

令和 5 年 5 月 8 日現在

機関番号：14401
研究種目：基盤研究(B)（一般）
研究期間：2019～2021
課題番号：19H04049
研究課題名（和文）脂肪酸代謝から解き明かす骨髄由来免疫抑制細胞の制御メカニズムとがん治療への応用

研究課題名（英文）Elucidation of the regulatory mechanisms myeloid-derived suppressor cells by lipid metabolism and its application to cancer therapy

研究代表者
立花 雅史（Tachibana, Masashi）

大阪大学・大学院薬学研究科・特任准教授（常勤）

研究者番号：80513449
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,500,000円

研究成果の概要（和文）：骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）は抗がん免疫系を抑制することでがんの増悪化を促進する。我々は、飽和脂肪酸であるパルミチン酸がMDSCの免疫抑制機能を減弱させることを明らかにしており、この減弱には脂肪酸取り込みトランスポーターであるCD36が重要であることを見出した。また、パルミチン酸をリガンドとする自然免疫受容体であるTLR2やTLR4のノックアウト（KO）マウスを用いた解析から、これらの分子の関与はないことを明らかにした。すなわち、細胞表面受容体（TLR2およびTLR4）からのシグナルではなく、細胞内へのパルミチン酸の取り込みが、MDSCの免疫抑制機能の減弱には重要であることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究課題では、パルミチン酸の摂取によって、生体内免疫環境が抑制状態から活性化へと転換され、抗腫瘍効果に繋がる可能性を示している。これまでに、がん移植モデルマウスにおいて脂肪酸の摂食によるがん退縮効果が報告された例はなく、患者の栄養状態によってがんの進行速度や、がん治療薬の効果が変化することを示唆する興味深い知見である。本研究結果により、脂肪酸の重要性を明らかにすることができれば、治療薬としての脂肪酸の研究や、血中脂肪酸の量や種類に基づいた、免疫チェックポイント阻害療法の治療効果を規定するバイオマーカーとしての可能性を究明するための研究が発展していくと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) suppress anti-tumor immunity, which aggravates tumor progression. We found that a saturated fatty acid, palmitic acid (PA), attenuates immunosuppressive function of MDSCs through a fatty acid transporter, CD36, but not toll-like receptor (TLR)2 and TLR4. Taken together, PA uptake plays important roles in the attenuation of immunosuppressive function of MDSCs.

研究分野：腫瘍免疫学

キーワード：MDSC パルミチン酸 がん免疫

1. 研究開始当初の背景

我が国における死因の第一位は悪性新生物(がん)である。現在、免疫チェックポイント阻害療法による劇的ながん退縮効果が多数報告されていることから、がん治療における免疫系の重要性が再認識され、免疫抑制機構を解除することが重要であると考えられている。

骨髄由来免疫抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cell; MDSC)はがんや炎症病態下で増加する骨髄系の細胞群であり、担がん病態下では抗がん免疫応答を抑制していることから、免疫チェックポイント細胞と呼べる細胞である。実際に、担がんマウスにおいてMDSCを除去すると、がんの退縮が認められることから、MDSCをターゲットとした治療法は効果的ながん免疫療法となることが期待されている。また、免疫チェックポイント阻害療法(抗PD-1抗体)の無効症例ではMDSCが多く存在しているとの報告がなされていることから、MDSCは抗PD-1抗体の作用点とは異なるメカニズムにより、がんの増悪化を促進していると言える。すなわち、MDSCをターゲットとした治療法と抗PD-1抗体との併用は、より強力ながん免疫療法となると考えられることから、MDSCの分化・増殖・機能発現における分子メカニズムを明らかにすることは喫緊の課題である。

2. 研究の目的

近年、様々な脂肪酸が免疫細胞に対して、多様な生理活性を発揮することが明らかになってきている。我々はこれまでに、MDSC分化誘導系を用いて、種々の脂肪酸がMDSC分化に与える影響について検討してきた。その結果、検討した飽和脂肪酸4種と不飽和脂肪酸5種のうち、飽和脂肪酸であるパルミチン酸(炭素数16)とステアリン酸(炭素数18)が抑制性免疫細胞であるMDSCへの分化を阻害し、免疫活性化細胞である樹状細胞(Dendritic cell; DC)への分化を促進することを明らかにしている。また一方で、炭素数が14の飽和脂肪酸であるミスチン酸や炭素数20のアラキジン酸ではDCへの分化促進効果は認められなかったことから、炭素数が16か18の飽和脂肪酸によってのみMDSC分化が阻害される可能性が考えられた。さらに、ステアリン酸添加により分化誘導したMDSCではT細胞増殖抑制能の変化は認められなかった一方で、パルミチン酸添加により分化誘導したMDSCではT細胞増殖抑制能が減弱していた。すなわち、パルミチン酸によってのみMDSC分化が阻害されることが明らかになった。以上を踏まえて、生体内においてパルミチン酸によるMDSC分化阻害を再現できれば抗がん免疫応答を活性化できるのではないかと考え、マウスにパルミチン酸を多く含む飼料(パルミチン酸飼料; 通常飼料の約4倍のパルミチン酸を含む)を摂食させることで、がんの進展が阻害されるかどうかを検討した。その結果、パルミチン酸飼料摂食群において、有意にがんの進展が阻害されることを見出した。なお、免疫不全マウス(*Rag2^{-/-}/Il2rg^{-/-}*)を用いて同様の検討を行ったところ、パルミチン酸飼料によるがん進展阻害効果は認められなかったことから、このがん進展阻害効果には免疫系が必須であることが明らかになった。また、パルミチン酸の直接的ながん細胞への殺細胞効果は弱いことも明らかになった。以上のことから、パルミチン酸の摂取によって、生体内免疫環境が抑制状態から活性化へと転換され、抗腫瘍効果に繋がる可能性が示された。以上のことから、パルミチン酸に基づくMDSC分化メカニズムの解明と新規がん治療法の開発を目指すこととした。

3. 研究の方法

マウス骨髄細胞をGM-CSFで4日間培養することでMDSCを分化誘導することができる。*in vitro*の実験は本MDSC分化誘導系を用いて実施する。

<脂肪酸受容体の関与の解明>

パルミチン酸の受容体として知られているTLR2/TLR4のアンタゴニストであるSsnB(Sparstolonin B)添加により、パルミチン酸の作用が部分的に阻害されることを明らかにしている。さらに、TLR4ノックアウト(KO)マウスの骨髄細胞からMDSCを分化誘導したところ、野生型マウスと同様にパルミチン酸の作用が認められたことから、TLR2が重要であると考察された。そこで、TLR2 KOマウスを用い同様の検討を行うことで、TLR2の関与について明らかにする。

また、TLR2リガンドとして以前より知られているリポタイコ酸やPam₃CSK₄を用い、パルミチン酸と同様の作用が認められるかどうかを明らかにし、TLR2を介したMDSC/DC分化制御作用がパルミチン酸特異的かを明らかにする。

<脂肪酸トランスポーターの関与の解明>

脂肪酸取り込みトランスポーターとして知られているCD36の阻害剤であるSSO(Sulfosuccinimidyl oleate)を用いた検討により、脂肪酸の取り込み過程が必須であることを見出

している。そこで CD36 KO マウスを用い、MDSC を分化誘導しパルミチン酸の作用が認められるかを明らかにする。

<網羅的遺伝子発現解析>

パルミチン酸添加によって変動する遺伝子発現プロファイルを RNA-seq 解析により明らかにし、MDSC 分化に重要な因子・パスウェイの探索を行う。

<抗 PD-1 抗体との併用療法>

抗 PD-1 抗体治療に抵抗性がある B16-F10 担がんマウスに抗 PD-1 抗体を腹腔内投与し、パルミチン酸飼料摂食との併用効果について評価する。

4. 研究成果

<脂肪酸受容体の関与の解明>

TLR2 リガンドであるリポタイコ酸や Pam₃CSK₄ の添加では、MDSC/DC 分化制御作用は認められなかった。また、TLR2 KO マウスの骨髄細胞から MDSC を分化誘導したところ、パルミチン酸添加により MDSC の T 細胞増殖抑制能の減弱が認められた。以上のことから、パルミチン酸による MDSC の T 細胞増殖抑制能の減弱作用に、TLR2 は関与しないことが明らかとなった。

<脂肪酸トランスポーターの関与の解明>

CD36 KO マウスの骨髄細胞から MDSC を分化誘導したところ、パルミチン酸添加により MDSC の T 細胞増殖抑制能の減弱が消失した。このことから、パルミチン酸による MDSC の T 細胞増殖抑制能の減弱に、CD36 が重要な機能を発揮することが明らかとなった。

<網羅的遺伝子発現解析>

RNA-seq 解析から、パルミチン酸添加による遺伝子発現プロファイル変動はわずかであることを明らかにした(図)。さらに、MDSC の T 細胞増殖抑制能減弱に関わるいくつかの候補パスウェイを見出した。

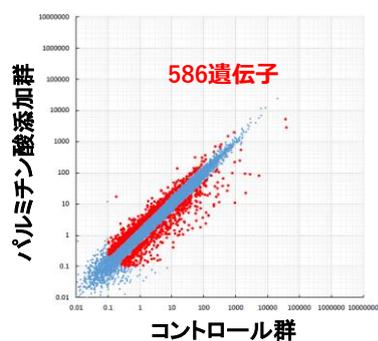


図. RNA-seq 解析結果

<抗 PD-1 抗体との併用療法>

パルミチン酸飼料摂食、あるいは抗 PD-1 抗体投与単独と比較して、併用群ではわずかではあるが有意な腫瘍進展阻害効果が認められた。

以上のことから、パルミチン酸は骨髄細胞の中に取り込まれることで、MDSC への分化が阻害される可能性を明らかにした。今後、より詳細な分子メカニズムを解明していくことで、新規がん免疫療法の開発に繋げていく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 立花雅史	4. 巻 4
2. 論文標題 パルミチン酸による骨髄由来免疫抑制細胞分化阻害と抗がん免疫応答の活性化	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 71-3
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Xie Zhiqi, Ikegami Tamami, Ago Yukio, Okada Naoki, Tachibana Masashi	4. 巻 9
2. 論文標題 Valproic acid attenuates CCR2-dependent tumor infiltration of monocytic myeloid-derived suppressor cells, limiting tumor progression	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 OncoImmunology	6. 最初と最後の頁 1734268 ~ 1734268
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/2162402X.2020.1734268	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 立花雅史	4. 巻 46
2. 論文標題 パルミチン酸による骨髄由来免疫抑制細胞分化制御とがん治療への応用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Medical Science Digest	6. 最初と最後の頁 40-41
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 謝智奇、池上珠未、吾郷由希夫、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 バルプロ酸が骨髄由来免疫抑制細胞に作用し抗PD-1抗体の効果を向上させる
3. 学会等名 日本薬剤学会第35年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 謝智奇、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 パルプロ酸によるエピジェネティックな制御は単球様骨髄由来免疫抑制細胞の腫瘍への移行を妨げる
3. 学会等名 第79回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 周浩洋、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 Ly-6G+細胞除去によるin vitro MDSC分化誘導効率の向上
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 謝智奇、池上珠未、吾郷由希夫、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 担がん病態におけるパルプロ酸の免疫機能修飾についての検討
3. 学会等名 第26回日本免疫毒性学会学術年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 池上珠未、吾郷由希夫、塚田信司、谷林耕平、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 骨髄系細胞によるがん随伴うつ発症に関する解析
3. 学会等名 第3回がん代謝研究会・若手の会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Masashi Tachibana, Koji Kobiyama, Ken J. Ishii, Shizuo Akira, Fuminori Sakurai
2. 発表標題 Inhibition of myeloid-derived suppressor cell differentiation by palmitic acid
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Zhiqi Xie, Tamami Ikegami, Naoki Okada, and Masashi Tachibana
2. 発表標題 Valproic acid attenuates myeloid-derived suppressor cells and enhances anti-PD-1 therapy response
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tamami Ikegami, Naoki Okada, Masashi Tachibana
2. 発表標題 Contribution of myeloid-derived suppressor cells to onset of cancer-induced depression
3. 学会等名 第48回日本免疫学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 立花雅史, 渡邊伸昌, 幸田裕造, 大屋有佳子, 神沼修, 形山和史, 范子非, 櫻井文教, 川端健二, 廣井隆親, 水口裕之
2. 発表標題 IL-10/IL-17A欠損腸炎モデルにおける骨髄由来免疫抑制細胞と一酸化窒素の機能解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 謝智奇、池上珠未、吾郷由希夫、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 パルプ口酸による腫瘍内単球様骨髄由来免疫抑制細胞の減少と抗PD-1抗体療法の有効性向上
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 池上珠未、吾郷由希夫、塚田信司、谷林耕平、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 うつ病における骨髄由来免疫抑制細胞の寄与に関する解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 川崎太寛、奥崎大介、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 G-CSF刺激を与えた骨髄由来免疫抑制細胞における免疫抑制能増強メカニズムの解析
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 周浩洋、謝智奇、川崎太寛、岡田直貴、立花雅史
2. 発表標題 パルミチン酸によるToll-like receptor 2を介した骨髄由来免疫抑制細胞の分化阻害
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

大阪大学大学院薬学研究科 ワクチン・免疫制御学プロジェクト
https://vacreg.wixsite.com/vaccine-regulation

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	小山 正平 (Koyama Shohei) (80767559)	大阪大学・医学系研究科・特任助教 (14401)	
研究分担者	原田 和生 (Harada Kazuo) (50397741)	大阪大学・医学系研究科・特任准教授(常勤) (14401)	削除：2020年1月7日

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------