

令和元年5月20日現在

機関番号：10107

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15633

研究課題名(和文) 腫瘍内環境におけるマクロファージを介した新規治療法の開発に向けた基礎的研究

研究課題名(英文) Fundamental research for the novel therapeutics through macrophage in the tumor environment

研究代表者

石橋 佳 (Ishibashi, Kei)

旭川医科大学・医学部・助教

研究者番号：80646076

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：癌細胞に対するマクロファージの攻撃性は培養細胞での実験によって確認された。また、癌細胞はマクロファージの攻撃から避けるためにCD47抗原を発現しているが、そのCD47の効果は無効化する抗CD47抗体を投与することによって、マクロファージの抗腫瘍効果を高めることができた。また、担癌マウスモデルにおいて、STING ligandを腫瘍に投与することによってマクロファージの腫瘍内への遊走を促すことを確認した。さらに抗CD47抗体によってマクロファージが腫瘍細胞の貪食を亢進させることができた。腫瘍細胞を貪食したマクロファージがリンパ球を活性化させる効果も確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

腫瘍細胞は体内で免疫細胞から逃げる術を身につけている。免疫細胞の一種であるマクロファージもCD47というタンパク質によってその効果を十分に発揮できていない。しかし、CD47を無効化する抗体を投与することで、マクロファージが腫瘍を攻撃する能力を高めることができた。さらにSTING ligandという免疫に関する物質を投与することで、腫瘍へマクロファージを集めることができた。今までリンパ球が主体であった癌免疫治療であるが、マクロファージの数と能力を高めることで、今後癌治療への応用が期待できると考えられる。

研究成果の概要(英文)：The aggressiveness of macrophages to cancer cells was confirmed by experiments in cultured cells. It has been suggested that cancer cells avoid attack from macrophages by expressing CD47 but administration of anti-CD47 antibody that abolishes the effect of CD47 could enhance the antitumor effect of macrophages. In addition, we confirmed that administration of STING ligand to tumors promotes migration of macrophages into tumors in tumor-bearing mouse models. Furthermore, anti-CD47 antibody was able to enhance macrophage phagocytosis of tumor cells. The effect of activating macrophages was also confirmed.

研究分野：腫瘍免疫

キーワード：免疫療法 マクロファージ

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

悪性腫瘍はその微小環境下で様々な手段を用いてその攻撃から逃れていることが知られている。マクロファージに対しても CD47 抗原によって食食を逃れていることが明らかとなった。このことから、腫瘍がマクロファージから逃れるすべとして用いている CD47 抗原を抗 CD47 抗体を用いて無効化することによって、マクロファージが腫瘍環境下で抗腫瘍活性をもつことができるかと推察される。

2. 研究の目的

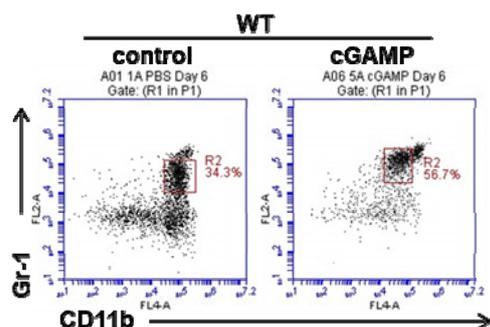
本研究では、マクロファージが腫瘍環境下で腫瘍を食食する能力を持ち得るか、抗 CD47 抗体によってその食食能は向上するか、さらに、腫瘍を食食したマクロファージはその MHC 抗原に腫瘍抗原を提示し、抗腫瘍活性を持つリンパ球を活性化することができるかを評価し、マクロファージを主軸とした新規免疫療法に関する基礎的研究を行うことを目的とした。

3. 研究の方法

In vitro で、腫瘍株と人末梢血から誘導したマクロファージを共培養することで、腫瘍細胞に対するマクロファージの食食能を調べる。食食能は腫瘍株とマクロファージを別々の蛍光色素で標識し、フローサイトメトリーを用いて評価する。さらに、抗 CD47 抗体を用いてその食食能が向上するかを確認する。

食食したマクロファージが腫瘍抗原をマクロファージの MHC 抗原に提示し、腫瘍特異的なリンパ球を刺激するかどうかを、別に誘導した腫瘍特異的なリンパ球と共培養し、IFN γ の分泌を ELISA 法を用いて評価する。

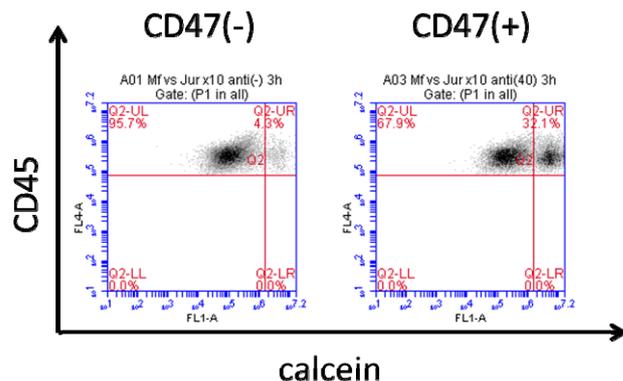
In vivo において、細胞株で評価したマクロファージの抗腫瘍効果を調べる。担癌マウスモデルで STING ligand の一つである cGAMP を腫瘍内投与することによって、マクロファージを腫瘍内へ遊走させる。これはすでに予備実験で確認されていることである。



マクロファージを遊走させた担癌マウスでの腫瘍のサイズを評価する。さらに、抗 CD47 抗体をマウスに投与し、腫瘍サイズの変化を見る。腫瘍食食したマクロファージがリンパ球を活性化するかを、腫瘍を食食したマクロファージに腫瘍特異的なリンパ球を別に誘導し、共培養することで評価する。

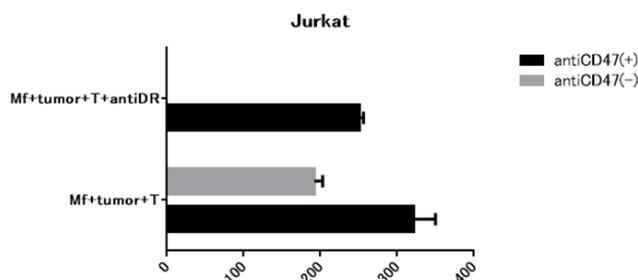
4. 研究成果

蛍光標識した腫瘍細胞を別の蛍光標識を施したマクロファージと共培養し、その後フローサイトメトリーによって、ダブルポジティブの細胞、つまり腫瘍を食食したマクロファージが存在することが確認された。さらに、CD47 抗体を加えた腫瘍細胞とマクロファージを共培養し、それをフローサイトメトリーで評価した。すると、抗 CD47 抗体を加えるよりダブルポジティブ細胞の割合は増加した。つまり、in vitro ではマクロファージは培養細胞を食食し、さらに抗 CD47 抗体によって、その食食能は向上することが示された。



一方で、腫瘍を貪食したマクロファージが腫瘍特異的なリンパ球を刺激しうるかの評価を試みたが、腫瘍特異的なリンパ球の誘導に困難があり、その評価までには至らなかった。腫瘍貪食マクロファージがリンパ球を活性化するためには、MHC 抗原型がリンパ球のもつ TCR と反応する必要があるため、リンパ球を誘導するための MHC 型に制限が加わることで、腫瘍特異的なリンパ球の誘導が困難であったことが推察される。

しかし、PBMC から誘導した CD4(+) リンパ球を腫瘍およびマクロファージとともに共培養したのち、IFN γ の分泌を評価すると、CD47 抗体を用いた場合でリンパ球の活性は高かった。これは、特異的なリンパ球の活性ではないが、マクロファージの MHC 抗原に提示された抗原を（何種類存在するかは不明だが）リンパ球が認識し、活性化されたものと考えられる。



次に、In vivo での評価を行った。担癌マウスモデルに、STING ligand (cGAMP) を腫瘍内投与することで、腫瘍内へのマクロファージの遊走が確認された。

さらに、抗 CD47 抗体をマウスに投与することで、腫瘍の縮小が認められた。そのことから、抗 CD47 抗体は生体内にあっても、マクロファージの腫瘍貪食能を活性化する効果を持つことが示された。

In vivo での腫瘍貪食マクロファージがリンパ球を活性化しうるかの評価は、in vitro の場合と同様に、腫瘍特異的なリンパ球の誘導に時間を要し、その評価までには至っていない。今後の課題として、腫瘍貪食マクロファージがリンパ球の抗腫瘍活性を上げる

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔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

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※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。