

平成 21 年 5 月 25 日現在

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2007～2008

課題番号：19590382

研究課題名 (和文) 腫瘍に対する免疫監視機構における DNAM-1 の機能の解明

研究課題名 (英文) Accelerated tumor growth in mice deficient in DNAM-1 receptor

研究代表者

田原 聡子 (TAHARA Satoko)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・助教

研究者番号：20360589

研究成果の概要：

DNAM-1 (CD226) は、細胞傷害性 T 細胞および NK 細胞などのキラーリンパ球に強く発現しており、腫瘍細胞などに発現するリガンド (CD155 および CD112) を認識して接着し腫瘍細胞に細胞傷害を誘導する。本研究では、腫瘍に対する免疫監視機構における DNAM-1 の機能を明らかにするため、DNAM-1 遺伝子欠損マウスを用いて腫瘍モデルを検討した。その結果、メチルコラントレン 25 μ g を皮下に接種すると DNAM-1 遺伝子欠損マウスでは腫瘍の発生率が亢進し、生存率が低下することを見出した。このことから、キラーリンパ球に発現する DNAM-1 は、腫瘍発生に対する免疫監視機構において重要な役割を有することを明らかにした。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：DNAM-1、CD226、CD155、CD112、免疫監視、腫瘍、メチルコラントレン、DMBA

1. 研究開始当初の背景

(1) DNAM-1 リガンドを発現した腫瘍をマウスに接種すると、キラーリンパ球に発現する DNAM-1 を介して腫瘍が拒絶されることを見出した。

(2) ヒト胃癌および大腸癌において DNAM-1 リガンドである CD112 の発現が約 3 倍亢進することを明らかにした。

2. 研究の目的

DNAM-1 リガンドは腫瘍化に伴い発現が亢進することから、DNAM-1 は腫瘍に対する免疫応答において重要な機能を有することが考えられる。本研究課題では、申請者が作製した DNAM-1 遺伝子欠損マウスを用いて腫瘍形成実験を行い、腫瘍に対する免疫応答における DNAM-1 の役割を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) メチルコラントレン投与による腫瘍形成誘発:

野生型または DNAM-1 遺伝子欠損マウスに化学癌誘発剤(メチルコラントレン:MCA) 25 を皮下に単回投与し、繊維芽肉腫の形成を経過観察した。本実験は 1 群 10 匹で計 3 回行った。

(2) DMBA 投与による腫瘍形成誘発:

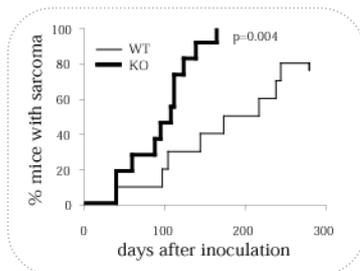
野生型または DNAM-1 遺伝子欠損マウスに MCA とは異なる化学癌誘発剤 (DMBA) 単独 400 μ g を単回投与し、パピローマの形成を経過観察した。本実験は 1 群 10 匹で計 3 回行った。

(3) DNAM-1 リガンドの発現量の解析:

上記 1 の MCA 投与を行い、繊維芽肉腫が直径 1cm に達した時点で肉腫を採取し、DNAM-1 リガンドである CD155 または CD112 の発現量を定量 PCR で解析した。

4. 研究成果

(1) DNAM-1 遺伝子欠損マウスでは、MCA 投与による肉腫形成が野生型マウスと比較して有意に亢進し、生存率が低下することを見出した。野生型マウスでは肉腫形成が MCA 投与後 100 日前後から観察されるのに対し、DNAM-1 遺伝子欠損マウスでは、MCA 投与後 50 日前後から観察された。また、野生型マウスでは、MCA 投与後 300 日後で約 40% のマウスが生存しているのに対し、DNAM-1 遺伝子欠損マウスでは、MCA 投与後 200 日で全例死亡した。



このことから、DNAM-1 は腫瘍に対する免疫監視機構に重要な働きを担うため、DNAM-1 が欠損すると腫瘍発生が亢進することが示唆された。

(2) DNAM-1 遺伝子欠損マウスでは、DMBA 投与によるパピローマ形成が亢進する結果を得た。野生型マウスでは DMBA 投与後 150 日で約 20% のマウスでパピローマ形成が観察されたが、DNAM-1 遺伝子欠損マウスでは DMBA 投与後 150 日で 100% のマウスでパピローマが形成された。このことより、DNAM-1 が癌の種類を問わず、生体内におけ

る発癌の免疫監視機構に重要な役割を担っていることが明らかとなった。

(3) MCA 投与による肉腫において、DNAM-1 リガンドである CD155 の発現を定量した結果、DNAM-1 遺伝子欠損マウスで発生した肉腫では CD155 の発現が亢進していることを見出した。このことから、腫瘍で発現が亢進する DNAM-1 リガンドを、キラーリンパ球に発現する DNAM-1 が認識して接着し、腫瘍に細胞傷害を誘導する結果、DNAM-1 リガンドの発現が高い腫瘍は生体から排除されることが示唆された。

本研究のインパクト:

腫瘍に対する免疫監視機構は未だ不明な点が多く、DNAM-1 は、単一膜受容体欠損で MCA 投与による生存率が亢進する分子として初めての報告である。本研究は、新規腫瘍免疫監視機構を明らかにした重要な研究である。

本研究の展望:

DNAM-1 リガンドは腫瘍化により発現が亢進し、これがキラーリンパ球の標的となることから、DNAM-1 リガンドは腫瘍に対する治療の標的分子となることが示唆された。近年、分子生物学の進歩により抗体医薬療法が試みられている。DNAM-1 リガンドを認識する抗体は、腫瘍に対する抗体医薬になりうる可能性を示した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 9 件)

1. Kurita N, Tahara-Hanaoka S (8人中6番目), et al. Identification of the Fc α / μ R isoform specifically expressed in the kidney tubule. *Mol Immunol*, 46: 749-753, 2009. 査読有
2. Iguchi-Manaka A, Kai H, Tahara-Hanaoka S (10人中5番目), et al. Brief Definitive Report. Accelerated tumor growth in mice deficient in DNAM-1 receptor. *J Exp Med*, 205: 2959-2964, 2008. 査読有
3. Nakano T, Tahara-Hanaoka S (8人中2番目), et al. Activation of neutrophils by a novel triggering immunoglobulin-like receptor MAIR-IV. *Mol Immunol*, 45:289-294, 2008. 査読有

4. Can I, Tahara-Hanaoka S (9人中2番目), et al. Caspase-independent cell death by CD300LF (MAIR-V), an inhibitory immunoglobulin-like receptor on myeloid cells. *J Immunol.* 180: 207-213, 2008. 査読有
 5. Can I, Tahara-Hanaoka S, Shibuya A. Expression of a splicing isoform of MAIR-V (CD300LF), an inhibitory immunoglobulin-like receptor on myeloid cells. *Hybridoma*, 27: 59-61, 2008. 査読有
 6. Wang Y, Shibuya K, Tahara-Hanaoka S (11人中10番目), et al. LFA-1 decreases the antigen dose for T cell activation in vivo. *Int Immunol.* 20:1119-27, 2008. 査読有
 7. Nakahashi C, Tahara-Hanaoka S (9人中2番目), et al. Dual assemblies of an activating immune receptor, MAIR-II, with ITAM-bearing adapters DAP12 and FcR γ chain on peritoneal macrophages. *J Immunol*, 178:765-70, 2007. 査読有
 8. Wang Y, Tahara-Hanaoka S (8人中5番目), et al. A critical role of LFA-1 in the development of Th17 cells and induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Biochem Biophys Res Commun.* 23;353(4):857-862. 2007 査読有
 9. Kim DK, Tahara-Hanaoka S, Shinohara N, Nakauchi H. A human mutant CD4 molecule resistant to HIV-1 binding restores helper T-lymphocyte functions in murine CD4-deficient mice. *Exp Mol Med.* 28; 39(1):1-7. 2007 査読有
- [学会発表] (計 24件)
- 1, Tahara-Hanaoka S et al. Identification and characterization of a novel inhibitory immunoglobulin-like receptor, MBIR. 第38回日本免疫学会総会. 2008年12月2日. 京都
 - 2, Iguchi A et al. Accelerated tumor growth in mice deficient in DNAM-1 (CD226) receptor. 第38回日本免疫学会総会. 2008年12月1日. 京都
 - 3, Totsuka N et al. MAIR-II (CD300d) amplifies TLRs-mediated inflammation and is crucial mediator of murine sepsis model. 第38回日本免疫学会. 2008年12月2日. 京都
 - 4, Kurita N et al. Negative regulation of IgA production by the Fc α / μ R, an Fc receptor for IgA and IgM. 第38回日本免疫学会. 2008年12月2日. 京都
 - 5, Honda S et al. Increased anti-PC natural IgM production and resistance against *Streptococcus pneumoniae* infection in mice deficient in Fc α /mR, an Fc receptor for IgA and IgM. 第38回日本免疫学会. 2008年12月2日. 京都
 - 6, Nabekura T et al. Involvement of DNAM-1 (CD226) in development of graft-versus-host disease. 第38回日本免疫学会. 2008年12月3日. 京都
 - 7, Nakahashi-Oda C et al. Prolonged survival of MAIR-I (CD300a)-deficient mice from acute septic peritonitis. 第38回日本免疫学会. 2008年12月3日. 京都
 - 8, Yamashita Y et al. A novel role of CD155 as a co-stimulatory molecule

- on CD4+ helper T cells in mice.
第 38 回 日本免疫学会.
2008 年 12 月 3 日. 京都.
- 9, Kurita N et al, Negative regulation of IgA production by the Fc receptor, an Fc receptor for IgA and IgM. 第3回JSI-RCAI 免疫ワークショップ. 2008年3月14日. 理化学研究所・横浜研究所
 - 10, Nakano T et al, Activation of neutrophils by a novel triggering immunoglobulin-like receptor, MAIR-IV. Keystone Symposia. Keystone, USA. 2008 年2月25日
 - 11, Kai H et al, ヘルパーT細胞免疫応答におけるDNAM-1の役割. KTCC. 2007.6.16. 京都.
 - 12, Can I et al, ITIMを持つ免疫受容体 MAIR-Vの機能解析. 第 69 回 日本血液学会. 2007.10.12. 神奈川.
 - 13, Nakano T et al, 好中球の活性化を制御する新規ペア型受容体MAIR-IV. 第 69 回 日本血液学会. 2007.10.12. 神奈川.
 - 14, Honda S. et al, IgM suppresses humoral immune responses against T-independent antigens via the Fc α / μ R. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 15, Can I et al. Caspase-independent cell death by MAIR-V (CD300LF) immunoglobulin-like receptor on myeloid cells. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 16, Iguchi A et al, A critical role of DNAM-1 in tumor immunosurveillance. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 17, Usui K et al, Analysis for the variants of Fc α μ R, a novel Fc receptor for IgA and IgM, expressed in the kidney and testis. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 18, Kurita N et al, Negative regulation of IgA production by the Fc α /mR, an Fc receptor for IgA and IgM. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 19, Shibata K et al, A critical role of LFA-1 in the development of Th17 cells and induction of experimental autoimmune encephalomyelitis. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 20, Kai H et al, Critical role of DNAM-1 (CD226) in the development of Th1 cells. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 21, Nakano T et al, A novel triggering neutrophil receptor, MAIR-IV, transduces activating signal via FcR γ -independent as well as dependent pathways. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 22, Nakahashi-Oda C et al, ITIM-bearing Immunoglobulin-like receptor, MAIR-I (CD300a) modulates the inflammatory responses in murine sepsis. 第 37 回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京.
 - 23, Cho Y et al, Molecular characterization of Fc α / μ R, a novel Fc receptor for IgA and IgM. 第37回 日本免疫学会総会・学術集会. 2007.11.20-22. 東京
- [図書] (計 1 件)
1. 田原聡子、渋谷 彰, 改訂版「抗体実験マニュアル」, 羊土社, 実験医学別冊, 161-167, (2008)

〔その他〕

研究室 HP :

<http://www.md.tsukuba.ac.jp/basic-med/immunology/immunol.index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

田原 聡子 (TAHARA SATOKO)

筑波大学・大学院人間総合科学研究科・
助教

研究者番号 : 20360589

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし