

機関番号：83901

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20591190

研究課題名 (和文) ヒト NKT サブセットのアジュバント効果を応用した Th17 応答制御法の開発

研究課題名 (英文) Research and development for regulating the Th17 responses by utilizing the adjuvant properties of human natural killer T cell subsets.

研究代表者

植村 靖史 (UEMURA YASUSHI)

愛知県がんセンター (研究所)・腫瘍免疫学部・主任研究員

研究者番号：40364781

研究成果の概要 (和文) : CD1d 拘束性のインバリエント NKT 細胞は、自己免疫疾患や感染症、腫瘍免疫応答に重要な役割を演じている。しかしながら NKT 細胞のもつ詳細な免疫制御機構は未だ解明されていない。本研究は、NKT 細胞を活性化することにより、樹状細胞における IL-12p70 産生が増強し、その一方で IL-23 産生が抑制される。これに起因してメモリーCD4+T 細胞における IL-17 産生を抑制することを明らかにした。このことは、NKT 細胞が IL-12p70 誘導性の細胞性免疫応答を促進するとともに IL-23 依存性の炎症性病態を抑制することを示唆する重要な観察である。

研究成果の概要 (英文) : CD1d-restricted invariant NKT cells play crucial roles of immune responses, infectious diseases and tumor surveillance. However, the mechanisms by which NKT cells exert immune regulatory function remain elusive. In this study, we found that the activation of human NKT cells enhances IL-12p70 while inhibiting the IL-23 production by dendritic cells, in turn down-regulating the IL-17 production by memory CD4+ Th cells. This finding suggests that NKT cells modify the IL-12p70/IL-23 balance to enhance the cell-mediated immunity and suppress the IL-23-dependent inflammatory pathologies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	500,000	150,000	650,000
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：内科系臨床医学

キーワード：自己免疫疾患 がん 免疫 NKT 細胞 樹状細胞

1. 研究開始当初の背景

- ①. 最近、IL-17 を産生する T helper 17 (Th17) 細胞が多く自己免疫疾患の病因・病態、およびがんの進行に深く関与することが明らかにされている。
- ②. ナチュラルキラーT (NKT) 細胞は、自己免疫応答を抑制する。ところが、その

一方でがんに対する免疫応答を増強するアジュバントとして作用することが知られている。これら免疫応答抑制と免疫応答増強という 2 つの矛盾するメカニズムは明らかにされていない。

- ③. 我々は最近、ヒト NKT 細胞と樹状細胞 (DC) の相互作用により Th 応答が制御

されうることを見い出している。

2. 研究の目的

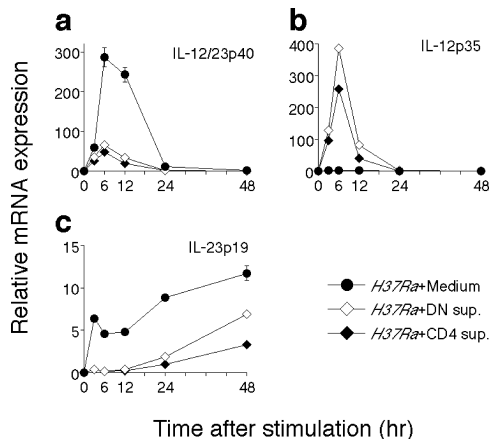
- ①. 自己免疫疾患の成因、およびがんの進行に深く関与することが最近明らかにされた Th17 応答が、NKT 細胞と DC の相互作用によって制御されるメカニズムを明らかにする。
- ②. NKT サブセットに特異的に発現し、免疫制御効果を誘導しうる重要な分子を同定し、これら機能的分子をターゲットとすることで自己免疫疾患およびがんを人為的に制御するための分子基盤を構築する。

3. 研究の方法

- ①. ヒト NKT 細胞の代表的なサブセットを精製分離する。これが DC に賦与する機能的修飾を共培養系により明らかにする。
- ②. NKT 細胞のアジュバント効果は、共培養した DC の成熟状態、サイトカイン産生性、Th 応答に及ぼす影響を評価することにより明らかにする。
- ③. Th17 応答を制御しうる分子を探索し、これを同定して、自己免疫疾患、あるいは腫瘍免疫応答制御への有用性を明らかにする。

4. 研究成果

- ①. ヒト NKT 細胞の代表的な 2 つのサブセット (CD4+CD8β-, CD4-CD8β-) を高速自動セルソーターにて精製分離した。NKT 細胞が認識する抗原を負荷した DC と共培養することで DC における CD80, CD83, CD86 分子の発現上昇を誘導した。
- ②. NKT 細胞は、DC における IL-12p70 産生を促進したが、IL-23 産生を抑制した。
- ③. 抗体を用いた阻害実験により、IL-12p70/IL-23 産生制御は、CD1d および CD40L 分子を介することが明らかとなった。



- ④. NKT 細胞の液性因子を用いて解析したと

ころ、IL-12p70/IL-23 産生制御は、NKT 細胞由来の液性因子が深く関与することが明らかとなった。

- ⑤. DC の遺伝子発現を解析したところ、NKT 細胞由来の液性因子は、IL-12/23p40 および IL-23p19 発現を抑制して、IL-12p35 発現を促進することが明らかとなった (図)。
- ⑥. 中和抗体を用いた解析、およびヒトリコンビナントサイトカインを用いた解析により、NKT 細胞が産生する IFN-γ と IL-4, IL-13 が IL-12p70 産生に促進的に作用して、IL-4, IL-10 が IL-23 産生に抑制的に作用することが明らかとなった。
- ⑦. Th 細胞との共培養により、活性化 NKT 細胞は DC の IL-23 産生を抑制することで、メモリー Th における IL-17 産生を抑制することが明らかとなった。

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 12 件)

1. Uemura, Y., Liu, T-Y., Narita, Y., Suzuki, M. and Matsushita, S.
17β-Estradiol (E2) plus TNFα induces a distorted maturation of human monocytes-derived DCs and promotes their capacity to initiate Th2 responses.
Hum. Immunol. **69:149-157, 2008**
2. Uemura, Y., Suzuki, M., Liu, T-Y., Narita, Y., Hirata, S., Ohshima, H., Ishihara, O. and Matsushita, S.
Role of human non-invariant NKT lymphocytes in the maintenance of type 2 T helper environment during pregnancy.
Int. Immunol. **20:405-412, 2008.**
3. *Liu, T-Y., *Uemura, Y., Suzuki, M., Narita, Y., Hirata, S., Ohshima, H., Ishihara, O. and Matsushita, S.
Distinct subsets of human invariant NKT cells differentially regulate T helper responses via dendritic cells.
Eur. J. Immunol. **38: 1012-1023, 2008.**
**equal contribution.*
4. 植村靖史, 劉天懿, 鈴木元晴, 成田弥生, 松下祥
NKT 細胞による樹状細胞を介した T ヘルパー応答制御,
臨床免疫・アレルギー科, **49: 377-383, 2008**
5. 鈴木元晴, 植村靖史, 劉天懿, 成田弥生, 石原理, 松下祥
妊娠の維持における脱落膜 non-invariant NKT 細胞の役割,
臨床免疫・アレルギー科, **49: 395-400, 2008**

6. Sasaki Y, Matsuoka Y, Hase M, Toyohara T, Murakami M, Takahashi M, Nakatsuka R, Uemura Y, Sonoda Y.
Marginal expression of CXCR4 on c-kit⁺Sca-1⁺Lineage⁻ hematopoietic stem/progenitor cells.
Int. J. Hematol. 90: 553-560, 2009
7. Uemura, Y., Liu, T-Y, Narita, Y., Suzuki, M., Nakatsuka, R., Araki, T., Matsumoto, M., Iwai L.K., Hirotsawa, N., Matsuoka, Y., Murakami, M., Kimura, T., Hase, M., Kohno, H., Sasaki, Y., Ichikawa, Y., Ishihara, O., Kikuchi, H., Sakamoto, Y., Jiao, S-C., Senju, S., and Sonoda, Y.
Cytokine-dependent modification of IL-12p70 and IL-23 balance in dendritic cells by ligand activation of V α 24 invariant natural killer T cells.
J. Immunol. 183: 201-208, 2009.
8. Kimura T., Matsuoka Y., Murakami M., Kimura T., Takahashi M., Nakamoto T., Yasuda K., Matsui K., Kobayashi K., Imai S., Asano H., Nakatsuka R., Uemura Y., Sasaki Y., Sonoda Y.
In vivo dynamics of human cord blood-derived CD34⁻ SCID-repopulating cells using intra-bone marrow injection.
Leukemia 24: 162-168, 2010.
9. Nakatsuka, R., Nozaki T., Uemura, Y., Matsuoka, Y., Sasaki Y., Shinohara, M., Ohura, K., Sonoda, Y.
5-Aza-2'-deoxycytidine treatment induces skeletal myogenic differentiation of mouse dental pulp stem cells.
Arch. Oral Biol. 55: 350-357, 2010
10. Guo, H., Liu, T-Y., Uemura, Y., Jiao, S., Wang, D., Lin, Z., Narita, Y., Suzuki, M., Hirotsawa, M., Ichihara, Y., Ishihara, O., Kikuchi H., Sakamoto, Y., Senju, S., Zhang, Q., Ling, F.
Bisphenol A in combination with TNF α selectively induces Th2 cell-promoting dendritic cells *in vitro* with an estrogen-like activity.
Cell. Mol. Immunol. 7: 227-234, 2010
11. Ishii, M., Matsuoka, Y., Sasaki, Y., Nakatsuka, R., Takahashi, M., Nakamoto, T., Yasuda, K., Matsui, K., Asano, H., Uemura, Y., Tsuji, T., Fukuhara, S., Sonoda, Y.
Development of a High Resolution Purification Method for Precise Functional Characterization of Primitive Human Cord Blood-derived CD34-negative SCID-repopulating Cells
Exp. Hematol. 39: 203-213, 2010.
12. 成田弥生, 鈴木元晴, 劉天懿, 村上真理, 松岡由和, 中塚隆介, 長谷真, 河野比良夫, 佐々木豊, 廣澤成美, 坂本安, 植村靖史, 菌田精昭
NKT 細胞のアジュバント効果と抗腫瘍免疫応答への応用
Cytometry Research, 20 (1): 19-25, 2010
- [学会発表] (計 25 件)
1. Yayoi Narita, Yasushi Uemura, Masanori Tsukamoto, Yasuko Ichihara, Hirosato Kikuchi
Identification of functional ty1 ryanodine receptors in human dendritic cells.
2009 Annual Meeting of European Malignant Hyperthermia Group, April 14-16, 2009, Victoria, Australia.
2. Mari Murakami, Yoshikazu Matsuoka, Ryusuke Nakatsuka, Masaya Takahashi, Tsuyoshi Nakamoto, Katsuhiko Yasuda, Kazuo Matsui, Yasushi Uemura, Yutaka Sasaki, Takashi Tsuji, Shirou Fukuhara, and Yoshiaki Sonoda
High resolution purification and characterization of human cord blood-derived CD34-negative SCID-repopulating cells with a very immature phenotype
51st ASH Annual Meeting Dec. 5-9, 2009, New Orleans, USA
3. Yoshiaki Sonoda, Takafumi Kimura, Yoshikazu Matsuoka, Mari Murakami, Tsuyoshi Nakamoto, Katsuhiko Yasuda, Ryusuke Matsuoka, Yasushi Uemura, and Yutaka Sasaki
In vivo dynamics of human cord blood-derived CD34⁻SCID-repopulating cells (SRCs) in comparison to CD34⁻CD38⁺ SRCs using intra-bone marrow injection
2009 2nd TERMIS World Congress in conjunction with 2009 Seoul Stem Cell Symposium, Republic of Korea, 2009
4. 木村卓, 松岡由和, 植村靖史, 佐々木豊, 福原資郎, 菌田精昭
臍帯血由来血管内皮前駆細胞に対する IL-8 の作用について
第 31 回日本造血細胞移植学会総会 (札幌) 2009 年 2 月 5 日~6 日
5. 中塚隆介, 野崎中成, 松岡由和, 菅野渉平, 植村靖史, 佐々木豊, 菌田精昭
CD45 陰性歯髓幹細胞の探索と筋系譜細

- 胞への分化転換
第 8 回日本再生医療学会総会 (東京)
2009 年 3 月 5 日~6 日
6. 中塚隆介, 松岡由和, 植村靖史, 佐々木豊, 菌田精昭
Prospective isolation and characterization of mouse Sca-1 and PDGFR α double positive dental pulp stem cells
第 9 回日本再生医療学会総会 (広島)
2009 年 3 月 18 日-19 日
 7. Yutaka Sasaki, Yoshikazu Matsuoka, Takayuki Toyohara, Makoto Hase, Ryusuke Nakatsuka, Yasushi Uemura, Yoshiaki, Sonoda
Kinetics of CXCR4 expression on murine steady state KSL cells
第 7 回幹細胞シンポジウム (東京) 2009 年 5 月 15-16 日
 8. Ryusuke Nakatsuka, Yoshikazu Matsuoka, Yasushi Uemura, Yutaka Sasaki, Yoshiaki Sonoda
Isolation of mouse dental pulp-derived Sca-1⁺PDGFR α ⁺ tissue-committed stem cells.
第 7 回幹細胞シンポジウム (東京) 2009 年 5 月 15-16 日
 9. Motoharu Suzuki, Yasushi Uemura, Yayoi Narita, Tianyi Liu, Narumi Hirisawa, Makoto Hase, Satoru Senju, Yasushi Sakamoto, Yoshiaki Sonoda
Modification of IL-12p70 and IL-23 balance in dendritic cells by ligand activation of Valpha24 invariant NKT cells
第 68 回 日本癌学会学術総会 (横浜)
2009 年 10 月 1-3 日
 10. Yasushi Uemura, Tianyi Liu, Yayoi Narita, Motoharu Suzuki, Ryusuke Nakatsuka, Narumi Hirose, Yoshikazu Matsuoka, Mari Murakami, Makoto Hase, Hirao Kohno, Yutaka Sasaki, Yasushi Sakamoto, Satoru Senju, Yoshiaki Sonoda
Modification of IL-12p70 and IL-23 balance in dendritic cells by Valpha24 invariant NKT cells
第 71 回日本血液学会学術集会 (京都)
2009 年 10 月 23-25 日
 11. 村上真理, 松岡由和, 中塚隆介, 植村靖史, 佐々木豊, 福原資郎, 菌田精昭
ヒト未分化 CD34 抗原陰性造血幹細胞の純化とその特性解明
第 71 回日本血液学会学術集会 (京都)
2009 年 10 月 23-25 日
 12. 佐々木豊, 松岡由和, 豊原貴之, 長谷真, 中塚隆介, 植村靖史, 菌田精昭
マウス骨髄造血幹/前駆細胞は、CXCR4 低発現である
第 71 回日本血液学会学術集会 (京都)
2009 年 10 月 23-25 日
 13. 松岡由和, 佐々木豊, 中塚隆介, 植村靖史, 菌田精昭
マウス骨髄由来 Lineage⁻Sca-1⁺c-kit^{low/-}細胞の造血幹 (前駆) 細胞特性の解明
第 71 回日本血液学会学術集会 (京都)
2009 年 10 月 23-25 日
 14. Tianyi Liu, Yasushi Uemura, Yayoi Narita, Motoharu Suzuki, Satoru Senju, and Yoshiaki Sonoda
Cytokine-dependent modification of IL-12p70 and IL-23 balance in dendritic cells by ligand activation of V α 24 invariant NKT cells
第 39 回日本免疫学会総会・学術総会 (大阪) 2009 年 12 月 2-4 日
 15. Y. Uemura, T. Liu, Y. N. Nobori, M. Suzuki, N. Hirose, Y. Ichihara, O. Ishihara, H. Kikuchi, Y. Sakamoto, Y. Sonoda, and S. Senju
Cytokine-dependent modification of IL-12p70 and IL-23 balance in dendritic cells by ligand activation of V α 24 invariant natural killer T cells
14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010, Kobe, Japan.
 16. T. Liu, M. Suzuki, Y. N. Nobori, Y. Guo, N. Hirose, Y. Ichihara, Y. Sakamoto, O. Ishihara, H. Kikuchi, S. Senju, and Y. Uemura
Distinct subsets of human invariant NKT cells differentially regulate T helper responses via dendritic cells
14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010, Kobe, Japan.
 17. M. Suzuki, Y. Uemura, T. Liu, Y. N. Nobori, N. Hirose, S. Uchino, Y.

- Ichihara, H. Kikuchi, Y. Sakamoto, S. Senju, O. Ishihara
Role of human non-invariant NKT lymphocytes in the maintenance of type 2 T helper environment during pregnancy
14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010, Kobe, Japan.
18. Y. N. Nobori, H. Guo, T. Liu, N. Hirose, Y. Uemura, S. Jiao, D. Wang, Z. Lin, M. Suzuki, Y. Ichihara, O. Ishihara, S. Senju, H. Kikuchi, Y. Sakamoto, and Y. Sonoda
Bisphenol A in combination with TNF α selectively induces Th2 cell-promoting dendritic cells *in vitro* with an estrogen-like activity
14th International Congress of Immunology, August 22-27, 2010, Kobe, Japan.
19. Yoshikazu Matsuoka, Yutaka Sasaki, Masaya Takahashi, Ryusuke Nakatsuka, Yasushi Uemura, Masami Inoue, Hiroyasu Ogawa, Takayuki Takahashi, Jun Ishikawa, Masayuki Hino, Yoshiaki Sonoda.
Prospective Isolation and Functional Characterization of Human Bone Marrow-derived Hematopoietic Stem Cell-supportive Mesenchymal Stromal Cells
52nd ASH Annual Meeting, Dec. 4-7, 2010, Orlando, USA
20. Yoshikazu Matsuoka, Yutaka Sasaki, Masaya Takahashi, Ryusuke Nakatsuka, Yasushi Uemura, Yoshiaki Sonoda
Prospective isolation and functional characterization of human hematopoietic stem cell-supportive mesenchymal stromal cells.
第 8 回幹細胞シンポジウム (淡路市)
2010 年 5 月 13-15 日
21. Yutaka Sasaki, Mari Murakami, Yoshikazu Matsuoka, Masaya Takahashi, Ryusuke Nakatsuka, Yasushi Uemura, Yoshiaki Sonoda
High resolution purification and functional characterization of primitive human cord blood-derived CD34-negative SRCs
第 8 回幹細胞シンポジウム (淡路市)
2010 年 5 月 13-15 日
22. Ryusuke Nakatsuka, Yasushi Uemura, Yoshikazu Matsuoka, Yutaka Sasaki, Yoshiaki Sonoda
Prospective isolation of mouse Sca-1⁺PDGFR α ⁺ dental pulp stem cells (DPSCs) existing in the tooth forming niche.
第 8 回幹細胞シンポジウム (淡路市)
2010 年 5 月 13-15 日
23. 岡村 (出町) 文子, 鳥養 宏基, 赤塚 美樹, 近藤 紳司, 廣澤 友也, 西尾 信博, 植村 靖史, 葛島 清隆
HLA-A24 拘束性ピューロマイシン感受性アミノペプチダーゼ特異的 CTL のエピトープはオートファジーを介して膵がん細胞に提示される
第 14 回日本がん免疫学会総会 (熊本市)
2010 年 7 月 22-23 日
24. 佐々木豊, 松岡由和, 中塚隆介, 植村靖史, 菌田精昭
c-kit 発現レベルに基づくマウス骨髄造血幹細胞分画の検討
第 71 回日本血液学会学術集会 (横浜)
2010 年 9 月 24-26 日
25. 松岡由和, 佐々木豊, 高橋昌也, 中塚隆介, 井上雅美, 小川啓恭, 高橋隆幸, 石川淳, 日野雅之, 植村靖史, 菌田精昭
未分化 CD34 抗原陰性造血幹細胞の支持能を持つヒト骨髄由来ストローマ細胞の予期的分離とその機能解析
第 71 回日本血液学会学術集会 (横浜)
2010 年 9 月 24-26 日
- [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 :
出願年月日 :
国内外の別 :
- 取得状況 (計 0 件)
- 名称 :
発明者 :

権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

植村 靖史 (YASUSHI UEMURA)
愛知県がんセンター (研究所)・腫瘍免疫
学部・主任研究員
研究者番号：40364781

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

佐々木 豊 (SASAKI YUTAKA)
関西医科大学・幹細胞生物学分野・講師
研究者番号：80425066

藪田 精昭 (SONODA YOSHIAKI)
関西医科大学・幹細胞生物学分野・教授
研究者番号：60206688

鈴木 元晴 (MOTOHARU SUZUKI)
埼玉医科大学・産婦人科学講座・助教
研究者番号：50406443