研究実績報告書

HPV 関連中咽頭癌の腫瘍特異的抗原の同定と新規免疫治療への応用

申請者: 愛知県がんセンター研究所
腫瘍免疫制御 TR 分野　任意研修生　石原 宏政

共同研究者: 愛知県がんセンター研究所
腫瘍免疫制御 TR 分野 分野長 松下 博和

１．研究の背景・目的

頭頸部扁平上皮癌（HNSCC）は世界で 6 番目に多いがんであり、日本でも全がんの約 5%を占める。特に中咽頭癌では、喫煙や飲酒に加えて近年はヒトパピローマウイルス（HPV）の関与が明らかとなり、HPV 陽性中咽頭癌の発症が増加している。これは子宮頸癌と同様に、咽頭への HPV の持続感染によりウイルス遺伝子 E6/E7 ががん抑制遺伝子（p53, Rb）を不活化することで発がんに至ると考えられており、特に比較的若年の男性でも発症を多く認めている。予防としてワクチン接種が重要であるが、日本では女性への接種勧奨が再開された一方で、男性への接種は十分にすすんでいない。治療の第一選択は外科的切除または化学放射線療法であるが、嚥下や発声機能の永続的障害を伴うことも多く、約 15%で再発・転移が生じる（Lechner M et al, Nat Rev Clin Oncol.2022)。再発例には化学療法、分子標的薬、免疫チェックポイント阻害薬（ICI）などが用いられるが、根治的治療となることは少なく、ICI の奏効率も 20%程度と限定的である(Tanguy Y et al, The Lancet Oncology. 2016)。腫瘍内には腫瘍特異的 T 細胞が存在していることが知られ、HPV 陽性中咽頭癌ではウイルス由来抗原が T 細胞の標的となる可能性が高い(Eberhardt C.S.et al Nature.2021)。本研究では、HPV 抗原特異的 T 細胞を原発腫瘍および再発転移性肺腫瘍から同定し、その機能解析を通じて、ワクチン療法や養子 T 細胞療法などの新規免疫療法への応用を目指した橋渡し研究を実施した。

２．研究の対象ならびに方法

Project1：腫瘍全体の網羅的解析（RNA-seq、WES）

愛知県がんセンターにて採取された中咽頭癌（HPV 陽性・陰性）症例の腫瘍組織を対象に、RNA および DNA を抽出し、RNA-seq および Whole Exome Sequencing（WES）を実施した。こ

れにより、遺伝子発現プロファイルおよび体細胞変異の網羅的解析を行い、腫瘍抗原候補（ネオアンチゲン、HPV 由来抗原）や免疫細胞浸潤の特徴を評価した。

Project2：腫瘍浸潤 T 細胞の単一細胞解析（scRNA-seq、scTCR-seq）

中咽頭癌組織および再発転移性肺腫瘍中の CD3+CD8+ T 細胞に対して、scRNA-seq および scTCR-seq を実施し、T 細胞の状態（naïve、effector、exhausted）や TCR クローンの分布を解析した。HPV 陽性中咽頭癌 3 例とそのうち 1 例の肺転移症例を含む計 4 検体について解析を行った。

Project3：T 細胞応答と抗原特異性の機能的評価

Project1 で同定された腫瘍抗原候補に対し、ペプチド提示細胞や抗原遺伝子導入細胞を作成（Target）、Project 2 で得られた TCR 配列を Jurkat-T 細胞に導入して作製した TCR 導入 T 細胞（Effector）と共培養し、NFAT リポーターに基づくルシフェラーゼアッセイにより抗原認識の有無を評価した。これにより、腫瘍特異的 T 細胞の同定と機能解析を行った。

３．研究結果

Project1 の成果：腫瘍の免疫環境と抗原候補の同定

56 症例の RNA-seq データの解析から、HPV 陽性中咽頭癌では HPV 陰性例と比較して、腫瘍内に CD8+T 細胞や B 細胞などの免疫細胞が顕著に浸潤していることが確認された。また、HPV ウイルスゲノム解析の結果、HPV16 型が最も多く検出され、E6 および E7 の発現が高いことが明らかとなり、これらが腫瘍特異的なウイルス由来抗原として重要である可能性が示唆された（図 1）。

図 1

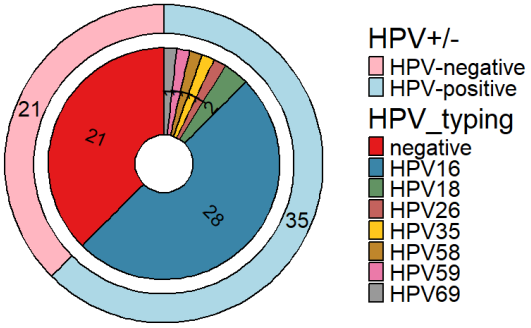
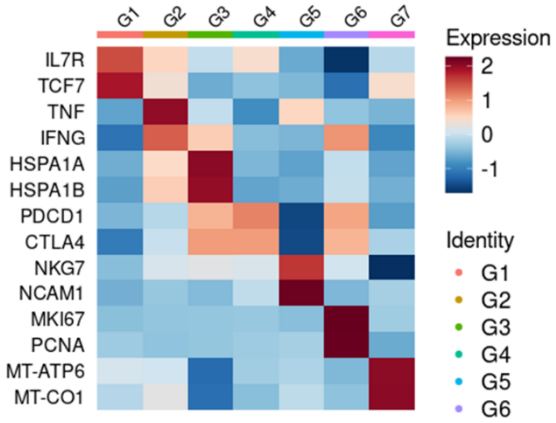


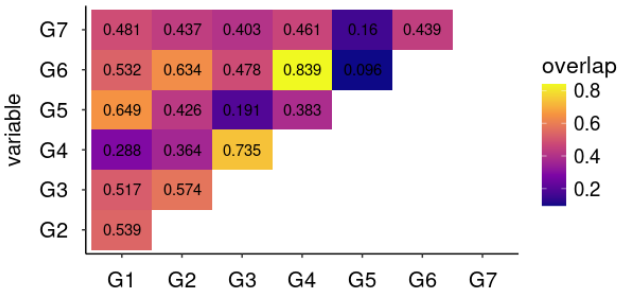
図 2



Project2 の成果：T 細胞の疲弊化とクローン拡大の観察

4 検体に対して scRNA-seq および scTCR-seq を実施した。結果、腫瘍内 T 細胞は naïve (G1)→effector (G2, 3)→exhausted (G4) と段階的に分化しており(図 2)、特に exhausted T 細胞のクラスターには同一 TCR を有する細胞が多数存在し、高いクローン性が確認された(図 3)。肺転移を来した症例では、原発巣および転移巣の両方に共通する TCR クローンが認められ、転移巣ではより疲弊が進んだ T 細胞が形成されていた。

図 3



Project3 の成果：抗原特異的 T 細胞応答の機能的評価

Project1 および 2 の結果をもとに、特定の TCR を Jurkat-T 細胞に導入し、再構成 T 細胞モデルを作製した。これらの TCR 導入細胞を、合成ペプチドをパルスした抗原提示細胞や抗原遺伝子を導入した細胞と共培養し、NFAT リポーターを用いたルシフェラーゼアッセイにより反応性を評価した。HPV 由来抗原、特に E6/E7 を認識する TCR クローンが複数同定され、腫瘍特異的 T 細胞を同定できた(図 4)。また、原発巣および肺転移巣に共通する TCR を持つ T 細胞の遺伝子発現解析により、転移巣において疲弊関連遺伝子の発現が増加していたことが明らかとなった。機能 Assay においては高親和性の HPV 特異的 T 細胞が再発転移性肺転移においても保持されていたことが示された(図 5)。

図 4

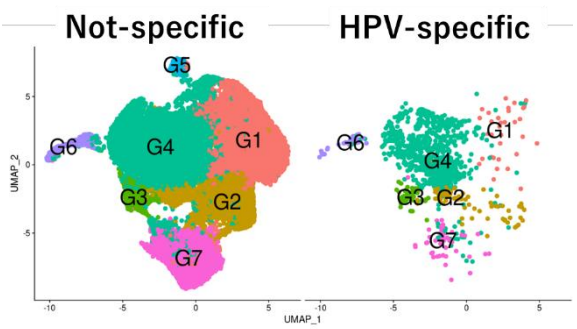
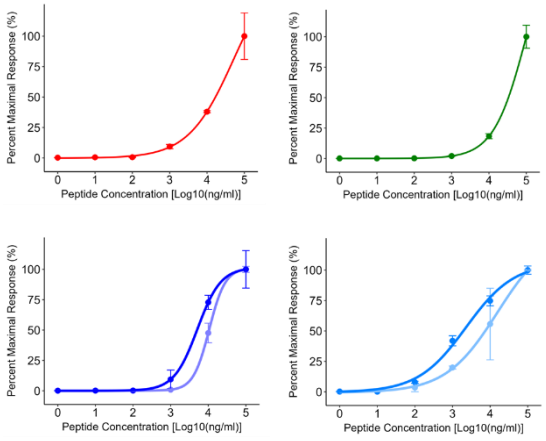


図 5



4．考察

本研究により、HPV 陽性中咽頭癌においてはウイルス由来抗原に対する腫瘍特異的 T 細胞が腫瘍内に存在し、その多くが疲弊 T 細胞クラスターに高頻度で認められるクローンであることが示された。これは、TCR のクローン拡大が腫瘍抗原に対する慢性的な応答に由来することを示唆しており、抗腫瘍免疫の中心を担う T 細胞が exhausted 状態にあるという

腫瘍免疫抑制環境の実態を反映している。
さらに、ルシフェラーゼアッセイにおける抗原ペプチド濃度変化による実験では、低濃度のペプチドに対しても明確な反応を示すTCRクローンが存在し、高親和性のHPV特異的T細胞がin vivoで生き残り、腫瘍内に保持されていた可能性が示された。これは、機能的に有効なT細胞が腫瘍内に存在しうること、またそれらを選択的に活性化することで治療応用が可能であることを示唆する重要な知見である。
本研究の結果は、腫瘍内に存在するHPV特異的T細胞の特徴を明らかにするとともに、それらの抗原特異性・親和性・疲弊状態を解析することで、TCR-T 細胞療法や治療用ワクチン開発への橋渡しとなる科学的基盤を提供するものである。特に、TCR クローンの質的な評価とペプチド濃度に対する反応性の比較解析は、今後の臨床応用に向けたTCR選定にも重要な指標となると考えられる。

５．文献

・Lechner M, Liu J, Masterson L, Fenton TR. HPV-associated oropharyngeal cancer: epidemiology, molecular biology and clinical management. Nat Rev Clin Oncol. May;19(5):306-327.2022

・Tanguy Y Seiwert, Barbara Burtness, Ranee Mehra, Jared Weiss, Raanan Berger, Joseph Paul Eder, Karl Heath, Terrill McClanahan, Jared Lunceford, Christine Gause, Jonathan D Cheng, Laura Q Chow,Safety and clinical activity of pembrolizumab for treatment of recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (KEYNOTE-012): an open-label, multicentre, phase 1b trial. The Lancet Oncology, Volume 17, Issue 7.2016

・Eberhardt, C.S., Kissick, H.T., Patel, M.R. et al. Functional HPV-specific PD-1+ stem-like CD8 T cells in head and neck cancer. Nature 597, 279–284. 2021

６．論文発表

第34回日本頭頸部外科学会総会ならびに学術講演会　2025年1月30、31日