

令和 6 年 6 月 24 日現在

機関番号：32660

研究種目：若手研究

研究期間：2022～2023

課題番号：22K16311

研究課題名（和文）ポリコーム群タンパク質PCGF6欠損樹状細胞の活性化におけるメカニズム

研究課題名（英文）Mechanism in activation of polycomb group protein PCGF6 deficient dendritic cells

研究代表者

平川 真弓（Hirakawa, Mayumi）

東京理科大学・研究推進機構生命医科学研究所・助教

研究者番号：70871490

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,600,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、生体内樹状細胞(DC)におけるPCGF6の機能を明らかにすることを目的とした。まずPCGF6を欠損した骨髄細胞を、サイトカインを用いてDCを培養しLPSで刺激した後、活性化マーカーを調べたところ、PCGF6を欠損した骨髄細胞で上昇していた。さらに担がんマウスモデルを用いて、樹状細胞特的なPCGF6欠損マウス(CD11cCre;Pcgf6fl/fl)における生体内でのPCGF6の機能を調べた。しかしながら、コントロールマウスとPCGF6欠損マウスの腫瘍サイズ、リンパ節、脾臓における樹状細胞のサブセットの顕著な違いは見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

申請者らはPCGF6が生体内において樹上細胞(DC)の活性化を負に制御することを踏まえ、DC特的なPCGF6欠損マウスを用いて、生体内でのDC活性化時におけるPCGF6の役割を明らかにしようとした。ヒトDCにおいてPCGF6を欠損させることにより、DC分化・活性化におけるPCGF6の機能を制御することで、DCの活性化を制御することが可能となり、単に、PCGF6によるDCの機能成熟機構の解明にとどまらず、サイトカイン産生能をより増強したDCの作製やがん細胞への特異性が高く副作用が低いという利点を持つ、DCワクチン療法への応用など医療分野に貢献することが期待できる。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to clarify the function of PCGF6 in dendritic cells (DCs) in vivo. First, we cultured PCGF6-deficient bone marrow cells using cytokines and stimulated them with LPS. Activation markers were elevated in PCGF6-deficient bone marrow cells. Furthermore, using a tumor-bearing mouse model, we investigated the function of PCGF6 in vivo in dendritic cell-specific PCGF6-deficient mice (CD11cCre; Pcgf6fl/fl). However, no significant differences were observed in tumor size, lymph nodes, or dendritic cell subsets in the spleen between control and PCGF6-deficient mice.

研究分野：発生免疫学

キーワード：樹状細胞 ポリコーム 免疫

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞 (dendritic cell ; DC) は免疫細胞の一種で、体内に侵入したウイルスや細菌などの異物を感知し、T 細胞を活性化する機能を持つ。DC は通常型 DC (conventional DC ; cDC) と形質細胞様 DC (plasmacytoid DC ; pDC) に大別される。cDC は高い抗原提示能を有し、ウイルスや腫瘍に対する免疫防御に関与するのに対し、pDC はウイルス感染時にサイトカインを大量に産生する。近年、DC はがん免疫療法として応用されている。しかし、末梢血や骨髄に存在する DC は非常に少なく、患者の DC の状態により治療成績は大きく異なる。

ポリコム群 (Polycomb group: PcG) タンパクは代表的なエピジェネティック制御因子の一つである。PcG タンパクはポリコム抑制複合体 1 (PRC1) と PRC2 に大別され、PRC1 はそれぞれ PCGF タンパク (PCGF1-6) により、6 種類の複合体に分けられる。従来型 PRC1 に分類される PCGF2、PCGF4 に比べて、異性型 PRC1 の構成要素である PCGF1, 3, 5, 6 の機能は不明なことが多い。

最近、DC が活性化されると PCGF6 の発現が減少するとともに、サイトカインの産生が増加することが報告された (Boukhaled *et al.* Cell Rep., 2016)。しかしこの結果は全て培養細胞を用いた実験に基づいており、生体内 DC における PCGF6 の機能は不明であった。

2. 研究の目的

申請者は、DC 特異的に PCGF6 を欠損させるマウス (CD11cCre-Pcgf6^{fl/fl}) を作製したところ、PCGF6 欠損 DC は正常に分化したが、骨髄細胞の培養において、活性化マーカーである CD80 および CD86 の発現が上昇していたことから、生体においても DC の活性化に PCGF6 が関与することが示唆された。そこで本研究では、生体内 DC における PCGF6 の機能を明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

PCGF6 欠損 DC の抗原提示能・抗腫瘍機能の解析

CD11cCre-Pcgf6^{fl/fl} マウス (B6) の脾臓 DC と CFSE でラベルした野生型マウス (Balb/c) の脾臓 T 細胞を混合し、T 細胞の分裂腫瘍のサイズを測定し、PCGF6 欠損 DC の解析をする。次に、PCGF6 の生体内 DC における役割を明らかにするために、OVA を発現するLewis肺癌細胞 (LLC-OVA) を CD11cCre-Pcgf6^{fl/fl} マウスの背部皮下に移植し、1 週間後に OVA 特異的な OT-I マウスから CD8 陽性 T 細胞、OT-II マウスから CD4 陽性 T 細胞を混合したものをマウスに移入し、3 日後に腫瘍のサイズと T 細胞の分裂・活性を測定する。また、腫瘍内の免疫細胞をセルソーターで分取し、DC や T 細胞、B 細胞などの活性化状態を調べた。

4. 研究成果

PCGF6 欠損 DC の T 細胞への抗原提示能・抗腫瘍機能の解析



図1 PCGF6 欠損DCの抗腫瘍活性の解析

Pcgf6 欠損 DC の生体内における役割について、OVA を発現するLewis肺癌細胞 (LLC-OVA) をマウスの背部皮下に移植し、1 週間後に OVA 特異的な OT-I マウス由来 CD8 陽性 T 細胞を CFSE でラベルした後、 2×10^5 細胞をコントロール (Pcgf6^{fl/fl}) の担がんマウスと CD11cCre-Pcgf6^{fl/fl} の担がんマウスに尾静脈移入した。T 細胞の分裂を測定することで、DC の抗原提示能を間接的に測定できるため、3 日後に腫瘍のサイズや T 細胞の分裂をフローサイトメトリーで測定した。さらにリンパ節、脾臓を酵素処理し、フローサイトメトリーで cDC の分布を調べた (図 1)。結果、コントロールと CD11cCre-Pcgf6^{fl/fl} マウスで腫瘍のサイズに差はなく、所属リンパ節における CD8 陽性 T 細胞の増殖能に変化が見られなかった (図 2a)。さらに、XCR1⁺cDC1、XCR1⁺cDC2 の割合についても、リンパ節、脾臓において差が見られなかった (図 2b)。

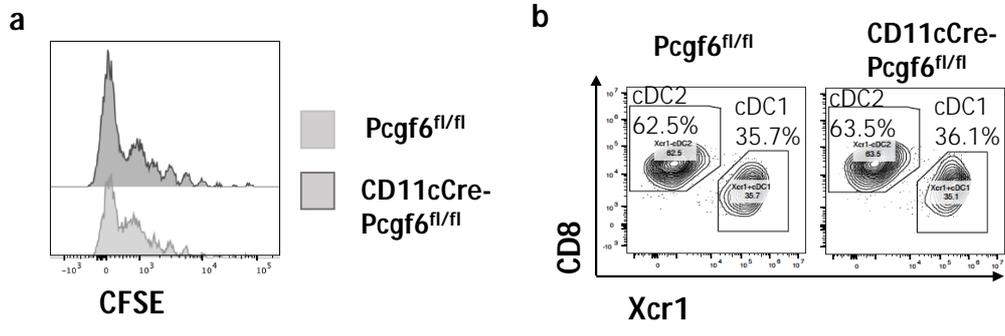


図2 実験結果(所属リンパ節)

a) CFSEラベルしたCD8陽性細胞の増殖

b) cDC1とcDC2のフローサイトメトリーにおける割合

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------