

研究題目 腫瘍細胞の動態に依存的な腫瘍免疫反応の解析

研究組織

研究代表者：山下 英里華（大阪大学 大学院 医学系研究科）

共同研究者：沢津橋 俊（徳島大学先端酵素学研究所）

【1】研究の概要

[1-1]本研究の目的・概要

細胞傷害性 T 細胞 (CTL) は生体内を遊走し、腫瘍細胞などの異物となる細胞を認識すると、標的細胞に直接接触してアポトーシスを誘導して排除する免疫細胞である。細胞間の接触が必須である CTL による免疫応答において、「標的細胞の動き」は免疫応答による標的細胞の排除効率を決定する重要な因子と考えられる。しかし、従来の腫瘍免疫におけるイメージング研究では免疫細胞側の動態解析のみが行われ、標的細胞の動きに焦点を当てた研究は存在しなかった。これまでに研究代表者は生体骨髄イメージング技術を駆使して標的腫瘍細胞の動態が異なると免疫応答の強弱が異なることを発見し、その制御機構を明らかにした (未発表)。

腫瘍細胞の動きと免疫反応の関係性を明確にするためには、免疫応答の変化が腫瘍細胞の動き依存的に起こることを生体骨髄内で検証する必要がある。しかし、生着に影響を与えずに任意のタイミングで細胞動態を制御可能な血液腫瘍細胞株の作製に難航していた。そこで本共同利用では共同研究者が保有する VIKING 法でのゲノム編集技術を用いて生体内で細胞動態を制御できる血液腫瘍細胞株の作製を目的とした。

[1-2]研究の方法・経過

細胞骨格分子の変異体の配列を組み込んだ Tet-One ベクターを作製し、VIKING 法を用いて腫瘍細胞に導入し、シングルクローン化した。ドキシサイクリン誘導性の細胞骨格分子の発現が見られたクローンを選抜し、さらにマウス骨髄に生着するクローンを選抜した。選抜したクローンがドキシサイクリン存在下で細胞動態を変化させることを確認するため、タイムラ

プスイメージングを行った。ドキシサイクリン投与下で顕著に細胞動態が変化するクローンを選抜し、さらにマウスに移植し、生体骨髄イメージングにて観察・動態解析を行った。

【2】研究成果

[2-1]本共同研究で明らかになった研究成果

本共同利用で VIKING 法を用いたことにより、遺伝子導入の困難な腫瘍細胞株に効率よく目的遺伝子が導入できた。結果、細胞骨格分子の恒常的活性型が発現誘導されるクローン (CA 株) を 12 個、優性的阻害型が発現誘導されるクローン (DN 株) を 8 個得た。得られたクローンのうち、マウス骨髄への生着が認められたのは CA 株で 11 個、DN 株で 6 個であった。ドキシサイクリンの存在下でのタイムラプスイメージングの結果、ドキシサイクリンを添加して 48 時間後にコントロール細胞 (C) と比較して CA 株の 1 個で有意な平均速度の上昇、DN 株の 1 個で有意な平均速度の低下が確認された。さらに得られた CA 株、DN 株のそれぞれ 1 株ずつで生体骨髄イメージングを行い、腫瘍細胞株の動態の観察と解析が可能となった (図 1)。

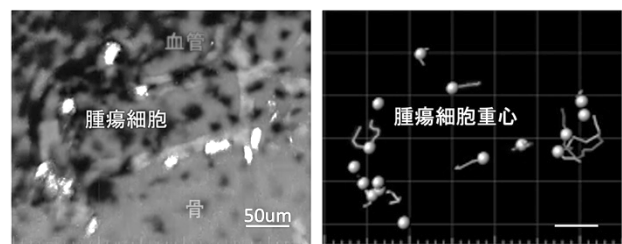


図 1：生体骨髄イメージング画像と解析画像
骨髄内に生着し、血管近くで血液腫瘍細胞が動き回る様子が観察された (左)。腫瘍細胞の細胞重心を解析ソフトで抽出し、その軌跡を描いた (右)。

[2-2]本共同研究による波及効果及び今後の発展性

対象とした血液腫瘍細胞は元々ゲノム編集が難しい浮遊系血液細胞である上、すでに複数の遺伝子を導入している細胞株であるために、遺伝子の導入効率が著しく低かった。本共同利用では生体内動態を制御できる細胞株の樹立に成功し、その動態の解析が可能となった。今後、樹立した細胞の動態を制御した際に抗腫瘍免疫反応が変化することを生体内イメージング技術によって検証できる。

【3】主な発表論文等

[3-1]論文発表

なし

[3-2]学会発表

1) 山下 英里華, 藤井 佳歩, 石井 優,
Visualizing the immune responses of CAR-T
cells against human lymphoma in living bone
marrow, 第 52 回日本免疫学会, 千葉, 1 月 18
日, 2024 年

【4】今後の課題等

今後の課題、その他等

特になし