

令和元年6月20日現在

機関番号：11401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K20435

研究課題名(和文)ロイコトリエン受容体CysLT2を標的としたがん免疫療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of cancer immunotherapy via CysLT2 receptor

研究代表者

五十嵐 秀光 (Igarashi, Hidemitsu)

秋田大学・医学部附属病院・医員

研究者番号：60581163

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：NK細胞におけるCysLT2の機能の明らかにし、NK細胞を標的としたがん免疫療法につながる新たな知見提供を目的としてCysLT2欠損型マウスを用いて解析を行った。CysLT2は免疫細胞の中でもNK細胞に高い発現を示し、CysLT2欠損型マウスは肺転移を抑制することを明らかにした。また、その表現系はNK細胞に依存している可能性が高く、NK細胞の数ではなく、細胞障害性顆粒の産生能にCysLT2が関与していることが強く示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、がん免疫療法が注目されているが、医学的なエビデンスを伴うのは主にT細胞や樹状細胞などを介した免疫療法であり、生理活性脂質を標的とした報告はほとんど認められない。本研究によってNK細胞を介した免疫療法の可能性を提供し、アラキドン酸から産生されるロイコトリエンという一般的な脂質メディエーターがNK細胞の機能を制御する可能性を示唆することができた。本研究結果は学術的に今後のがん免疫学のみではなく免疫学においても重要な意義を有するものであると考えられる。

研究成果の概要(英文)：To reveal novel roles of CysLT2 in NK cells, we analyzed Cyslt2-deficient mice. The expression level of CysLT2 was higher in NK cells than other immune cells. The number of tumor nodules was significantly smaller in CysLT2-deficient mice than in CysLT2-WT mice. These phenotype depended on the function of cyslt2 receptor in NK cells, not the number of NK cells.

研究分野：免疫学

キーワード：ロイコトリエン受容体 NK細胞 がん免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 現在、がん治療を目的として外科療法、放射線療法、抗がん剤や分子標的薬を用いた化学療法の3種類の治療が主に選択されている。しかし、がんの再発・転移の抑制には患者の免疫能が重要であるとも考えられており、がん治療と治療に伴う患者の免疫能の低下は相反した関係であるといえる。近年、第4の治療法として免疫療法が注目されている。NK細胞は標的細胞の認識、傷害のための抗原提示を必要としない自然免疫系に属する免疫細胞である。NK細胞は細胞傷害性顆粒を放出し直接的に標的細胞を傷害し、また間接的に自己の細胞傷害性を向上させることが明らかになっている。ロイコトリエン(LT)はアラキドン酸から生合成される炎症性の生理活性脂質である。LTの1つであるLTC4、LTD4はGタンパク質共役型受容体であるCysLT1およびCysLT2に作用することによって生理作用を示す(図1)。近年、新たにCysLT2はNK細胞およびNKT細胞に高い発現を示し、サイトメガロウイルス感染モデルにおいて感染初期にNK細胞のCysLT2の発現が上昇することが報告された。これらの知見はCysLT2が活性化したNK細胞において重要な生理機能を持つ可能性を示唆しているが、NK細胞におけるCysLT2の生理機能は未だ明らかになっていない。

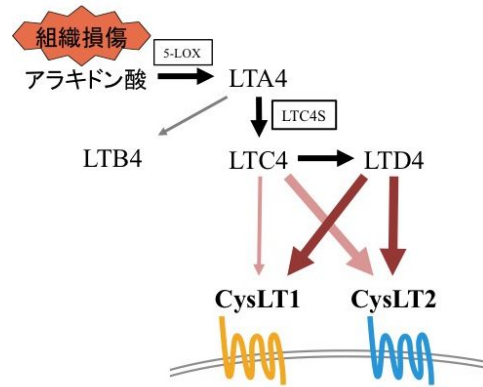


図1 LTC4とLTD4の合成経路とその受容体

(2) 申請者は、マウス脾臓中の免疫細胞におけるCysLT2の発現レベルを測定し、NK細胞では他の免疫系細胞と比較してCysLT2 mRNAが6倍以上高いレベルで発現していることを見出し、CysLT2欠損マウスでは高転移性のメラノーマ細胞株であるB16F10細胞を用いた癌転移モデルにおける肺転移が抑制されることを見出した(図2・3)。NK細胞がメラノーマの肺転移を抑制する重要な因子であることから、NK細胞とCysLT2の間には重要な関わりがあることが推察された。

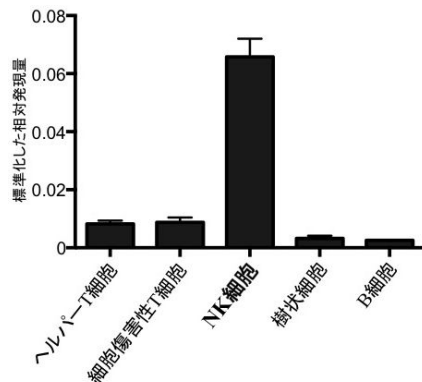


図2 免疫細胞におけるCysLT2の遺伝子発現レベル

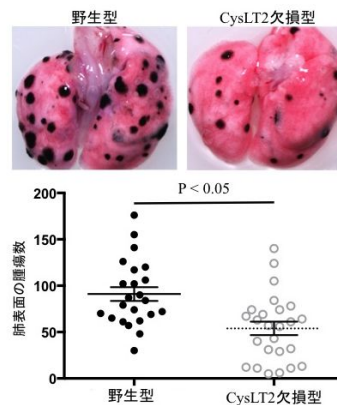


図3 B16F10細胞移入14日後の肺転移解析

2. 研究の目的

本研究の目的は、NK細胞におけるCysLT2の機能を明らかにし、NK細胞を標的としたがん免疫療法につながる新たな知見の提供を目指すことである。

3. 研究の方法

(1) 癌転移モデルマウスにおける CysLT2 の寄与

野生型(WT)マウスとCysLT2欠損マウスの癌転移モデルマウスにおける肺中のNK細胞数およびその表面抗原をFACSにて解析し、細胞障害性顆粒であるパーフォリンおよびグランザイムのmRNA発現量を解析した。

(2) NK細胞除去マウスの癌転移モデルマウスの解析

WTマウスとCysLT2欠損マウスに対してAnti-asialo GM1 serumを投与することによりNK細胞を除去し、B16F10細胞を移入し肺転移数を測定した。

(3) 骨髄移植モデルマウスの肺転移の解析

CysLT2はNK細胞以外に血管内皮細胞に高発現していることが報告されている。CysLT2欠損マウスの癌転移モデルにて肺転移が抑制される表現系が、血管内皮細胞のCysLT2が関与している可能性があるため、骨髄移植モデルにて上述と同様にB16F10細胞を移入し肺転移数を測定した。

(4) NK細胞の分離・培養

マウスNK細胞分離試薬を用いてマウス脾臓よりNK細胞を分離し培養した。

4. 研究成果

(1) CysLT2欠損癌転移モデルマウスの肺におけるNK細胞の割合やNK細胞の表面抗原の変動を認めなかったが、細胞障害性顆粒の発現量が増加することが示唆された(図4)。

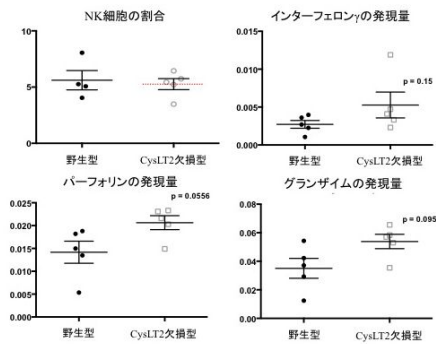


図4 B16F10細胞移入14日後の肺の解析

(2) NK細胞の除去によってCysLT2マウスの表現型が抑制され、CysLT2欠損マウスの表現型がNK細胞のCysLT2に関連していることが示唆された(図5)。

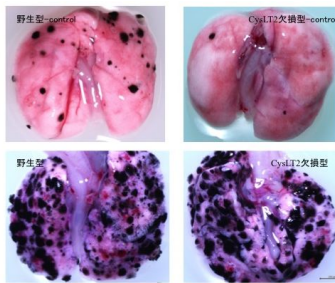


図5 NK細胞除去マウスの肺の解析

(3) 骨髄移植マウスでは、レシピエントおよびドナー側の CysLT2 欠損の有無にかかわらず、骨髄移植を行わないマウスと比較し肺転移が亢進しており、評価が困難であった。骨髄移植時の放射線照射による骨髄抑制・免疫低下の晩期障害が影響していると考えた。

(4) マウス脾臓より分離されたNK細胞を培養したが、分離したNK細胞の純度に各実験毎にばらつきがあり、培養3日にて80%以上の細胞のアポトーシスを認めた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計3件)

1) **Yanagida K, Igarashi H, Yasuda D, Kobayashi D, Ohto-Nakanishi T, Akahoshi N, Sekiba A, Toyoda T, Ishijima T, Nakai Y, Shojima N, Kubota N, Abe K, Kadowaki T, Ishii S, Shimizu T.**

The Gα12/13-coupled receptor LPA4 limits proper adipose tissue expansion and remodeling in diet-induced obesity. (査読あり)

JCI Insight, 3, 24 (2018)

2) **Igarashi H, Fukuda M, Nakata, A, Konno Y, Yamazaki M, Takano H.**

Teratoid cyst of the sublingual region: A case report (査読あり)

Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology, 30, 504-507 (2018)

3) Takeda A, Kobayashi D, Aoi K, Sasaki N, Sugiura Y, **Igarashi H**, Tohya K, Inoue A, Hata E, Akahoshi N, Hayasaka H, Kikuta J, Scandella E, Ludewig B, Ishii S, Aoki J, Suematsu M, Ishii M, Takeda K, Jalkanen S, Miyasaka M, Umemoto E.

Fibroblastic reticular cell-derived lysophosphatidic acid regulates confined intranodal T- cell motility. (査読あり)

Elife, 5, 10561 (2016)

〔学会発表〕(計2件)

1) **五十嵐秀光**、中田憲、鈴木昇建、下田悟士、鈴木兼一郎、福地峰世、今野泰典、山崎雅人、高野裕史、福田雅幸

頸部リンパ節転移を有する口腔扁平上皮癌患者の予後因子に関する臨床病理学的検討
日本口腔外科科学会、幕張、2018年、一般演題

2) **五十嵐秀光**、高野裕史、山崎雅人、桑島精一、中田憲、福田雅幸

造血機能におけるリゾホスファチジン酸受容体 LPA4 の機能解析
日本口腔科学会、福岡、2016年、一般演題

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。