

令和 4 年 5 月 8 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16688

研究課題名(和文) 筋肉と骨のクロストークが生み出す免疫制御機構の解明

研究課題名(英文) Elucidate the immune modulation mechanism of muscle and bone.

研究代表者

南川 淳隆 (Minagawa, Atsutaka)

京都大学・iPS細胞研究所・特定研究員

研究者番号：90838822

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：運動は、個体の体内での免疫細胞動態を変化させる可能性がある事が示唆されており、運動と免疫の関連を研究する事で、新たな免疫治療のターゲットを探索出来ると考えられる。本研究では、担癌マウスモデルにおいて、運動併用による免疫細胞療法の効果への影響を解析する事で、細胞動態の調整メカニズムの探索を行った。

運動により、腫瘍増大が抑制される実験系を構築することに成功し、長時間の持続的な運動より、インターバルを挟んで短時間運動を複数回させる方がより効果が高い事が示唆された。さらに、筋肉の電気刺激によっても、腫瘍位置によっては、腫瘍抑制効果を観察出来る事が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の結果は、養子免疫療法において、運動等の外的刺激により、治療効果を改善する事が可能である事を意味しており、今後の免疫療法における新しい介入手段となる事が期待出来る。薬剤ではない、新しい手法であるため、既存の治療法との併用が容易である。

研究成果の概要(英文)：It has been suggested that exercise may change the immune cell dynamics in an individual's body, and it is thought that by studying the relationship between exercise and immunity, new immunotherapeutic targets can be explored. In this study, we investigated the regulatory mechanism of cell dynamics by analyzing the effect of combined exercise on the effect of immuno-cell therapy in a cancer-bearing mouse model. We succeeded in constructing an experimental system in which tumor growth is suppressed by exercise, and it was suggested that it is more effective to exercise for a short period of time multiple times with an interval than for long-term continuous exercise. Furthermore, it was confirmed that the tumor suppressive effect can be observed depending on the tumor position even by electrical stimulation of the muscle.

研究分野：免疫学

キーワード：運動 免疫 免疫細胞療法

1. 研究開始当初の背景

運動による、全身の免疫状態の変化は、免疫細胞の体内での活性化状態、分布に大きく影響を与えている事が予想されている。運動量の減少は、老化による発癌率の上昇の一因とも考えられており、運動、免疫、老化の関連について研究する事で、それらのコントロール方法の開発になると考えられる。

本研究では、運動の何が免疫細胞に作用しているかのメカニズムを探索し、運動の代替刺激を開発する事で、免疫細胞の体内での状態、分布をコントロールする新しい手法の開発を目指した。

2. 研究の目的

近年、癌に対する各種の免疫療法の開発、臨床試験が振興している。現行の免疫療法は主に2種類のメカニズムを利用している。一つは、Programmed Cell Death (PD-1)やCTLA-4といった、細胞性免疫の抑制機構をターゲットとして、癌による免疫抑制を解除する事で、免疫細胞の活性化を図るものであり、もう一つはCARやTCRの遺伝子導入に代表される、癌をターゲットとする免疫細胞を作り出し、増殖させて投与する免疫細胞療法である。

これらの治療法は、癌に対して非常に有効であり、今後も開発は進んでいくと考えられる。しかし、免疫抑制解除戦略については、そもそも患者体内の抗癌免疫細胞が少ない場合は効きづらく、また副作用として自己免疫細胞の活性化がおこり、肺、大腸、肝臓、甲状腺など各所の炎症が起こりやすい。免疫細胞療法についても、個別の細胞調製が必要であり、また使用前処置として免疫抑制処置が必須のため患者負担が大きく、頻回には使えないという問題がある。また、両者に共通の問題として、現在のところは薬価が非常に高いという点も挙げられる。そしてなにより、今後の高齢化社会において求められる癌予防には両者とも利用できない。癌免疫療法だけでなく、癌の予防、リスク診断にも利用でき、また簡便かつ安全に免疫細胞の活性化や体内での生存を促す、新規の免疫活性化メカニズムの探索が求められている。そこで、私が着目しているのが、運動による免疫活性調整機構である。

人類は、ほ乳類、類人猿の中でも長時間の運動に適した骨格、代謝機能を持つ動物である事が知られている。長距離の移動が可能であり、筋力、体格でははるかに劣る獲物を集団で時間をかけて追い、狩猟出来た事が、人類の繁栄に繋がっている。体毛が薄く、全身から汗をかけるため、熱効率が良い事も人類が長時間運動出来るように進化した事の一つの証拠であろう。長距離の運動、移動は、新しい環境、未知の抗原との接触を引き起こすため、人類の進化による運動量の増加と免疫細胞機能の増強、進化は密接に関連していると予想され、研究が進められている。近年になり、運動が免疫機能に及ぼす好影響が報告されてきている。癌統計においても定期的な運動習慣を持つ人は、癌発症リスクが低く、また癌患者では治療後の予後が良い事が知られている。癌細胞を移植した実験動物での研究においても、適量の運動は癌の進展を抑制する事が報告されており、免疫細胞の活性化機構が存在すると考えられるが、詳細は解明されていない(Pederson et al. Cell Metabolism 2016)。

そこで本研究では、まず運動を介したT細胞の活性化、担癌マウスモデルでの運動によるが

ん細胞サイズの推移をマウスにおいて解析し、新規の免疫活性化メカニズムの解明、活性化の指標となるマーカー探索を行うことを目指した。運動の代替刺激の探索が最終的な目的である。

3. 研究の方法

運動負荷の有無で群分けした NSG マウスまたは C57BL/6 マウスに、OVA-EG7 細胞(OVA 発現胸腺腫瘍細胞株)を皮下移植し、運動負荷群とコントロール群、尾部懸垂による後肢萎縮群に分け、OT1 マウス(OVA 特異的 TCR とランスジェニックマウス)より採取した CD8T 細胞を静脈投与し、腫瘍進展、移植 T 細胞をモニタリングした。また、投与後の T 細胞の分布、機能を解析し、運動による CD8T 細胞の活性化の機序の探索、効果指標となるマーカーの探索を行った。

4. 研究成果

NSG マウスを、通常飼育群、ランニングホイール付きのケージ飼育群、尾部懸垂による行動制限群の 3 群に分け、OVA 発現腫瘍、EG7-OVA の皮下投与を行った。投与 9 日目に OT-1 マウス CD8T 細胞を採取し投与を行った。

図1 OT1マウスのCD8T細胞移入実験

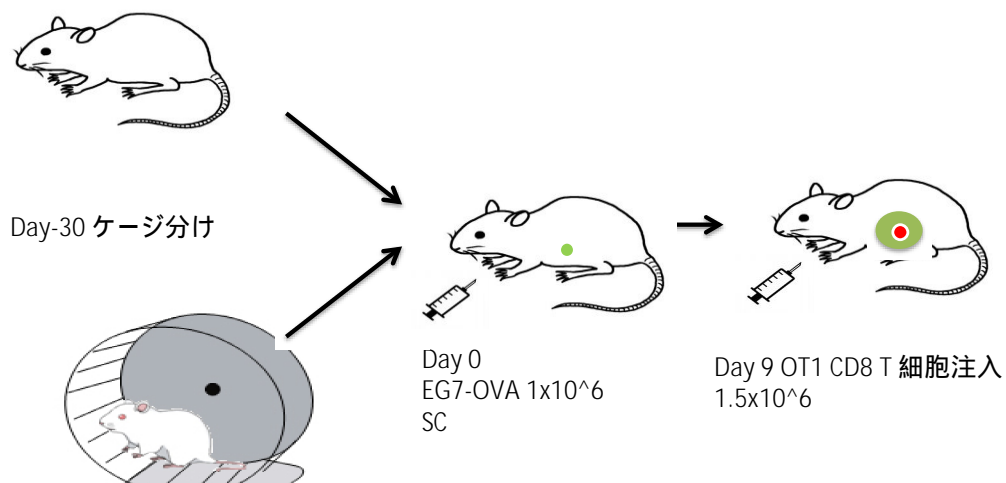
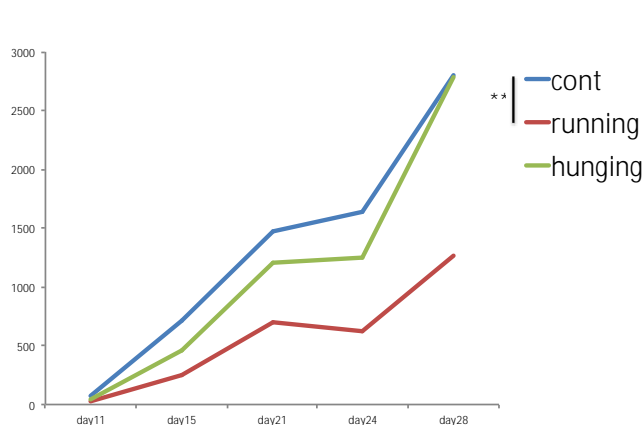


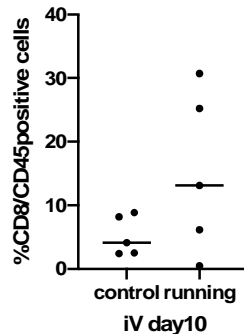
図2 皮下固形腫瘍、腫瘍サイズの推移



ランニングホイール群では、安定した運動を行っている事が確認され、腫瘍サイズの増大が有意に抑制される事が分かった(図2)。

また、CD8T 細胞投与後、10 日目の採血では、ホイール群において抹消血中の OT-1T 細胞数が増加する傾向を認めた。

図3 末梢血中、OT1 CD8 T細胞/CD45 細胞の割合



抹消血 T 細胞の表面マーカー発現の解析を行ったが、ランニング群とコントロール群において明らかな差を検出出来なかった。次に、運動の効果は持続するものなのかを検証する為に、ホイール運動を 4 週間行った OT-1 マウスの CD8T 細胞と、運動していない OT-1CD8T 細胞の抗腫瘍効果の比較を行った。

図4 RunマウスからのT細胞移植

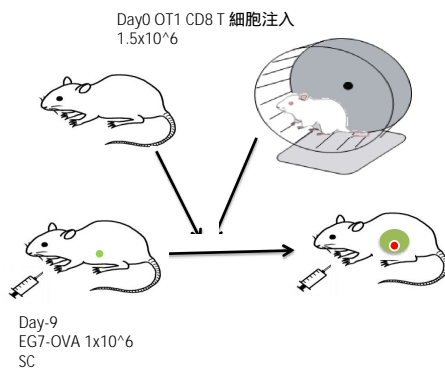
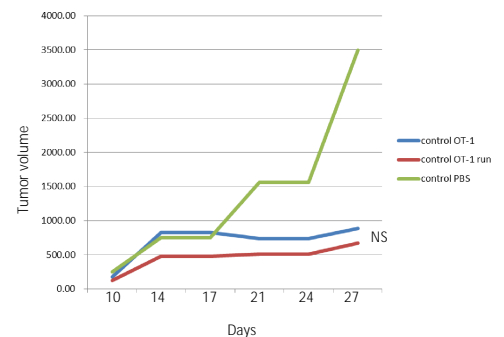


図5



この検証では、コントロール、運動群に有意差を認めず、運動による刺激自体が、免疫細胞の機能に影響する事が示唆された。

OT-1T 細胞の移植による免疫細胞療法モデルにおいて、自由運動が腫瘍増大を抑制する実験系を確立した。本実験では、抹消血中の T 細胞機能の変化は検出出来なかったが、抹消血での OT-1T 細胞の検出数が増える傾向にあり、体内での細胞分布が変化している事が考えられた。また、運動による変化は、レシピエント側の運動によって起こる事が示唆され、運動の癌免疫に対する活性化は、主に細胞の体内動態変化による事が考えられた。

これらの事から、次の実験として、運動を模倣した外部刺激の探索を現在進めている所である。

1 A Clinically applicable and scalable method to regenerate T cells from iPSCs for off the shelf T cell immunotherapy *Nature Communications* 12 430 2021 S Iriguchi et al.

2 Capturing Human Trophoblast Development with Naïve Pluripotent Stem Cells in Vitro: *Cell Stem Cell* 21 s1934-5909 2021 S Io et al.

3 Generation of hypoimmunogenic T cells genetically engineered allogeneic human induced pluripotent cells: *Nature Biomedical Engineering* 5 429-440 2021 Bo Wang et al.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Iriguchi Shoichi, Yasui Yutaka, Kawai Yohei, Arima Suguru, Kunitomo Mihoko, Sato Takayuki, Ueda Tatsuki, Minagawa Atsutaka, Mishima Yuta, Yanagawa Nariaki, Baba Yuji, Miyake Yasuyuki, Nakayama Kazuhide, Takiguchi Maiko, Shinohara Tokuyuki, Nakatsura Tetsuya, Yasukawa Masaki, Kassai Yoshiaki, Hayashi Akira, Kaneko Shin	4. 巻 12
2. 論文標題 A clinically applicable and scalable method to regenerate T-cells from iPSCs for off-the-shelf T-cell immunotherapy	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-020-20658-3	査読の有無 有
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 S Ito M Kabata Y Lemura N Morone A Minagawa B Wong I Okamoto T Nakamura Y Kojima C Iwatani H Tsuchiya B Kawswandy E Kondoh S Kaneko K Woltjen M Saitou T Yamanoto M Mandai Y Takashima	4. 巻 21
2. 論文標題 Capturing human trophoblast development with naive pluripotent stem cells in vitro	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cell Stem Cell	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stem.2021.03.013.	査読の有無 有
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 Wang Bo, Iriguchi Shoichi, Waseda Masazumi, Ueda Norihiro, Ueda Tatsuki, Xu Huaigeng, Minagawa Atsutaka, Ishikawa Akihiro, Yano Hisashi, Ishi Tomoko, Ito Ryoji, Goto Motohito, Takahashi Riichi, Uemura Yasushi, Hotta Akitsu, Kaneko Shin	4. 巻 5
2. 論文標題 Generation of hypoinmunogenic T cells from genetically engineered allogeneic human induced pluripotent stem cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Biomedical Engineering	6. 最初と最後の頁 429 ~ 440
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41551-021-00730-z	査読の有無 有
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 Ito Takeshi, Kawai Yohei, Yasui Yutaka, Iriguchi Shoichi, Minagawa Atsutaka, Ishii Tomoko, Miyoshi Hiroyuki, Taketo M. Mark, Kawada Kenji, Obama Kazutaka, Sakai Yoshiharu, Kaneko Shin	4. 巻 4
2. 論文標題 The therapeutic potential of multiclonal tumoricidal T cells derived from tumor infiltrating lymphocyte-derived iPS cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Communications Biology	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s42003-021-02195-x	査読の有無 有
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 Minagawa Atsutaka, Kaneko Shin	4. 巻 1
2. 論文標題 Differentiating CD8 T Cells from TCR-Transduced iPSCs for Cancer Immunotherapy	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Method Mol Biol	6. 最初と最後の頁 81 ~ 84
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-4939-9728-2_9	査読の有無 有
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1件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 南川淳隆
2. 発表標題 iPS細胞を利用した腫瘍免疫療法
3. 学会等名 日本生殖免疫学会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------