

**研究助成 2020 – がん領域 –**  
**研究成果報告書（最終） <概要>**

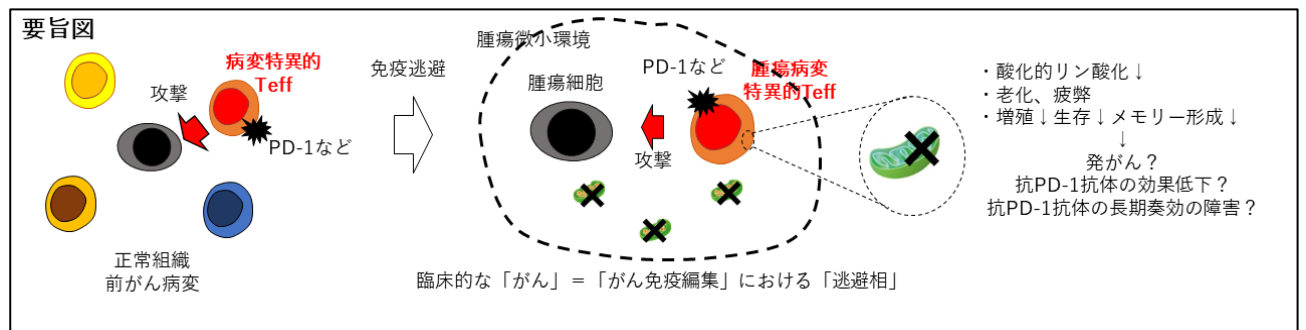
<b>所 属</b>	岡山大学学術研究院医歯薬学域・腫瘍微小環境学分野
<b>氏 名</b>	富樫 庸介
<b>研究テーマ</b>	前がん病変から発がん過程における免疫応答とその逃避機構の解明

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。  
 (図表、写真などの貼付を含む)

抗腫瘍免疫応答には腫瘍微小環境で腫瘍細胞を特異的に攻撃するエフェクターT 細胞 (Teff) が重要で、抗 PD-1/PD-L1 抗体はそのような Teff (特異的 Teff) を活性化し効果を発揮している。しかし、**組織浸潤リンパ球 (TIL) は不均一で、特異的 Teff の正確な同定は従来難しかった。**我々はシングルセルシーケンス (scRNAseq) を応用して T 細胞受容体 (TCR) を同時に解析する方法で腫瘍浸潤 T 細胞を解析し、得られたクローンと同一患者由来の腫瘍細胞株を共培養することで、**腫瘍病変特異的 Teff を正確に同定した。**この結果から PD-1 より腫瘍病変特異的 Teff に特異的な分子を明らかにし、極めて正確に特異的 Teff を同定できるようになった。

また、先天性母斑から発生したメラノーマについて、前がん病変の母斑段階で BRAF 遺伝子変異を有している症例を見出したが、**浸潤している T 細胞が発がん過程で示す挙動、それに対して働く免疫逃避機構などについてはほとんど解明されていなかった。**そこで、腫瘍に加えて前がん病変までオルガノイド技術で培養株化し、TIL 培養、免疫解析、scRNAseq などを融合することで、腫瘍だけでなく前がん病変も含めた病変特異的 Teff クローンを詳細に明らかにし、**発がんに至る過程での免疫逃避機構を前がん病変の段階も含め時系列的に解明することを目指して本研究を計画した。**

前がん病変と腫瘍病変を同一患者からペアで収集し合計 4 例で樹立を試みたが、前がん病変については TIL が少なく、うち 2 例のみで TIL 抽出とオルガノイドがペアで得られた。これらを共培養したところ、前がん病変 TIL も腫瘍病変 TIL もお互いのオルガノイドと反応して ELISA で IFN- $\gamma$  の産生が増加し、前がん病変に対する特異的 Teff の存在が示唆された。scRNAseq でも前がん病変・腫瘍病変共通の TCR を持つ特異的 Teff クローンが存在していた。前がん病変と腫瘍病変で特異的 Teff クローンは両者ともに PD-1 を発現するようなクラスターに分類されたが、GSEA では前がん病変にミトコンドリア関連因子がエンリッチされてきた。そこで、前がん病変と腫瘍病変とで特異的 Teff クローンでミトコンドリア機能や老化マーカーをフローサイトメトリー解析したところ、同じクローンであっても腫瘍病変の特異的 Teff クローンのほうが有意にミトコンドリア機能が低下していた。以上から、前がん病変にも腫瘍病変と同様の**特異的 Teff クローンが浸潤しているが、腫瘍病変ではそのミトコンドリア機能が低下し老化や疲弊が誘導され、積極的に免疫逃避が起きている**ことが示唆された。この新たな免疫逃避機構が発がんやがんの進展、がん免疫療法の効果に影響している可能性があることが想定された (要旨図)。



## 研究助成 2020 –がん領域–

## 研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	岡山大学学術研究院医歯薬学域・腫瘍微小環境学分野
氏	名	富樫 庸介

## 1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。  
なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	Ikeda H, Takenaga K, Inozume T, Nishi T, Lin J, Kawashima S, Ishino T, Nagasaki J, Kawase K, Suzuki S, Makinoshima H, Itami M, Nakamura Y, Tatsumi Y, Honobe-Tabuchi A, Ohnuma T, Kawamura T, Umeda Y, Nakamura Y, Kuniwa Y, Ichihara E, Hayashi H, Ikeda J, Mano H, Suzuki T, Kawazu M and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Novel immune evasion involving mitochondrial transfer in cancer cells. <b>Nature</b> . under review. 査読有
2	Zhou W, Kawashima S, Ishino T, Kawase K, Ueda Y, Yamashita K, Watanabe T, Kawazu M, Dansako H, Suzuki Y, Nishikawa H, Inozume T, Nagasaki J, and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Stem-like Progenitor and Terminally Differentiated T <sub>FH</sub> -like CD4 <sup>+</sup> T cell Exhaustion in the Tumor Microenvironment. <b>Immunity</b> . under review. 査読有
3	Morinaga T, Naoi Y, Nagasaki J, Ariyasu R, Ueda Y, Yamashita K, Kawashima S, Honobe-Tabuchi A, Ohnuma T, Kawamura T, Umeda Y, Kawahara Y, Nakamura Y, Kuniwa Y, Yamasaki Y, Fukushima S, Kawazu M, Suzuki Y, Nishikawa H, Ando M, Inozume T, and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Immunosuppressive function of CD106 expressed in cancer-specific exhausted CD8 <sup>+</sup> T cells in the tumor microenvironment. <b>Sci Adv</b> . under review. 査読有
4	Kemmotsu N, Ninomiya K, Kunimasa K, Ishino T, Nagasaki J, Otani Y, Michiue H, Ichihara E, Ohashi K, Inoue T, Tamiya M, Sakai K, Ueda Y, Dansako H, Nishio K, Kiura K, Date I, and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Low frequency of intracranial progression in advanced NSCLC patients treated with cancer immunotherapies. <b>Thorax</b> . under review. 査読有
5	Watanabe T, Ishino T, Ueda Y, Nagasaki J, Sadahira T, Dansako H, Araki M, and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Activated CTLA-4-independent immunosuppression of Treg cells disturbs CTLA-4 blockade-mediated antitumor immunity. <b>Cancer Sci</b> . under revision. 査読有
6	Kawase K, Kawashima S, Nagasaki J, Inozume T, Tanji E, Kawazu M, Hanazawa T, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . High major histocompatibility complex class I expression overcomes cancer immunotherapy resistance due to interferon gamma signaling pathway defects. <b>Cancer Immunol Res</b> . under revision. 査読有.

7	Ishino T, Kawashima S, Tanji E, Ueno T, Ueda Y, Ogasawara S, Sato K, Mano H, Ishihara S, Kato N, Kawazu M, and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Somatic mutations can induce a noninflamed tumour microenvironment via their original gene functions, despite deriving neoantigens. <b>Br J Cancer</b> . in press. 査読有.
8	Shingaki S, Koya J, Yuasa M, Saito Y, Tabata M, McClure MB, Ogawa S, Katayama K, <u>Togashi Y</u> , Imoto S, Kogure Y, Kataoka K. Tumor-promoting function and regulatory landscape of PD-L2 in B-cell lymphoma. <b>Leukemia</b> . in press. 査読有
9	Kawashima S, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Resistance to immune checkpoint inhibitors and the tumor microenvironment. <b>Exp Dermatol</b> . in press. 査読有 (招待)
10	Nagasaki J, Ishino T, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Mechanisms of resistance to immune checkpoint inhibitors. <b>Cancer Sci</b> 113: 3303-3312, 2022. 査読有 (招待)
11	Morinaga T, Inozume T, Kawazu M, Ueda Y, Sax N, Yamashita K, Kawashima S, Nagasaki J, Ueno T, Lin J, Ohara Y, Kuwata T, Yukami H, Kawazoe A, Shitara K, Honobe-Tabuchi A, Ohnuma T, Kawamura T, Umeda Y, Kawahara Y, Nakamura Y, Kiniwa Y, Morita A, Ichihara E, Kiura K, Enokida T, Tahara M, Hasegawa Y, Mano H, Suzuki Y, Nishikawa H, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Mixed response to cancer immunotherapy is driven by intratumor heterogeneity and differential inter-lesion immune infiltration. <b>Cancer Res Commun</b> . 2: 739-753, 2022. 査読有
12	Nagasaki J, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . A variety of 'exhausted' T cells in the tumor microenvironment. <b>Int Immunol</b> . 34: 563-570, 2022. 査読有 (招待)
13	Bando H, Tsukada Y, Inamori K, <u>Togashi Y</u> , Koyama S, Kotani D, Fukuoka S, Yuki S, Komatsu Y, Homma S, Taketomi A, Uemura M, Kato T, Fukui M, Wakabayashi M, Nakamura N, Kojima M, Kawachi H, Kirsch R, Yoshida T, Suzuki Y, Sato A, Nishikawa H, Ito M, Yoshino T. Preoperative Chemoradiotherapy plus Nivolumab before Surgery in Patients with Microsatellite Stable and Microsatellite Instability-High Locally Advanced Rectal Cancer. <b>Clin Cancer Res</b> 28: 1136-1146, 2022. 査読有
14	Kawazu M, Ueno T, Saeki K, Sax N, <u>Togashi Y</u> , Kaneseki T, Chida K, Kishigami F, Sato K, Kojima S, Otsuka M, Kawazoe A, Nishinakamura H, Maeda Y, Yamamoto Y, Yamashita K, Inoue S, Tanegashima T, Matsubara D, Tane K, Tanaka Y, Iinuma H, Hashiguchi Y, Hazama S, Khor SS, Tokunaga K, Tsuboi M, Niki T, Eto M, Shitara K, Torigoe T, Ishihara S, Aburatani H, Haeno H, Nishikawa H, Mano H. HLA Class I analysis provides insight into the genetic and epigenetic background of immune evasion in colorectal cancer with high microsatellite instability. <b>Gastroenterology</b> 162: 799-812, 2022. 査読有
15	Ikeda H, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Aging, cancer, and antitumor immunity. <b>Int J Clin Oncol</b> 27: 316-322, 2022. 査読有 (招待)

16	Kumagai S, Koyama S, Itahashi K, Tanegashima T, Lin YT, <u>Togashi Y</u> , Kamada T, Irie T, Okumura G, Kono H, Ito D, Fujii R, Watanabe S, Sai A, Fukuoka S, Sugiyama E, Watanabe G, Owari T, Nishinakamura H, Sugiyama D, Maeda Y, Kawazoe A, Yukami H, Chida K, Ohara Y, Yoshida T, Shinno Y, Takeyasu Y, Shirasawa M, Nakama K, Aokage K, Suzuki J, Ishii G, Kuwata T, Sakamoto N, Kawazu M, Ueno T, Mori T, Yamazaki N, Tsuboi M, Yatabe Y, Kinoshita T, Doi T, Shitara K, Mano H, Nishikawa H. Lactic acid promotes PD-1 expression in regulatory T cells in highly glycolytic tumor microenvironments. <b>Cancer Cell</b> . 40: 201-218, 2022. 査読有
17	Nagasaki J, Inozume T, Sax N, Ariyasu R, Ishikawa M, Yamashita K, Kawazu M, Ueno T, Irie T, Tanji E, Morinaga T, Honobe A, Ohkura T, Yoshino M, Iwata T, Kawase K, Sasaki K, Hanazawa t, Kochin V, Kawamura T, Matsue H, Hino M, Mano, H, Suzuki Y, Nishikawa H, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . PD-1 blockade therapy promotes infiltration of tumor-attacking exhausted T cell clonotypes. <b>Cell Rep</b> 38: 110331, 2022. 査読有
18	Yamamoto H and <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . Programmed Death-Ligand 1 Rich Premetastatic Niche in Adjuvant Chemotherapy. <b>J Thorac Oncol</b> 17: 10-12, 2022. 査読有 (招待)
19	Namba S, Ueno T, Kojima S, Kobayashi K, Kawase K, Tanaka Y, Inoue S, Kishigami F, Kawashima S, Maeda N, Ogawa T, Hazama S, <u>Togashi Y</u> , Ando M, Shiraishi Y, Mano H, Kawazu M. Transcript-targeted analysis reveals isoform alterations and double-hop fusions in breast cancer. <b>Commun Biol</b> 4: 1320, 2021. 査読有
20	Takeuchi Y, Tanegashima T, Sato E, Irie T, Sai A, Itahashi K, Kumagai S, Tada Y, <u>Togashi Y</u> , Koyama S, Akbay EA, Karasaki T, Kataoka K, Funaki S, Shintani Y, Nagatomo I, Kida H, Ishii G, Miyoshi T, Aokage K, Kakimi K, Ogawa S, Okumura M, Eto M, Kumanogoh A, Tsuboi M, Nishikawa H. Highly immunogenic cancer cells require activation of the WNT pathway for immunological escape. <b>Sci Immunol</b> 6: eabc6424, 2021. 査読有
21	Kawashima S, Inozume T, Kawazu M, Ueno T, Nagasaki J, Tanji E, Honobe A, Ohnuma T, Kawamura T, Umeda Y, Nakamura Y, Kawasaki T, Kiniwa Y, Yamasaki O, Fukushima S, Ikehara Y, Mano H, Suzuki Y, Nishikawa H, Matsue H, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . TIGIT/CD155 axis mediates resistance to immunotherapy in melanoma patients with the inflamed tumor microenvironment. <b>J Immunother Cancer</b> 9: e003134, 2021. 査読有
22	Koya J, Saito Y, Kameda T, Kogure Y, Yuasa M, Nagasaki J, McClure MB, Shingaki S, Tabata M, Tahira Y, Akizuki K, Kamiunten A, Sekine M, Shide K, Kubuki Y, Hidaka T, Kitanaka A, Nakano N, Utsunomiya A, <u>Togashi Y</u> , Ogawa S, Shimoda K, Kataoka K. Single-Cell Analysis of the Multicellular Ecosystem in Viral Carcinogenesis by HTLV-1. <b>Blood Cancer Discov</b> 2: 450-467, 2021. 査読有
23	Inamori K, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> , Fukuoka S, Akagi K, Ogasawara K, irie T, Motooka D, Kobayashi Y, Sugiyama D, Kojima M, Shiiya N, Nakamura S, Murayama S, Suzuki Y, Ito M, Nishikawa H. Importance of lymph node immune responses in MSI-H/dMMR colorectal cancer. <b>JCI Insight</b> 6: 137365, 2021. 査読有

24	Watanabe S, Goto Y, Yasuda H, Kohno T, Motoi N, Ohe Y, Nishikawa H, Kobayashi SS, Kuwano K, <u>Togashi Y (corresponding author)</u> . HSP90 inhibition overcomes EGFR amplification-induced resistance to third-generation EGFR-TKIs. <b><i>Thorac Cancer</i></b> 12: 631-642, 2021. 査読有
----	--

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。</li> <li>● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。</li> <li>● 国内外を問わない。</li> <li>● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。</li> </ul>		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2022年12月	The 12th AACR-JCA Joint Conference, Takamasa Ishino, Shunsuke Kawashima, Etsuko Tanji, Sadahisa Ogasawara, Naoya Kato, Masahito Kawazu, <u>Yosuke Togashi</u> . Neoantigen paradox; neoantigens do not always induce an inflamed tumor microenvironment.
2	2022年12月	The 12th AACR-JCA Joint Conference, <u>Togashi Y</u> , Clonal evolution in a tumor microenvironment
3	2022年12月	第26回国際がん化学療法シンポジウム、Togashi Y, TIGIT blockade therapies: can they overcome resistance to PD-1 blockade therapies?
4	2022年12月	第51回日本免疫学会学術集会、 <u>Togashi Y</u> , Tumor-infiltrating PD-1+ effector T cells and regulatory T cells as novel biomarkers and therapeutic targets for cancer immunotherapies.
5	2022年12月	第63回日本肺癌学会学術集会、 <u>富樫庸介</u> , 腫瘍微小環境から考えるがん免疫療法のバイオマーカー
6	2022年12月	第63回日本肺癌学会学術集会、池田英樹, 清水大貴, 岩田剛和, 鈴木拓児, <u>富樫庸介</u> , 胸腺腫瘍における抗腫瘍免疫応答の解明
7	2022年12月	第35回日本バイオセラピー学会学術集会総会、長崎讓慈、 <u>富樫庸介</u> 、腫瘍微小環境のクローン進展
8	2022年12月	第35回日本バイオセラピー学会学術集会総会、 <u>富樫庸介</u> 、腫瘍免疫の基礎からトランスレーショナルリサーチ
9	2022年12月	第45回日本分子生物学会年会、 <u>Togashi Y</u> , Mitochondrial abnormality in the tumor microenvironment and antitumor immunity
10	2022年11月	HCA Asia, <u>Togashi Y</u> , Clonal evolution in the tumor microenvironment
11	2022年10月	第60回日本癌治療学会学術集会、 <u>富樫庸介</u> 、次世代がん免疫療法を目指して
12	2022年10月	第31回日本形成外科学会基礎学術集会、 <u>富樫庸介</u> 、シングルセルシーケンスの研究への応用

13	2022年10月	第81回日本癌学会学術総会、Takamasa Ishino, Toshihide Ueno, Youki Ueda, Hiroyuki Mano, Soichiro Ishihara, Naoya Kato, Masahito Kawazu, <u>Yosuke Togashi</u> , Paradoxical neoantigens; neoantigenic mutations can paradoxically induce a noninflamed tumor microenvironment via their original functions.
14	2022年10月	第81回日本癌学会学術総会、 <u>Togashi Y</u> , Single-cell analyses for the tumor microenvironment
15	2022年7月	第7回クリニカルバイオバンク学会、 <u>富樫庸介</u> 、研究者から見たバイオバンクを含めた臨床検体に関する体制の在り方
16	2022年6月	第63回日本臨床細胞学会総会(春期大会)、 <u>富樫庸介</u> 、がん免疫療法のバイオマーカー
17	2022年4月	第108回日本消化器病学会総会、 <u>富樫庸介</u> 、腫瘍微小環境から考えるがん免疫療法
18	2022年2月	第19回日本臨床腫瘍学会学術集会、 <u>Togashi Y</u> 、Single-cell sequencing for a tumor microenvironment
19	2021年12月	第34回バイオセラピー学会、 <u>富樫庸介</u> 、腫瘍微小環境におけるクローン進展
20	2021年12月	第25回国際がん化学療法シンポジウム、 <u>Togashi Y</u> 、Cancer immunogenomics for the next stage of precision medicine
21	2021年12月	第50回日本免疫学会総会、 <u>Togashi Y</u> 、Several "exhausted" T cells in the tumor microenvironment
22	2021年12月	第46回日本研究皮膚科学会年次学術大会・総会、Shusuke Kawashima, Takashi Inozume, Masahito Kawazu, Toshihide Ueno, Etsuko Tanji, Tatsuyoshi Kawamura, Yasuhiro Nakamura, Tomonori Kawasaki, Yukiko Kuniwa, Hiroyoshi Nishikawa, Hiroyuki Matsue, <u>Yosuke Togashi</u> . TIGIT/CD155 axis mediates resistance to immunotherapy in melanoma patients with the inflamed tumor microenvironment
23	2021年11月	第62回日本肺癌学会学術集会、 <u>富樫庸介</u> 、胸部腫瘍（非小細胞肺癌を除く）に対する複合免疫療法を考える
24	2021年10月	第59回日本癌治療学会学術集会、Yuichiro Tsukada, Hideaki Bando, Koji Inamori, <u>Yosuke Togashi</u> , Shohei Koyama, Daisuke Kotani, Shota Fukuoka, Satoshi Yuki, Yoshito Komatsu, Shigenori Homma, Akinobu Taketomi, Mamoru Uemura, Takeshi Kato, Makoto Fukui, Masashi Wakabayashi, Naoki Nakamura, Motohiro Kojima, Akihiro Sato, Hiroyoshi Nishikawa, Masaaki Ito and Takayuki Yoshino. Preoperative Chemoradiotherapy plus Consolidation Immune-Checkpoint Inhibitor followed by Radical Surgery for Locally Advanced Rectal Cancer

25	2021年10月	第80回日本癌学会学術総会、 <u>Togashi Y.</u> 、Precision Medicine of Cancer Immunotherapy
26	2021年9月	第80回日本癌学会学術総会、 <u>富樫庸介</u> 、がん免疫とは何か：解析手法の基礎
27	2021年7月	第37回日本皮膚悪性腫瘍学会学術大会、 <u>富樫庸介</u> 、免疫チェックポイント阻害剤の耐性メカニズムを考える
28	2021年7月	第25回日本がん免疫学会総会、猪爪隆史、川島秀介、丹治悦子、河津正人、池原譲、木庭幸子、中村泰大、梅田善康、川崎朋範、川村龍吉、大沼毅紘、保延亜希子、松江弘之、 <u>富樫庸介</u> 、CD155/TIGIT axis は免疫チェックポイント阻害剤の inflamed resistance に関する
29	2021年7月	第25回日本がん免疫学会総会、 <u>富樫庸介</u> 、腫瘍微小環境のシングルセル解析
<b>3. 投稿、発表予定</b>		
	<b>投稿/発表時期</b>	<b>雑誌名、学会名等</b>
1	2023年Q1	<u>Togashi Y (corresponding author)</u> , Mutations in tumor-infiltrating lymphocytes and antitumor immunity. <b>Cancer Cell</b>
2	2023年Q1	<u>Togashi Y (corresponding author)</u> , Combined treatment with direct hydrogen peroxide administration and irradiation promotes an abscopal effect in mouse models. <b>Cancer Sci</b>
3	2023年3月	第20回日本臨床腫瘍学会、 <u>Togashi Y.</u> Next cancer immunotherapy beyond PD-1 blockade.
4	2023年4月	第63回日本呼吸器学会学術講演会、 <u>富樫庸介</u> 、腫瘍微小環境とがん免疫療法、
5	2023年4月	AACR2023、Katsushige Kawase, Shusuke Kawashima, Joji Nagasaki, Takashi Inozume, Etsuko Tanji, Hiromasa Yamamoto, Masahito Kawazu, Toyoyuki Hanazawa, <u>Yosuke Togashi</u> . High major histocompatibility complex class I expression overcomes cancer immunotherapy resistance due to interferon gamma signaling pathway defects.
6	2023年4月	AACR2023、Naoya Kemmotsu, Zhu Li, Youki Ueda, Hiromichi Dansako, Shinichi Toyooka, Joji Nagasaki, <u>Yosuke Togashi</u> . Combined treatment with direct hydrogen peroxide administration and irradiation promotes an abscopal effect in mouse models.