

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年5月30日現在

機関番号：14301

研究種目：特定領域研究

研究期間：2007 ～ 2011

課題番号：19059008

研究課題名（和文） 変異自己細胞に対する応答機構と制御

研究課題名（英文） Immune Response to Malignant Cells and its Regulation

 研究代表者 湊 長博 (MINATO NAGAHIRO)  
 京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：40137716

研究成果の概要（和文）：白血病自然発症にともなう T 細胞免疫機能の低下が、正常個体の加齢に伴う免疫老化と同等の細胞機構によって起こることを示した。この老化関連 CD4 T 細胞は、白血病のリンパ組織への浸潤に伴って形成される濾胞胚中心に出現し同部位で増殖する新しいタイプの濾胞性 CD4 T 細胞であること、抗原受容体刺激には増殖反応を示さないが、Osteopontin をはじめとする炎症性サイトカインを選択的・大量に産生しうること、通常の外來性非自己抗原免疫による胚中心反応では発生しないことなどの所見が得られた。これらの結果は、白血病に伴って出現する T-sen 細胞は、内因性の胚中心反応にともなうものであり、その向炎症性機能により、白血病の進展に大きく関与している可能性が強く示唆された。

研究成果の概要（英文）：I discovered a novel type of follicular CD4+ T cells that are increased in normal aged animals, termed senescence-associated T (SA-T) cells. SA-T cells showed compromised proliferation but produced massive amounts of osteopontin in response to TCR-stimulation. During leukemia development, there was a robust increase of SA-T cells irrespective of age in association with the progressive immunodepression. The study suggest that the increase of SA-T cells underlie the global immunodepression in senescence and leukemia.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	34,200,000	0	34,200,000
2008年度	34,200,000	0	34,200,000
2009年度	49,200,000	0	49,200,000
2010年度	57,100,000	0	57,100,000
2011年度	45,000,000	0	45,000,000
総計	219,700,000	0	219,700,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・免疫学

キーワード：自己認識、免疫制御、胸腺、自己免疫病、炎症、がん

## 1. 研究開始当初の背景

近年の実験動物を用いた研究から自然発

癌の抑制に免疫系が重要な役割を担うことが立証されつつあるが、現実のヒトの悪性変

異（がん）細胞に対して個体は必ずしも「有効な」免疫応答を發動しえないことも事実である。その大きな理由の一つは自己由来変異細胞に対する免疫不応答性の誘導にあると考えられる。これには多様な機構が示唆されているが、その全体像は依然として不明である。

## 2. 研究の目的

本課題では、内在性自己としてのがん細胞に対する免疫学的自己識別のコンセプトを提示し、ヒトの腫瘍に対する合理的かつ効果的な免疫学的制御のための新しい戦略を創り出すことを最終的な目的とする。

## 3. 研究の方法

これまで確立してきた白血病自然発症マウスモデルや免疫制御因子の遺伝子改変マウスを駆使して、加齢にともなう免疫系の変容と発癌の関係を明らかにする。

## 4. 研究成果

自然発症白血病および全身性自己免疫病（SLE）の遺伝子改変マウスモデルを駆使して、自己応答としての変異（白血病）細胞に対する免疫応答と寛容の分子機構の研究を進めた。正常個体で、加齢に伴い特徴的な形質（PD-1+ CXCR5+ C/EBPα+ Bcl6+ Satb1-）と機能（クローン増殖能の低下とOsteopontin <OPN>を含む炎症性サイトカインの産生）を有する記憶形質のCD4+T細胞（Senescence associated T cells, Tsen）が増加するが、Tsen細胞は老齢マウスの自発胚中心に局在し、濾胞胚中心形成に必須のBcl-6-/-マウスやB細胞欠質（ $\mu$ MT）マウスでは出現しないので、新しいタイプの濾胞性T細胞であることが示された。また白血病自然発症と進展の過程で、Tsen様の細胞が白血病細胞のリンパ組織への浸潤に伴って新生濾胞胚中心内において急速に増加することが明らかになり、これが悪性化にともなう免疫機能低下の主要な要因であると考えられた。OPNは重要ながん促進因子のひとつであり、Tsen細胞が白血病の進展促進に関与する可能性も示唆される。さらにTsen様細胞は、典型的SLEを自然発症するBWF1マウスにおいても、その腎炎発症に伴って濾胞胚中心内で急速に増加することも明らかになった。これらのTsen様細胞は、自己のB細胞に反応して大量のOPNを産生し、このOPNが腎炎発症に関与していることも示唆された。これらの結果は、通常に加齢に伴うCD4+T細胞の機能変容（免疫老化）と、白血病（変異自己細胞）や全身性自己免疫病にともなう機能変容とが共通の機構によっていることを強く示唆しており、免疫老化とがんや全身性自己免疫病に共通

する機構の解明は、これらの病態発症の制御に向けて、新しい局面を開きうるものと考え

## 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19件）

1. Hamazaki, Y, Fujita, H, Kobayashi, T, Choi, Y, H. Scott, Matsumoto, M, and Minato, N. (2007) Medullary thymic epithelial cells expressing Aire represent a unique lineage derived from claudin-expressing cells. *Nature Immunol.* 8:304-311. PMID:17277780

2. Minato, N., K.Kometani, and M.Hattori. (2007) Regulation of immune responses and hematopoiesis by the Rap1 signal. (Review) *Adv. Immunol.* 93: 229-264. PMID: 17383543

3. Kitamura, T., Kometani, K., Hashiba, H., Matsunaga, A., Miyoshi, H., Hosogi, H., Aoki, M., Oshima, M., Hattori, M., Takabayashi, A., Minato, N., and Taketo, M. (2007) Intestinal tumors inactivated in TGF- $\beta$  signaling secrete CCL9 and recruit CCR1+ myeloid cells that help invasion. *Nature Gen.* 39:467-475. PMID:17369830

4. Hamanishi J., Mandai, M., Iwasaki, M., Okazaki, T., Tanaka, Y., Yamaguchi, K., Higuchi, T., Yagi, H., Takakura, K, Minato, N., Honjo, T., and Fujii, S. (2007) PD-L1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are independent prognostic factors of human ovarian cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 104; 104:3360-3365. PMID: 17360651

5. Sakata D, Taniguchi H, Yasuda S, Adachi-Morishima A, Hamazaki Y, Nakayama R, Miki T, Minato, N., and Narumiya S. (2007) Impaired T lymphocyte trafficking in mice deficient in an actin-nucleating protein mDia1. *J. Exp. Med.* 204;2031-2038. PMID:17682067

6. Masuda, K, Kakugawa, K, Nakayama, T, Minato, N., Katsura, Y, and Kawamoto, H. (2007) T cell lineage determination precedes the initiation of TCR $\beta$  gene rearrangement. *J. Immunol.* 179:3699-3706. PMID: 17785806

7. Wang, S-F, Aoki, M., Shinozuka, Y., Nakashima, Y., Tanaka, H., Taniwaki, F., Hattori, M., and Minato, N. (2008) Development of Notch-dependent T cell leukemia by deregulated Rap1 signaling. *Blood* 111:3011-3016.

doi: 10.1182/blood-2007-07-103119.

8. Lin, D. Y., Tanaka, Y., Iwasaki, M., Gittis, A. G., Su, H-P., Mikami, B., Okazaki, T., Honjo, T., Minato, N., and Garboczi, D. N. (2008) Structure of the human programmed death (PD)-1 ligand and its complex with PD-1 that inhibits immune responses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA .105:3011-3016. doi: 10.1073/pnas.0712278105.

9. Kometani, K, Moriyama, M, Nakashima Y, Katayama, Y, Wang, S-F, Saito, T, Hattori, M and Minato, N. (2008) Essential role of Rap signal in pre-TCR mediated b-selection in ab T cell development. Blood 112; 4565-4573. doi: 10.1182/blood-2008-06-164517.

10. Minato, N., and Hattori, M. (2009) Spa-1 (Sipa1) and Rap signaling in leukemia and cancer metastasis. (Review article) Cancer Science 100; 17-23. doi: 10.1007/s11748-008-0294-z.

11. Minato, N (2009) Rap signaling in normal lymphocyte development and leukemia genesis. (Review article) Immune Network. 9, 35-40. doi: 10.4110/in.2009.9.2.35.

12. Katayama, Y., Sekai, M., Hattori, M., Miyoshi, I., Hamazaki, Y, and Minato, N. (2009) Rap signaling is crucial for the competence of IL-7 response and the development of B-lineage cells. Blood 114; 1768-1775. doi: 10.1182/blood-2009-03-213371.

13. Shimatani, K., Nakashima, Y., Hattori, M., Hamazaki, Y., and Minato, N. (2009) Memory phenotype PD-1<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> T cells expressing C/EBP $\alpha$  underlie T cell immunodepression in senescence and leukemia. Proc. Nat. Acad. Sci. USA.106;15807-15812. doi: 10.1073/pnas.0908805106.

14. Kasagi, S, Kawano, S, Okazaki, T, Honjo, T, Morinobu, A, Hatachi, S, Shimatani, K, Tanaka, Y, Minato, N. and Kumagai, S. (2010) Anti-PD-1 antibody reduces CD4<sup>+</sup> PD-1<sup>+</sup> T cells and relieves the lupus-like nephritis of 1 NZB/W F1 mice. J.Immunol., 184:2337-2347. doi: 10.4049/jimmunol.0901652.

15. Tanaka, H., Tamura, A., Hattori, M., Sekai, M., Hamazaki, Y., and Minato, N. (2011) Increased c-Myc activity and DNA damage in hematopoietic progenitors precede

myeloproliferative disease in Spa-1-deficiency. Cancer Science 102:784-791. (Issue Highlights) doi: 10.1111/j.1349-7006.2011.01850.x.

16. Shimizu Y, Hamazaki Y, Hattori M, Doi K, Terada Y, Kobayashi T, Toda Y, Yamasak T, Inoue T, Kajita Y, Atsushi M, Kamba T, Mikami Y, Kamoto T, Yamada T, Ogawa O, Minato N and Nakamura E. (2011) *Spa-1 (Sipa1)* controls the invasion and metastasis of human prostate cancers via Rap signal. Cancer Science, 102:828-836. doi:10.1111/j.1349-7006.2011.01876.x.

17. Kawai. K. Hamazaki, Y., Fujita, H., Fujita, A., Sato, T., Moriwaki, K., Furuse, M., Fujimoto, T., Agata, Y. and Minato, N. (2011) Claudin-4 is induced in thymocytes of late CD4/CD8 double positive stage by E2A and promotes abT cell receptor-mediated positive selection. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 108(10):4075-4080. Doi: 10.1073/pnas.1014178108

18. Sakamoto, S., Wakae, K., Anzai, Y., Murai, K., Tamaki, N., Miyazaki, M., Myyazaki, K., Romanow, W.J., Ikawa, T., Kitamura, D., Yanagihira, I., Minato, N., Murre, C., and Agata, Y. (2012) E2A and CBP/p300 act in synergy to promote chromatin accessibility of the immunoglobulin  $\kappa$  locus. J. Immunol. 188(11):5547-60. doi: 10.404/jimmunol.1002346.

19. Minato, N. Role of Rap signal in normal and disordered hematopoiesis (Review article) Exp. Cell. Res. [Epub ahead of print] doi:pii: S0014-4827(13)00168-7. 10.1016/j.yexcr.2013.04.009.

[学会発表] (計 9 件)  
(主な招待講演)

1. Minato, N. Memory phenotype PD-1 CD4 T cells expressing C/EBPs underlies the global T cell immunodepression in senescence and malignancy. Kyoto, International KTCC Workshop, June.1, 2009

2. Minato, N. Rap GTPase in normal lymphohematopoiesis and leukemia. China, Invited Lecture Series. Nov. 2, 2009

3. Minato, N. gd-T cells and cancer immunotherapy. Kobe, International Symposium of Japanese Immunology Society. Dec. 4, 2009

4. Minato, N. Lymphoid stree-surveillance response. Kanazawa, International Workshop on Cancer Biology, Aug, 28, 2010

5. Minato, N. Immunity and malignancy. Washington DC, Forum Science in Japan. June, 20, 2011

6. Minato, N. The impact of leukemia on immune system. Yokohama, International Symposium of Japanese Hematology Society. Oct. 14, 2011

7. Minato, N. Senescence-related T cells; Role in systemic autoimmunity and malignancy. Tokyo, International Conference on Autoimmunity. April 17, 2012.

8. Minato, N. Rap G protein: Biology and roles in malignancy, Stockholm, Invited Lecture Series, May 15, 2012

9. Minato, N. Rap signaling in normal hematopoiesis and hematologic malignancy, Milan, IFOM-Kyoto Symposium, Oct, 25, 2012

〔図書〕（計 1 件）

Minato, N. Rap1 and Spa-1. (2008)  
“Encyclopedia of Cancer” the second edition,  
pp2540-2544, Springer Press,

〔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◇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

湊 長博 (MINATO NAGAIHIRO)  
京都大学・医学研究科・教授

研究者番号：40137716

(2) 研究分担者  
( )

研究者番号：

(3) 連携研究者  
( )

研究者番号：