田 謙太郎
論文題名 Title	Clinical importance of the expression of CD4 ⁺ CD8 ⁺ T cells in renal cell carcinoma (腎細胞癌における組織内浸潤CD4 ⁺ CD8 ⁺ T細胞の臨床的重要性)
論文内容の要旨 〔目 的 (Purpose)〕 CD4およびCD8分子を共発現するCD4⁺CD8⁺T細胞は、胸腺内でのT細胞分化の過程で発生する未分化な細胞集団であり胸腺特異的に存在するが、近年、慢性ウイルス感染症患者や自己免疫疾患患者において、さらには癌患者の末梢血中や癌組織内での存在が報告されている。腎細胞癌組織内においては、effector memory T細胞の性格を持つCD4⁺CD8⁺ T細胞が他癌種と比較して高発現する報告がなされているが、臨床的重要性との関連、特に予後に関する解析はなされていない。今回、我々は様々な癌種における組織内CD4⁺CD8⁺ T細胞の発現について検討し、CD4⁺CD8⁺ T細胞を有する症例の持つ臨床学的特徴、特に予後への関連につき解析した。 〔方 法 (Methods)〕 2014年から2018年の間に当院で外科的切除を行った8癌種260症例(食道癌24例、胃癌31例、大腸癌33例、腎細胞癌104例、尿路上皮癌23例、非小細胞肺癌15例、子宮体癌15例、卵巣癌15例)を対象とした。癌組織、正常組織、末梢血、および胸腺腫15症例の正常胸腺組織を用い、T細胞を抽出した。T細胞表面分子(CD45, CD3, CD4, CD8, CD45RA, CD25, PD-1, TIM-3, CD103, ICOS, 4-1BB, OX40)の発現をフローサイトメトリー(FACS)にて解析し、CD3⁺細胞中のCD4⁺CD8⁺、CD4⁺、CD8⁺の3つのT細胞分画の頻度を解析するとともに、発現プロファイルを観察した。また、3分画を精製し、RNAを用いたエクソーム解析およびT細胞受容体(TCR)レパトア解析を行うことで、各分画間の相同性を検討した。機能解析としては、各分画における細胞傷害能としてGranzyme B、Perforin産生を、サイトカイン(IL-2, TNFα, IFNγ)産生能を刺激培養後に、FACSにて検討した。癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞の有無での予後を含む臨床病理学的因子との関連を検討した。 〔成 績 (Results)〕 8癌種260症例の検討では、腎細胞癌組織内においてCD4⁺CD8⁺T細胞が特異的に有意に高発現(中央値2.41%; 0-49.3%)していた($p < 0.05$)ため、腎細胞癌を主に解析した。癌組織内においてCD4⁺CD8⁺ T細胞が高発現している症例では正常腎組織にも少数ながらも存在したため、正常腎組織におけるCD4⁺CD8⁺ T細胞の発現割合より計算した99.99%予測区間上限値である9.29%を用い、それ以上の癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞発現頻度を有する症例を陽性と定義したところ、腎細胞癌では24症例(23.1%)が陽性であった。3分画間の相同性を検討したところ、癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞は、エクソーム解析では癌組織内CD8⁺T細胞に非常に類似した遺伝子発現パターンを有していたものの、細胞傷害顆粒産生能・サイトカイン産生能の解析では癌組織内CD8⁺T細胞に比して有意に低下していた。同一腎細胞癌症例において細胞表面分子発現を癌組織内のCD4⁺CD8⁺ T細胞とCD8⁺T細胞で比較したところ、CD4⁺CD8⁺ T細胞ではPD-1⁺TIM-3⁺CD103⁺という表現型を示す細胞集団が有意に増加していた。その一方で、正常胸腺内のCD4⁺CD8⁺ T細胞の発現解析をしたところ、PD-1⁺TIM-3⁺CD103⁺細胞は存在しないなど全く異なる発現形式を示した。健常者PBMC(末梢血単核細胞)のCD3/CD28 <i>in vitro</i>刺激では、CD4⁺CD8⁺T細胞の誘導が観察された。TCRレパトア解析では、癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞は癌組織内CD8⁺T細胞に比してTCRα、TCRβ多様性が低くクローン化が著明であり、また多くの共通TCRクローン型を観察した。腎細胞癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞の発現と臨床病理学的因子との関係を検討したところ、発現症例($n=24$)は非発現症例($n=80$)に比して、女性で有意に多く($p=0.020$)、全生存率が有意に良好であった($p=0.043$)。多変量解析では全生存率において独立した良好な予後予測因子であった(HR 0.11, 95%CI: 0.01-0.86, $p=0.035$)。以上の結果より、腎細胞癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞はCD8⁺T細胞より派生し、何らかの腫瘍特異的抗原刺激を受け活性化された後のresident memory T細胞であり、その存在は有効な腫瘍免疫反応の結果としての予後に関係している可能性が示唆された。 〔総 括 (Conclusion)〕 癌組織内CD4⁺CD8⁺T細胞は腎細胞癌において高発現を示す症例が存在し、腎細胞癌症例の予後良好を示す予測因子となる可能性が示唆された。(1974字/2000字)	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 西田 謙太郎		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 土岐 祐一郎
	副 査	大阪大学教授 石井 優
	副 査	大阪大学教授 奥山 宏臣

論文審査の結果の要旨

CD4⁺CD8⁺ T細胞は分化過程で胸腺内に発生する未分化な細胞集団とされるが、一部の癌組織内においてその存在が報告されている。今回、8癌種260例の癌組織内CD4⁺CD8⁺ T細胞の発現について検討し、CD4⁺CD8⁺ T細胞を有する症例の持つ臨床学的特徴、特に予後への関連につき解析した。その結果、CD4⁺CD8⁺ T細胞は腎細胞癌で他癌種と比較し腫瘍内特異的に高発現しており、CD8⁺T細胞に類似した遺伝子発現を有していた。またCD4⁺CD8⁺ T細胞ではPD-1⁺TIM-3⁺CD103⁺細胞がCD8⁺T細胞より有意に増加し、細胞傷害顆粒産生能・サイトカイン産生能はCD8⁺T細胞と比較して有意に低下し、さらにCD4⁺CD8⁺ T細胞発現は女性で有意に多く、全生存率において独立した予後予測因子であった。本研究は、癌組織内CD4⁺CD8⁺ T細胞は腎細胞において高発現を示す症例が存在し、腎細胞癌症例の予後良好を示す予測因子となる可能性を示したものであり、学位の授与に値すると思われる。