

No.	25-1129	
Project Title	腫瘍局所の空間情報解析を用いたHSV-1ウイルス療法の作用機序の解明	
Principal Investigator	Norimitsu Kadowaki (Kagawa University・Professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Tomoki Todo (The Institute Of Medical Science, The University Of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	内田 俊平 (香川大学・助教)
	Project Member (s)	久保 博之 (香川大学・助教)
	Project Member (s)	児島 綾一 (香川大学・技術補佐員)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（年次終了）

用いる実験系

C57BL/6 マウス由来 T 細胞性リンパ腫細胞株 EL4 に腫瘍特異抗原卵白アルブミン (OVA) とヒト nectin-1 を遺伝子導入した E. G7-OVA-nectin-1 を、同系マウスの左右側腹部に皮下接種し、径約 5mm に達した後、一方の腫瘍内のみにおncolytic HSV-1 の T-01 (2×10^6 pfu) を投与する (day 0 と day 3 の 2 回)。ウイルスとして、intact T-01、紫外線 (UV) を照射した UV-T-01 を用いる。

Intact T-01 と UV-irradiated T-01 で誘導される免疫反応の違いは何か？（フローサイトメトリー）

Day 7 にウイルス投与側・非投与側の腫瘍を採取し、浸潤する自然免疫系細胞（骨髄系細胞、樹状細胞）をフローサイトメトリーによって解析した。その結果、mock に比べ UV-T-01 投与では各細胞分画の有意な増減はみられなかったが、intact T-01 の投与により投与側・非投与側腫瘍とも monocytic myeloid-derived suppressor cell (M-MDSC) の有意な減少がみられた。これが、intact T-01 による抗腫瘍効果に寄与している可能性がある。次いで、day 14 にウイルス投与側・非投与側の腫瘍を採取し、浸潤する獲得免疫系細胞（T 細胞）の解析を進めている。

Intact T-01 と UV-T-01 で誘導される免疫反応の違いは何か？（bulk RNA-seq による遺伝子発現解析）

当初 2026 年に予定していたこの実験を 2025 年度に行った。T-01 投与側・非投与側腫瘍組織の bulk RNA-seq によって、発現分子を網羅的に解析した。その結果、intact T-01 投与側腫瘍内には多様な炎症性サイトカイン、ケモカインの産生が誘導されたのに対し、UV-T-01 投与側腫瘍には補体活性化に働く遺伝子群がわずかに誘導されたのみであった。また、intact T-01 投与と反対側の腫瘍（非投与側腫瘍）には炎症性ケモカインの産生が誘導されたのに対し、UV-T-01 投与と反対側の腫瘍（非投与側腫瘍）には免疫との関連を示唆する遺伝子発現は誘導されなかった。すなわち、感染能を失った UV-T-01 は、in vitro では DNA レセプターを介した免疫細胞刺激能を保持しているものの、in vivo の腫瘍内では免疫活性化能をほとんど失っており、in vivo での免疫活性化能は T-01 の腫瘍細胞への感染に依存することが示唆された。このことは、intratumoral immunotherapy の手段として、パターン認識レセプターのリガンドを投与するより、腫瘍細胞を直接殺傷する能力がある oncolytic virus を投与する方が有効であることを示唆する。

さらに、T-01 投与側・非投与側腫瘍内の CD8⁺ T 細胞の TCR レパトア解析を行った。高額な外注アッセイのため、各条件 n=2 と検体数を絞った。この解析にて、mock 投与では特定の TCR が拡大しないが、UV-T-01、T-01 投与では拡大していた。しかし、実験 1 と実験 2 で拡大のしかたが大きく異なり、また実験 2 で特定の 1 つの TCR が全体の 50% 以上まで拡大していた。2 回の実験間で結果のばらつきが大きいため解釈に注意を要するが、UV-T-01 投与で投与側・非投与側とも特定の T 細胞クローンが拡大しているにもかかわらず抗腫瘍効果がみられないことから、拡大している T 細胞クローンの機能が低下している可能性がある。今後この腫瘍浸潤 T 細胞の機能を空間トランスクリプトーム解析で調べる。