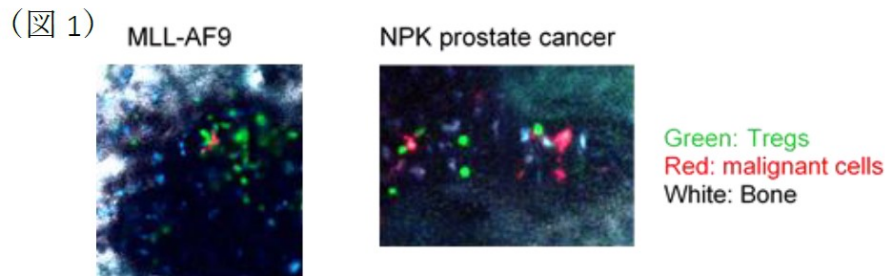


【研究目的の遂行状況及び成果】

コロンビア大学 垣内 美和子

私は、造血幹細胞ニッチの免疫特権とがん免疫との関係として、「血液系悪性腫瘍や転移性腫瘍が造血幹細胞ニッチに集積し、免疫特権を利用し宿主の免疫攻撃から逃避する」という仮説に基づいて、下記の研究を遂行した。

まず初めに、同種マウスに移植されたマウス白血病細胞（MLL-AF9）、マウス前立腺癌（NPK）が、骨髄中で Treg の近傍に存在していることを生体イメージングで明らかにした（図1）。

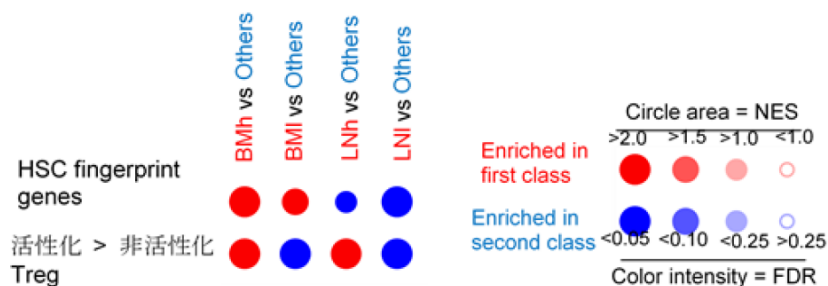


次に、Treg の骨髄への homing を抑制し骨髄 Treg を減少させた既存のマウスモデル（Foxp3CreCxcr4fl/fl, 骨髄 Treg-KO マウス）を用いて、骨髄中の悪性腫瘍に対する保護効果を検討した。この骨髄 Treg-KO マウスに白血病細胞 MLL-AF9 を移植したところ、無治療での経過はコントロールのマウスと相違なかったが、治療として 低線量の放射線を MLL-AF9 移植後に全身照射すると、有意に骨髄 Treg-KO マウスの生存延長効果が見られた。この結果は、骨髄ニッチ Treg が悪性腫瘍に対して放射線ストレスからの保護作用を示し、放射線治療に抵抗性をもたらすことを示唆した。

これまでに藤崎研究室では、造血幹細胞に免疫特権を与える骨髄ニッチ Treg は、造血幹細胞マーカーの一つである CD150 を高発現していることを見出した。この Treg は、異種移植片（造血幹細胞）の生着を促進し、内在性の造血幹細胞に対しては酸化ストレスから保護し quiescence を維持している（Cell stem cell, 2018）。このようなユニークな骨髄ニッチ Treg について、その分子的な特徴、機能を明らかにするために RNA seq による発現解析を行った。骨髄中の CD150 高発現(H)・低発現(L)Treg 及びリンパ節中の CD150 高発現(H)・低発現(L)Treg の4群を比較した。どの群の Treg も、CD4+Foxp3- T cell (public data) と比較すると、Treg signature genes を発現しており、成熟した Treg であることを裏付けた。次に、解析した4群のうち、ある1群とその他3群を比較すると、CD150H Treg は骨髄でもリンパ節でも活性化状態にあることがわかった（図2）。さらに、フローサイトメトリーでは、骨髄 CD150H Treg が CD150 の他に、Sca1、CD48 という造血幹細胞・前駆細胞に見られるマーカーを高発現していたことから、HSC fingerprint genes (266 genes,

Chambers et. al. Cell Stem Cell 2007) の発現を GSEA (Gene set enrichment analysis) で解析したところ、骨髄 CD150⁺Treg で最も強く発現していることがわかった (図 2)。すなわち、骨髄ニッチ Treg は Treg の中でも造血幹細胞様の特徴を有す細胞群であることが示唆された。

(図 2)



さらにこれら Treg の single-cell T cell receptor (TCR) sequencing を行ったところ、骨髄ニッチ Treg において clonality が高いことが示された。これは活性化 Treg の clonal な増殖を示すとともに、骨髄ニッチにおいて何らかの抗原 (= 幹細胞抗原) を認識している可能性を示唆している。

以上から、造血幹細胞様の特徴を持つユニークな骨髄ニッチ Treg は、骨髄中の悪性腫瘍の近傍に存在し、さらに放射線保護作用を示すことが明らかとなった。その過程において、正常骨髄と同様に、何らかのがん抗原を認識しているかどうか、悪性腫瘍モデルにおいても TCR repertoire を解析していきたい。また、この骨髄ニッチ Treg がこのようなユニークな性質を持つ機序について、RNA seq のデータから autophagy 等のいくつかの pathway が亢進していることが判明しており、関連遺伝子の Treg 特異的ノックアウトマウスを作成して検証を続けている。この研究の遂行により、既存の immune checkpoint inhibitor に加え、骨髄ニッチ Treg を治療標的とした免疫療法の有用性が示されるであろう。