



Title	Cancer-specific tissue-resident memory T-cells express ZNF683 in colorectal cancer
Author(s)	北風, 雅敏
Citation	大阪大学, 2023, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/92893
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	北風 雅敏
論文題名 Title	Cancer-specific tissue-resident memory T-cells express ZNF683 in colorectal cancer (大腸がんにおいてがん特異的な組織常在記憶T細胞はZNF683を発現する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 免疫系は、主に「自己」と「非自己」の細胞を識別することで機能している。免疫系ががんの増殖を抑制することはよく知られている。がん免疫において免疫細胞の中でもCD8⁺T細胞が重要な役割を担っている。浸潤CD8⁺T細胞は多くの固形がんにおいて予後良好なマーカーとされている。 近年、CD103⁺CD8⁺T細胞が、特に上皮由来のがんにおいて予後因子であると報告されるようになった。CD103⁺ CD8⁺T細胞は、組織常在記憶T細胞 (Trm) として知られ、エフェクター分子やサイトカインを放出することが知られている。Trmは、がんの進行と転移を抑制する役割を担っているとされ、乳がん、非小細胞肺癌、膀胱がん、悪性黒色腫の患者において良好な転帰との関係が報告されている。しかし、すべてのTrmががん細胞に反応するわけではなく、がん免疫におけるTrmの役割を理解するためには、がん特異的Trm細胞の特定と特性評価が不可欠となる。 本研究では、大腸がん患者におけるTrm細胞浸潤数と予後との関連を調べ、さらに大腸がんにおけるがん特異的Trm細胞の特徴を1細胞レベルで明らかにすることとした。また、がん特異的Trm細胞マーカーとしてzinc finger protein 683 (ZNF683) に着目し、ZNF683⁺Trmについて検証した。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 予後情報を有する大腸がん569例のRNAシーケンス (RNA-seq) データから、大腸がんにおけるCD103の役割を検討した。インテグリンサブユニットαE (ITGAE ; CD103をコードする遺伝子) は、CD8A、GZMA、IFNGといった細胞傷害性T細胞に関連する遺伝子の発現と強い相関を示した。CD8AとITGAEのmRNA発現量の中央値をカットオフ値として、症例を4群に分類すると、CD8A高・ITGAE高の群では、細胞傷害性サイトカイン、免疫チェックポイント分子、Trm関連遺伝子の発現が高く、全生存率が良好であった。次に大腸がん患者126名の外科的切除標本をCD103抗体とCD8抗体で免疫組織化学的に染色し、CD103⁺、CD8⁺リンパ球の浸潤を検出した。CD103⁺、CD8⁺腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) 数は、OSとRFSの予後良好な因子であった (p<0.05)。 つづいて、大腸がん患者の切除検体内のCD45を発現する免疫細胞を採取し、Trm細胞の特徴を調べるためにシングルセルRNA-seq解析を実施した。tSNEプロットから、ITGAE⁺細胞は、CD8Aを共発現することがわかった。ITGAEとCD8Aを共発現する細胞をTrm細胞と定義し、Trm細胞クラスターでは、細胞障害性サイトカインと免疫チェックポイント分子の遺伝子発現が高いことが明らかになった。ITGAE⁺CD8A⁺T細胞およびITGAE⁺CD8A⁻T細胞クラスターをそれぞれTrm細胞および非Trm細胞クラスターと定義した。Trm細胞クラスターは、細胞障害性サイトカインと免疫チェックポイント分子の遺伝子発現が高いことが確認された。Gene Set Enrichment analysis (GSEA) では、炎症反応やIFN-γ反応に関連する遺伝子セットが上位にランクインしていた。 がん部Trm細胞と非がん部Trm細胞を比較するため、同一症例の非がん部の免疫細胞を採取してシングルセルRNA-seqを行い、tSNEプロットからがん部Trm細胞と非がん部Trm細胞のクラスターを定義した。がん部Trm細胞クラスターは、炎症反応、免疫チェックポイント分子、ZNF683の遺伝子発現量が高いことがわかった。また、Trm細胞の浸潤が多い高浸潤症例と少ない低浸潤症例でTrm細胞の遺伝子発現を比較するため、大腸がん2症例の腫瘍浸潤免疫細胞のシングルセルRNA-seq解析を行い、tSNEプロットを作成した。Trmクラスターでほぼ高浸潤症例のTrm細胞からなるクラスター (高浸潤Trmクラスター) が存在した。高浸潤Trmクラスターは、他のTrmクラスターと比較したところ、ZNF683の発現が高いことがわかった。これまでの比較からZNF683は、がん部の、さらに高浸潤Trmクラスターで上昇している遺伝子であることからがん特異的なTrmのマーカーの一つである可能性が示唆された。 この仮説を検証するため、ZNF683⁺とZNF683⁻Trm細胞を比較することでZNF683⁺Trm細胞の特徴を明らかにした。ZNF683⁺Trm細胞は、GSEAにおいてT細胞受容体 (TCR) シグナル伝達経路に関連する遺伝子セットの発現が増加していた。さらに、細胞障害性サイトカインや免疫チェックポイント分子の発現が高かった。 最後にデータベースの大腸がん39症例の大腸がん浸潤免疫細胞のシングルセルRNA-seqのデータを解析し、本研究の結果を再検証した。Trm細胞群は、細胞傷害性サイトカインを高発現し、Trm細胞とされるCD8A⁺細胞とITGAE⁺細胞は、ZNF683の発現の有無により2群に分けられた。ZNF683⁺Trm細胞群は、TCRおよびIFN-γシグナルに関係する遺伝子発現が有意に高いことが明らかになった。 〔総括(Conclusion)〕 本研究では、がん特異的なTrm細胞の特徴を明らかにした。様々な条件のTrm細胞をシングルセルレベルで比較することで、高い細胞毒性を持つと思われるがん特異的Trm細胞のマーカーの1つとしてZNF683を特定した。ZNF683⁺Trm細胞は、細胞障害性サイトカインや免疫チェックポイント分子の高発現、TCRシグナルの活性化を示し、ZNF683⁺Trmが腫瘍内で抗腫瘍効果を発揮していることが示唆された。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)				北風 雅敏	
論文審査担当者		(職)	氏	名	
	主査	大阪大学教授	土岐	祐一	氏 名
	副査	大阪大学教授	野々村	祝夫	氏 名
	副査	大阪大学特任教授	和田	尚	氏 名
論文審査の結果の要旨					
この研究では、大腸がん患者の免疫応答における組織常在記憶T細胞（Trm細胞）の役割に焦点を当てている。Trm細胞は、がんの増殖と転移を抑制する役割を果たし、さまざまな種類のがん（肺がん、悪性黒色腫など）において良好な治療結果と関連していることが報告されているが、すべてのTrm細胞ががん細胞に反応するわけではなく、がん免疫におけるTrm細胞の役割を理解するためには、がん特異的なTrm細胞の特定と特性評価が必要であるとしている。 まず、大腸がん患者のTrm細胞と予後との関連を示し、さらにがん特異的なTrm細胞の特性をシングルセルレベルで解析している。その後、がん特異的なTrm細胞のマーカーとして、Zinc finger protein 683（ZNF683）に注目した。ZNF683+Trm細胞は、T細胞受容体（TCR）シグナルに関連する遺伝子セット、細胞障害性サイトカインや免疫チェックポイント分子の発現が高いことが明らかとなり、ZNF683+Trm細胞ががん細胞に対する抗腫瘍効果に寄与している可能性が示唆された。 よって、本研究結果は、学位の授与に値すると考えられる。					