

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24700994

研究課題名(和文) 老齢個体におけるCD4陽性T細胞による抗腫瘍効果の抑制機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of functional defects in tumor-specific CD4+ T cells in aged animals

研究代表者

粟井 博文(塚本博文)(AWAI (TSUKAMOTO), HIROTAKE)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：10433020

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、老齢個体でのCD4+T細胞による抗腫瘍効果減弱に対するIL-6の関与と、その分子機構を明らかにすることを目的とし、解析を行った結果、老齢個体において、がん特異的Th1細胞分化が抑制されることを見出した。さらに、老齢個体におけるIL-6の活性を中和抗体により抑制した場合に、がん特異的なCD4+T細胞におけるIFN-gamma産生能(Th1細胞への分化能)の抑制が解除されることを見出した。これらのことから、老齢個体でIL-6シグナルが亢進した場合、Th1細胞を介した抗腫瘍免疫応答の抑制が引き起こされることが示唆された。現在、この研究結果を学術論文として発表する準備を行っている。

研究成果の概要(英文)：This study demonstrated that systemic increase of IL-6 was an extrinsic factor counteracting tumor-specific Th1 differentiation, and was responsible for the age-associated defect in mounting protective immunity against the tumor in aged animals. Further analysis revealed that IFN-gamma from tumor-specific Th1 cells was indispensable for the beneficial effects of IL-6 blockade on anti-tumor immune responses in aged hosts.

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学・腫瘍免疫学

キーワード：免疫老化 CD4+ T細胞 IL-6 Th1

1. 研究開始当初の背景

加齢に伴う免疫機能の低下により、がんや感染症等による高齢者の死亡率は急激に増加する。しかし、その免疫機能の低下のメカニズムは不明である。申請者は、Gr-1⁺CD11b⁺ ミエロイド系抑制性細胞 (MDSC) が、老齢個体において増加することを見出し、この細胞による免疫抑制が CD4⁺T 細胞の機能低下を引き起こし、がんの発症および進行を促進すると仮説を立て研究を行った。実際に MDSC を移入した若いマウスでは、CD4⁺T 細胞を介した腫瘍拒絶効果の減弱が観察された。

そこで、本研究課題では、老齢個体において CD4⁺T 細胞の機能分化が抑制される機序における MDSC の関与について検討を開始した。しかし、老齢個体においては、MDSC を除去しても CD4⁺T 細胞の機能低下、およびその抗腫瘍効果を回復させることができなかった。

2. 研究の目的

老齢個体では、CD4⁺T 細胞の機能的分化、特に腫瘍拒絶効果に必須のサイトカインである IFN γ を産生する Th1 細胞への分化の低下が観察される。当初この機能低下において MDSC の関与が考えられたが、その後の検討により、老齢個体における CD4⁺T 細胞の Th1 分化が抑制される現象には、別の抑制機序が働く可能性が示唆された。

そこで、老齢個体において増加する因子で、がん患者の予後不良因子としても知られる IL-6 に着目して、老齢個体における CD4⁺T 細胞の Th1 分化抑制への関与を検討することを目的とした。

3. 研究の方法

まずはじめに、IL-6 の血中濃度は、加齢と伴に上昇することを確認した。このことから、加齢に伴う IL-6 の上昇が、CD4⁺T 細胞の Th1 分化の抑制および、それに伴う抗腫瘍効果の減弱の一因である可能性が考えられた。この可能性を検証するため、抗 IL-6 抗体処理、あるいは、未処理の老齢マウスにおける、CD4⁺T 細胞の Th1 分化について検討した。また、IL-6 欠損老齢マウスを作製し、同様の検討を行った。

CD4⁺T 細胞の抗腫瘍効果を検討するため、本研究では、線維芽肉腫である MCA205 細胞株を用いているが、この細胞をはじめとして、がん細胞では CD4⁺T 細胞の抗原受容体である TCR が認識する MHC クラス II 分子が発現しておらず、CD4⁺T 細胞が直接、腫瘍細胞を認識して活性化し、攻撃をすることはないと考えられた。一方、CD4⁺T 細胞はがん細胞を ty 苦節攻撃する能力を持つ CD8⁺T 細胞、マクロファージ、NK 細胞など、他の免

疫担当細胞の活性化を促進し、腫瘍細胞を排除するのに寄与していると考えられ、これらの細胞の関与について検討を行った。

4. 研究成果

老齢個体で増加する IL-6 を抑制した場合、CD4⁺T 細胞の Th1 分化抑制が回復した。これに相関して、老齢個体での CD4⁺T 細胞による抗腫瘍効果の減弱が、ある程度改善し、老齢個体においても、腫瘍拒絶効果が観察された。さらに CD4⁺T 細胞の抗腫瘍効果のメカニズムを検討したところ、CD4⁺T 細胞が腫瘍特異的 CD8⁺T 細胞の誘導を促進することにより、抗腫瘍効果を発揮することを見出した。さらに、老齢個体では CD4⁺T 細胞による腫瘍特異的 CD8⁺T 細胞の誘導促進能力が減弱しており、この機能不全が IL-6 の阻害により改善することを見出した。これらのことから、老齢個体において増加する IL-6 は、CD4⁺T 細胞に作用し、腫瘍特異的 Th1 細胞の分化を抑制することが示唆された。さらに、これは、腫瘍特異的 CD8⁺T 細胞の誘導を阻害し、結果的に老齢個体では抗腫瘍効果が減弱する、というメカニズムが明らかとなった。

これらの結果は、老齢個体において、感染症、がん等の疾患に対する免疫機能低下の是正を目指したアプローチへの基盤的知見を与え得るものであると考えている。現在これらの研究成果の学術論文への発表を準備中である。

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 6 件)

1. Tomita Y., Yunoo A., Tsukamoto H., Senju S., Kuroda Y., Hirayama M. Irie A., Yatsuda J., Hamada A., Jono H., Yoshida K., Tsunoda T., Daigo Y., Kohrogi H., Yoshitake Y., Nakamura Y., Shinohara M., and Nishimura Y. LY6K-specific CD4⁺ T-cell immunity in patients with malignant tumor: Identification of LY6K long peptide encompassing both CD4⁺ and CD8⁺ T-cell epitopes. *Oncoimmunology* (In press), 2014. (査読あり)
2. Tomita Y., Yunoo A., Tsukamoto H., Senju S., Yoshimura S., Osawa R., Kuroda Y., Hirayama M., Hamada A., Jono H., Irie A., Tsunoda T., Kohrogi H., Yoshitake Y., Nakamura Y., Shinohara M., and Nishimura Y. Identification of CDCA1 long peptides bearing both

CD4+ and CD8+ T-cell epitopes: CDCA1-specific CD4+ T-cell immunity in cancer patients. *Int. J. Cancer* 134, 352-366, 2014. (査読あり)

3. Yatsuda J., Irie A., Harada K., Michibata Y., Tsukamoto H., Senju S., Tomita Y., Yuno A., Hirayama M., Abu Sayem M., Takeda N., Shibuya I., Sogo S., Fujiki F., Sugiyama H., Eto M. and Nishimura Y. Establishment of HLA-DR4 transgenic mice for the identification of CD4+ T cell epitopes of tumor-associated antigens. *PLoS One* 8: e84908, 2013 (査読あり)
4. Tsukamoto, H., Nishikata, R., Senju, S., and Nishimura, Y. Myeloid-derived suppressor cells attenuate TH1 development through IL-6 production to promote tumor progression. *Cancer. Immunol. Res.* 1: 64-76, 2013. (査読あり)
5. Tomita Y., Yuno A., Tsukamoto H., Senju S., Kuroda Y., Hirayama M., Irie A., Kawahara K., Yatsuda J., Hamada A., Jono H., Yoshida K., Tsunoda T., Kohrogi H., Yoshitake Y., Nakamura Y., Shinohara M., and Nishimura Y. Identification of promiscuous KIF20A long peptides bearing both CD4+ and CD8+ T-cell epitopes: KIF20A-specific CD4+ T-cell immunity in patients with malignant tumor. *Clin. Cancer Res.* 15: 4508-4520, 2013. (査読あり)
6. Horlad, H., Fujiwara, Y., Takemura, K., Ohnishi, K., Ikeda, T., Tsukamoto, H., Mizuta, H., Nishimura, Y., Takeya, M., Komohara, Y. Corosolic acid impairs tumor development and lung metastasis by inhibiting the immunosuppressive activity of myeloid-derived suppressor cells. *Mol. Nutr. Food Res.* 57: 1046-1054, 2013. (査読あり)

[学会発表](計 5件)

1. Tsukamoto, H., Senju, S., S.L. Swain and Nishimura, Y. Age-associated increase of IL-6 dampens anti-tumor immune responses through attenuating Th1 differentiation of tumor-specific CD4 T cells. アメリカ免疫学会 (米国, Pittsburgh) 5月2 - 6日, 2014.

2. Tsukamoto, H., Senju, S., and Nishimura, Y. Soluble IL-6 receptor diminishes the differentiation of tumor-specific TH1 cells to exacerbate tumor progression. 第42回 日本免疫学会 (千葉、幕張メッセ) 12月11 - 13日, 2013.
3. Tsukamoto, H., Senju, S., and Nishimura, Y. 担癌個体で増加する可溶性 IL-6R は、腫瘍特異的 Th1 細胞分化の抑制を介して腫瘍増大に寄与する。 第17回 日本がん免疫学会 (山口、ANA クラウンプラザホテル宇部) 7月3 - 5日, 2013.
4. Tsukamoto, H., Senju, S., and Nishimura, Y. MDSC attenuate TH1 development of tumor-specific effector CD4 T cells through IL-6 production. 第41回 日本免疫学会 (兵庫、神戸国際会議場) 12月5 - 7日, 2012.
5. Tsukamoto, H., Senju, S., and Nishimura, Y. Gr-1+ MDSC attenuate development of tumor-specific Th1 cells through IL-6 production to promote tumor progression. 第16回 日本がん免疫学会 (北海道、北海道大学学術交流会館) 7月26 - 27日, 2012.

[図書](計 2件)

1. 塚本博丈 「Myeloid-derived suppressor cells (MDSC)による Th1 細胞の抑制機序」 **臨床免疫・アレルギー科**, 科学評論社 61, 428-435, 2014.
2. 塚本博丈, 西村泰治 「腫瘍免疫の最前線: T細胞を介した抗腫瘍免疫応答」 **実験医学9月増刊**, 羊土社 31: 32-39, 2013.

[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

粟井(塚本) 博丈

(AWAI (TSUKAMOTO), HIROTAKE)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号：10433020

(2)研究分担者 該当なし

研究者番号：

(3)連携研究者 該当なし

研究者番号：