

令和 4 年 4 月 28 日現在

機関番号：12501

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21537

研究課題名(和文)腫瘍に対する中枢性免疫寛容の成立とその抗腫瘍免疫応答に与える影響

研究課題名(英文) Impacts of central tolerance against tumor antigen on anti-tumor immune responses

研究代表者

木村 元子 (Kimura, Motoko)

千葉大学・大学院医学研究院・教授

研究者番号：00345018

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：がんに対する免疫応答を考える際には、腫瘍局所だけではなく、全身における免疫応答を考慮する必要がある。本研究は、抗腫瘍免疫応答の問題点である「がんへの免疫寛容の成立」に焦点を当て、がん抗原に対する中枢性免疫寛容の成立が、がんへの免疫応答へ及ぼす影響を解析することを目的とした。複数の実験系にて、がん抗原が胸腺内にて特定の樹状細胞によって提示されていることを示唆するデータを得た。またこの特別な樹状細胞の機能や、がん特異的な胸腺細胞の分化、運命決定にどのような影響があるかの解析が進行中である。これらの成果に関する論文は現在執筆中である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

昨今の腫瘍に対する免疫療法の開発は目覚ましい。特に、免疫チェックポイント阻害剤の驚異的な効果から、患者自身の免疫システムを活性化することにより腫瘍を攻撃する「免疫療法」は、今後、さらに大きく発展する可能性を秘めている。本研究は、抗腫瘍免疫応答の問題点である「がんへの免疫寛容の成立」機構のうち、これまであまり研究が進んでいない「がん抗原に対する中枢性免疫寛容」が、がんへの免疫応答へ及ぼす影響について解析した。とくに胸腺機能が活発な小児のがんに対する治療戦略を考える上で、重要な知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：Our body has a great immune system to attack cancer; however, our immune system often become exhausted, allowing cancer development. Cancer immunotherapy utilizes this phenomenon and boosts our immune system to attack cancer. Therefore, it would be very important to understand the mechanism why our immune system become tolerant to cancer. Most research has focused on immune responses in tumor microenvironment, whereas we think it is essential to know how our immune system respond to cancer in our whole body. In this study, we focused on central tolerance against cancer. We first analyzed the thymus of tumor bearing mice and found that a specific subset of dendritic cells (DCs) was increased in the thymus. Importantly, the DC subset seemed to be migrated from the tumor site and bring tumor antigens to the thymus. We are currently performing an RNA-seq analysis to figure out the characteristic features of this specific DCs and analyzing the outcome of thymocyte development.

研究分野：免疫学、腫瘍免疫学

キーワード：中枢性免疫寛容 抗腫瘍免疫 胸腺 がん抗原 腫瘍微小環境

1. 研究開始当初の背景

がんへの免疫寛容の成立は、自己の免疫システムによるがん細胞の攻撃力を減退させる非常に大きな問題である。その分子メカニズムとして「腫瘍特異的な T 細胞の疲弊」「制御性 T (Treg) 細胞による抑制機能の亢進」等が挙げられ、多くの研究者が総力をあげてこれまで研究を進めてきた。本研究者は、白血球の早期活性化マーカーとして古くから知られてきた「CD69」分子に着目して、これまで研究を行ってきた。CD69 は活性化リンパ球に発現誘導される分子であり、古くは活性化マーカーとして知られてきたが、本研究者らは、CD69 は細胞の動態に重要な働きをする分子であることを明らかにした (Hayashizaki and Kimura et al, *Sci. Immunol.* 2016; Kimura et al, *Immunol. Rev.* 2017)。そして、疲弊した腫瘍浸潤 T 細胞は CD69 を高く発現していること、CD69 欠損マウスを宿主とした腫瘍移植実験では、腫瘍浸潤 CD69 欠損 CD8T 細胞の疲弊度が低下し、**抗腫瘍免疫応答が亢進することを発見し報告した** (Mita, Kimura et al, *Int. Immunol.* 2018)。また CD69 欠損による抗腫瘍効果の亢進は、Treg 細胞の機能低下によるものである可能性も考えられた。

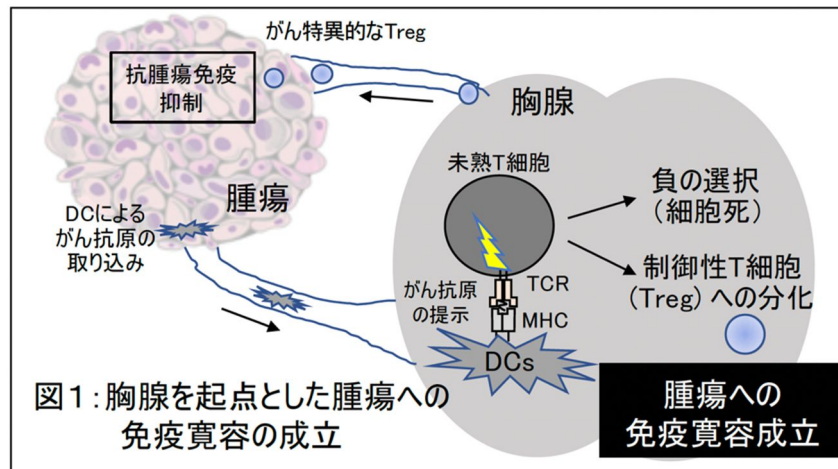
一方、本研究者は、長年「胸腺における T 細胞の分化」を研究してきた経緯がある (Kimura et al, *Nat. Immunol.* 2013; Kimura et al, *Nat. Immunol.* 2016; Kimura et al, *Nat. Commun.* 2018)。胸腺での分化過程を介して、T 細胞は自己に対する免疫寛容 (中枢性免疫寛容) を確立し、自己免疫疾患の発症を抑制する。また近年、末梢の抗原を取り込んだ DCs が胸腺へ戻ってくること、Treg 細胞が胸腺内へ戻ってきて胸腺分化に影響を与えることが報告された。しかし、これらの事実が、抗腫瘍免疫応答に及ぼす影響はほとんどわかっていない。

このような背景から、本研究者は、がんに対する中枢性免疫寛容の成立が抗腫瘍免疫応答に与える影響を調べるという研究構想に至った。胸腺機能は小児期で最も活発であることから、小児がんの治療戦略を考える上で、重要な知見を得られると考えている。がんへの免疫寛容の成立の全体像を明らかにすることで、将来的には、より効果が高く持続性のあるがん免疫療法の開発に繋がるであろう。

2. 研究の目的

日本人の死亡原因の第 1 位は「がん」である。実に国民の約 2 人に 1 人が「がん」に罹患し、約 3 人に 1 人が「がん」で亡くなると言われている。一昔前までは不治の病とされていた「がん」であるが、昨今の治療法の進歩は目覚ましく「がん」は治療可能な病となりつつある。近年、患者自身の免疫系を活性化することで「がん」を攻撃する「免疫療法」への期待と注目が高まっている。特に免疫チェックポイント阻害剤を用いたがん免疫療法は、非常に高い効果があることが示されたが、一方で、その効果には限りがあり、また副作用の危険性、自己免疫疾患罹患患者への禁忌などの課題も多いのが実情である。元来ヒトの生体内に構築されている免疫システムは、がん細胞を攻撃し駆逐する能力を有する。しかし、自己の免疫システムが何らかの原因により活性化できない状態、すなわち「**がんに対する免疫寛容状態**」に陥ってしまうことが問題である。がんに対する免疫寛容を誘導するメカニズムとして、がん微小環境内における「エフェクター T 細胞の疲弊」「Treg 細胞による免疫抑制」等が挙げられる。一方で、がんに対する免疫応答を考える際には、**腫瘍局所だけではなく、全身における免疫応答を考慮する必要がある**。しかし、**がんに対する免疫寛容において、中枢性免疫寛容の影響を解析した研究報告はほとんどない**。

本研究者は「胸腺におけるT細胞の分化機構」に着目して長年研究を行ってきた。未成熟T細胞は胸腺において提示された抗原を自己と判断する。そして、自己への反応性を有する未成熟T細胞は、負の選択を受けて除去（細胞死）される



か、Treg細胞として分化することで、自己免疫寛容を成立させる。近年、末梢組織に存在する樹状細胞(DCs)のなかには、胸腺に移動して末梢抗原を胸腺で提示する能力があるものが存在することが報告された。この事実は、DCsによって胸腺へと運ばれたがん抗原が、胸腺内の未成熟T細胞へ提示されることで負の選択が誘導され、がん特異的な免疫寛容の成立を促している可能性を示唆するものである(図1)。そこで本研究では、「がんに対する中枢性免疫寛容」が抗腫瘍効果に及ぼす影響を解析することを目的とする。とくに胸腺機能が活発な小児のがんに対する治療戦略を考える上での重要な知見を得ることができると考えている。

3. 研究の方法

中枢性免疫寛容による「がんに対する免疫寛容の成立」が腫瘍の増大に与える影響を明らかにするために、以下の実験を行った。

(1) 腫瘍由来の樹状細胞による胸腺への遊走能の解析

腫瘍組織の樹状細胞をラベルすることにより、腫瘍組織由来の樹状細胞が胸腺に遊走されているかを、フローサイトメトリーを用いて解析した。さらには胸腺へ遊走された樹状細胞の特性を明らかにするためのRNA-seq解析などの網羅的解析が現在進行中である。

(2) 腫瘍由来の樹状細胞による中枢免疫寛容への影響の解析

特定の抗原を発現させた腫瘍細胞を移植したマウスを用いて、特定のがん抗原特異的なT細胞の発生・分化への影響を解析した。

4. 研究成果

本研究は、中枢性免疫寛容成立の場である「胸腺」に着目し、「がんに対する中枢性免疫寛容」が抗腫瘍免疫応答に及ぼす影響を解析することを目的として研究を進めた。

計画当初は「胎児胸腺腎皮膜下移植の実験系」の利用を予定していたが、移植による炎症誘発などにより抗腫瘍免疫応答への影響が懸念されたために異なる実験系で解析を進めた。

研究遂行にあたり、はじめにフローサイトメトリーを用いた腫瘍浸潤樹状細胞、胸腺樹状細胞の検出、並びにCD11cマイクロビーズを用いた樹状細胞の回収方法を確立した。それに並行して、がん特異的なT細胞の検出を行うために、特定の抗原を発現する複数の腫瘍株の作製と、その特定のがん抗原特異的なCD8T細胞、CD4T細胞の検出システムのセットアップを行なった。

つづいて、がん組織に存在する樹状細胞が胸腺に遊走し得るのかを解析した。野生型マウスに腫瘍を移植した後、継時的に胸腺樹状細胞の解析を行なった。その結果、特定の樹状細胞サブセ

ットが胸腺内で増加することが判明した。この現象は、複数の腫瘍で観察されたことから、ある特定の腫瘍に特異的な現象ではなく、腫瘍移植によって生じる共通の現象であることが示唆された。実際に腫瘍組織の樹状細胞が胸腺へ移動しているかを調べる目的で、腫瘍組織をラベルして解析したところ、腫瘍組織由来の特定の樹状細胞が確かに胸腺へ移動していることが確かめられた。この樹状細胞の詳細な性状については、現在網羅的な遺伝子解析等での解析が進行中である。腫瘍由来の樹状細胞が胸腺において、特定のがん抗原に特異的なT細胞の分化運命決定に及ぼす影響については、現在、特定のがん抗原を発現する複数の腫瘍株を移植した担がんマウスを用いて研究が進行中である。これらの成果に関する論文は現在執筆中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 7件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Sarkar Murshed H., Yagi Ryoji, Endo Yukihiro, Koyama-Nasu Ryo, Wang Yangsong, Hasegawa Ichita, Ito Toshihiro, Junttila Ilkka S., Zhu Jinfang, Kimura Motoko Y., Nakayama Toshinori	4. 巻 16
2. 論文標題 IFN suppresses the expression of GF11 and thereby inhibits Th2 cell proliferation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0260204-
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0260204	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 該当する
1. 著者名 Yokoyama Masaya, Kimura Motoko Y., Ito Toshihiro, Hayashizaki Koji, Endo Yukihiro, Wang Yangsong, Yagi Ryoji, Nakagawa Tomoo, Kato Naoya, Matsubara Hisahiro, Nakayama Toshinori	4. 巻 11
2. 論文標題 Myosin Light Chain 9/12 Regulates the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fimmu.2020.594297	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 Nakayama Toshinori, Hirahara Kiyoshi, Kimura Motoko Y, Iwamura Chiaki, Kiuchi Masahiro, Kokubo Kota, Onodera Atsushi, Hashimoto Kahoko, Motohashi Shinichiro	4. 巻 33
2. 論文標題 CD4+ T cells in inflammatory diseases: pathogenic T-helper cells and the CD69/MyI9 system	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 International Immunology	6. 最初と最後の頁 699 ~ 704
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/intimm/dxab053	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 木村元子	4. 巻 29
2. 論文標題 NKT細胞の新たな分化機構	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 炎症と免疫	6. 最初と最後の頁 288-291
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 木村元子	4. 巻 82
2. 論文標題 胸腺内iNKT細胞分化機構とCD69の役割	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 血液内科	6. 最初と最後の頁 -
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 Yokoyama Masaya, Kimura Motoko Y., Ito Toshihiro, Hayashizaki Koji, Endo Yukihiro, Wang Yangsong, Yagi Ryoji, Nakagawa Tomoo, Kato Naoya, Matsubara Hisahiro, Nakayama Toshinori	4. 巻 11
2. 論文標題 Myosin Light Chain 9/12 Regulates the Pathogenesis of Inflammatory Bowel Disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.594297	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 該当する

1. 著者名 Suzuki Akane S., Yagi Ryoji, Kimura Motoko Y., Iwamura Chiaki, Shinoda Kenta, Onodera Atsushi, Hirahara Kiyoshi, Tumes Damon J., Koyama-Nasu Ryo, Iismaa Siiri E., Graham Robert M., Motohashi Shinichiro, Nakayama Toshinori	4. 巻 11
2. 論文標題 Essential Role for CD30-Transglutaminase 2 Axis in Memory Th1 and Th17 Cell Generation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2020.01536	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 該当する

1. 著者名 Aoki Takahiro, Takami Mariko, Takatani Tomozumi, Motoyoshi Kiwamu, Ishii Ayana, Hara Ayaka, Toyoda Takahide, Okada Reona, Hino Moeko, Koyama Nasu Ryo, Kiuchi Masahiro, Hirahara Kiyoshi, Kimura Motoko Y., Nakayama Toshinori, Shimojo Naoki, Motohashi Shinichiro	4. 巻 111
2. 論文標題 Activated invariant natural killer T cells directly recognize leukemia cells in a CD1d independent manner	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 2223 ~ 2233
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14428	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 Angelou Constance C., Wells Alexandria C., Vijayaraghavan Jyothi, Dougan Carey E., Lawlor Rebecca, Iverson Elizabeth, Lazarevic Vanja, Kimura Motoko Y., Peyton Shelly R., Minter Lisa M., Osborne Barbara A., Pobezinskaya Elena L., Pobezinsky Leonid A.	4. 巻 10
2. 論文標題 Differentiation of Pathogenic Th17 Cells Is Negatively Regulated by Let-7 MicroRNAs in a Mouse Model of Multiple Sclerosis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Immunology	6. 最初と最後の頁 3125
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.03125	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 該当する

1. 著者名 中山俊憲、木村元子、八木良二	4. 巻 -
2. 論文標題 T細胞性免疫のエフェクター - 機能のメカニズム 生体防御におけるT細胞の機能	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 基礎免疫学 原著第6版 - 免疫系の機能とその異常	6. 最初と最後の頁 111-127
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4件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kimura M.Y., Koyama-Nasu, R., Mita Y., Hayashizaki, K. and Nakayama T.
2. 発表標題 多彩な働きをするT細胞の分化・機能と疾患制御
3. 学会等名 第6回 千葉大学 膜タンパク質研究センター × 量子科学技術研究開発機構 量子生命科学研究所 合同勉強会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kimura M., Nasu R., Mita Y., Wang Y., Endo Y., Hasegawa I., Motohashi S., Nakayama T.
2. 発表標題 CD69 regulates anti-tumor immunity
3. 学会等名 The 50th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 木村元子, 横山将也, 小林弘信, 林崎浩史, 遠藤将大, Wang Yangsong, 長谷川一太, 那須亮, 中山俊憲
2. 発表標題 CD69-MyI9システムと炎症制御
3. 学会等名 第44回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kimura M.Y., Koyama-Nasu, R., Mita Y., Hayashizaki, K. and Nakayama T.
2. 発表標題 CD69 Biology and Pathology
3. 学会等名 11th International Symposium of IFRc, Immunology at the Forefront (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

千葉大学大学院医学研究院 実験免疫学HP http://www.m.chiba-u.jp/dept/experimental-immunology/

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