

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2021～2022

課題番号：21K19518

研究課題名(和文) IL-17産生 型T細胞を制御する新規癌免疫療法の創生を目指した基礎的研究

研究課題名(英文) Generation of novel cancer immune therapy by regulation of IL-17 producing gd T cells

研究代表者

調 憲 (Shirabe, Ken)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：70264025

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)：本研究では 型T細胞を除去するためUC-7(抗 抗体)またはIL-17産生 型T細胞のみ除去するため1C10-1F7(抗V 6抗体)をC57BL/6マウスに投与した後、メラノーマ細胞株(B16F10)または肺癌細胞株(3LL)を経静脈的に投与し14日目に肺転移数を評価した。コントロール群と比較し抗 抗体投与群または抗V 6抗体投与群でそれぞれ同程度に腫瘍結節数の減少を認めた。抗 抗体投与群または抗V 6抗体投与群において腫瘍周囲のCD8がコントロール群と比較し有意に増加しており、肺転移形成においてIL-17産生 型T細胞がCD8T細胞の活性化を抑制していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで腫瘍免疫応答において 型T細胞は免疫を活性化する役割と抑制する役割が報告され不明な点が多かった。本研究結果からIL-17産生 型T細胞(V 6陽性)は肺転移において免疫を抑制する役割を担っていることが明らかとなった。そのメカニズムとして腫瘍免疫応答で中心的な役割を担う活性化CD8T細胞を抑制している可能性が示唆された。今後、我々が確立した抗原特異的CD8T細胞を詳細に解析できるモデルを用いて、その抑制メカニズムを詳細に解析することにより、 型T細胞を制御する新規癌免疫療法の開発につながる点で意義の高い研究となる。

研究成果の概要(英文)：To deplete the either T cells or IL-17-producing T cells, C57BL/6 mice were treated with either anti- mAb or anti-V 6 mAb before tumor inoculation, and then intravenously administrated with B16F10 or 3LL. Metastatic lung nodules were examined on day 14 after tumor inoculation. The numbers of metastatic lung nodule in T cell-depleted mice or IL-17-producing T cell-depleted mice were decreased on day 14 compared with those in control IgG-treated mice.

We assessed the CD8, CD4 or Foxp+ T cells of peripheral lung tumors in those mice and found that the numbers of CD8+ T cells, but not both CD4+ T cells and Foxp+ T cells, were significantly increased in both T cell-depleted mice and IL-17-producing T cell-depleted mice compared with those in control IgG-treated mice. IL-17-producing T cells may play critical role in the negative regulation of activated CD8+ T cells during the generation of lung metastasis.

研究分野：Cancer immune therapy

キーワード：IL-17産生 型T細胞 V 6陽性 型T細胞 転移性肺腫瘍

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年、PD-1/PD-L1 を含めた免疫チェックポイント分子を制御し疲弊化 CD8T 細胞を活性化させる癌免疫療法が臨床応用されているが、その効果は一部の症例に限られ一時的であり、さらなる新規癌免疫療法の開発が必要である。

型 T 細胞は、腫瘍免疫応答で早期に IFN- γ を産生し抗腫瘍効果を示すことが報告され (Ikeda H et al. Cytokine Growth Factor Rev 2002、Gao Y et al. J Exp Med 2003) それを活性化させる癌免疫療法が臨床研究の範囲で行われているが十分な成果が得られていない。近年、この細胞は IFN- γ 産生細胞だけでなく、IL-17 産生細胞 (V β 6 陽性) が存在することが明らかとなり、この IL-17 産生 型 T 細胞は炎症を抑制し癌進行を誘導することが報告されている (Daley D et al Cell 2016、Carmi Y et al. J Immunol 2011)。このことから IL-17 産生 型 T 細胞を制御することにより抗腫瘍効果が得られる可能性が予想される。

2. 研究の目的

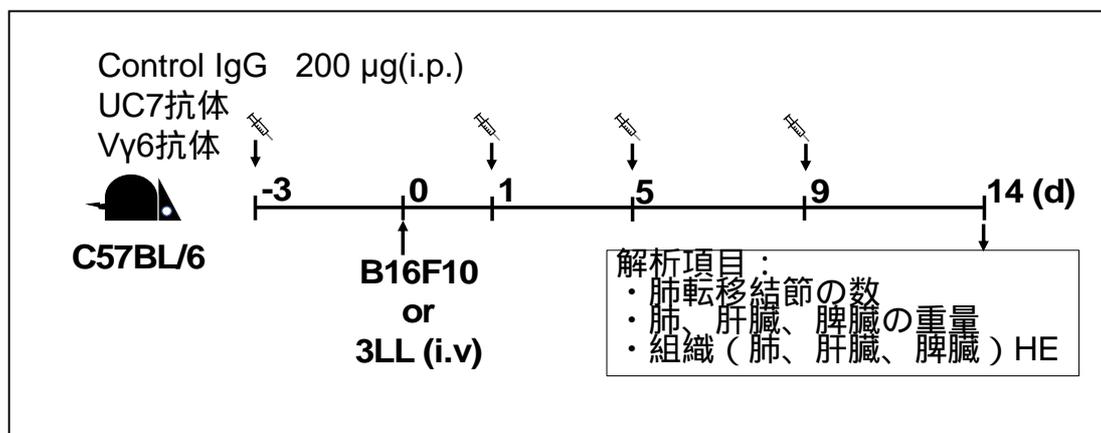
本研究では、IL-17 産生 型 T 細胞 (V β 6 陽性) に焦点を当て、癌微小環境における免疫抑制の分子機構を明らかにする。さらにその細胞を制御し活性化 CD8T 細胞誘導への効果についても解明する。本成果より IL-17 産生 型 T 細胞を制御する新規癌免疫療法の開発を目指す。

3. 研究の方法

C57BL/6 マウスにマウス腫瘍細胞株として肺癌細胞株 (3LL)、メラノーマ細胞株 (B16F10) をそれぞれ経静脈的に投与し、肺、肝臓、脾臓における 型 T 細胞の集積をフローサイトメトリーで検討した。その細胞のサイトカイン産生能を検討するため抗体刺激後、IFN- γ または IL-17 産生を細胞内サイトカイン染色で調べた。

また、IL-17 産生 型 T 細胞 (V β 6 陽性) の肺転移巣形成における役割を明らかにするため、 型 T 細胞を除去するため UC-7 (抗 抗体)、IL-17 産生 型 T 細胞のみ除去するため 1C10-1F7 (抗 V β 6 抗体) またはコントロール群としてコントロール IgG を C57BL/6 マウスに腹腔内投与した後、B16F10 または 3LL を経静脈的に投与し 14 日目の肺転移数を評価した (図)。

さらに他の免疫細胞への効果を調べるため、それらのマウスでの肺転移病変における腫瘍周囲の CD8T 細胞、CD4T 細胞、制御性 T 細胞をそれぞれ免疫染色で評価した。



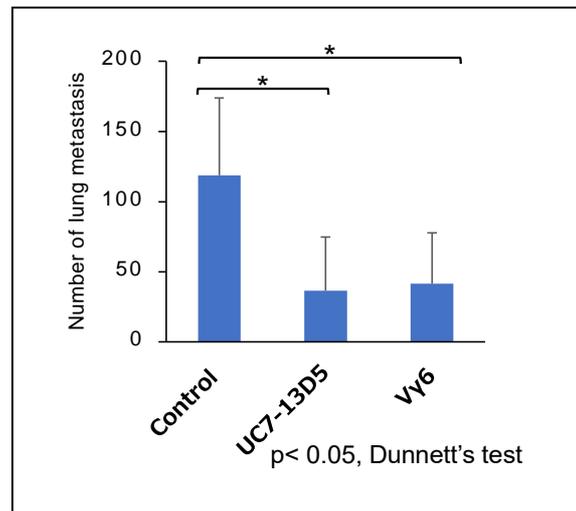
型 T 細胞による活性化 CD8T 細胞誘導への影響を調べるため、抗原特異的 CD8T 細胞の動態を詳細に解析できるモデルを確立した。モデルでは、OT-I マウス (OVA257-264 特異的 T 細胞レセプタートランスジェニックマウス) の脾臓からナイーブ CD8T 細胞を単離し C57BL/6 マウスに移入後、3LL-OVA (卵白アルブミン産生肺癌細胞株) を経静脈的に投与し、抗原特異的 CD8T 細胞の誘導を評価した。

4. 研究成果

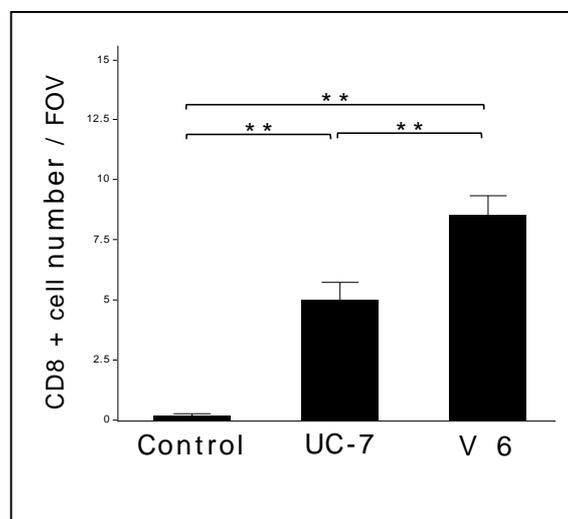
腫瘍接種 14 日目における肺、肝臓、脾臓の 型 T 細胞をフローサイトメトリーで解析すると、ナイーブマウスと比較して腫瘍接種マウスでそれは多い傾向を認めた。T 細胞全体では腫瘍接種マウスで有意に多かった。抗体刺激後の細胞内サイトカイン染色で 型 T 細胞による IFN- または IL-17 産生を評価したが細胞分画が少なく評価が難しかった。

型 T 細胞を除去または IL-17 産生 型 T 細胞のみ除去した場合の肺転移数は、コントロール群と比較しそれぞれ同程度に腫瘍結節数の減少を認めた(図)。脾臓、肝臓においても転移結節を評価したが明らかな結節を認めなかった。このことから IL-17 産生 (V 6) 型 T 細胞は、肺転移形成において免疫を抑制する役割を担っていることが示唆された。

IL-17 産生 型 T 細胞の免疫抑制のメカニズムを検討するため腫瘍周囲の CD8T 細胞、CD4T 細胞、Foxp3 陽性細胞をそれぞれ免疫染色で評価すると CD8T 細胞数は 型 T 細胞除去群または IL-17 産生 型 T 細胞除去群でコントロール群と比較し有意に増加していた (図)。これらの結果から肺転移形成において IL-17 産生 型 T 細胞が CD8T 細胞の活性化を抑制していることが示唆された。



さらに 型 T 細胞による活性化 CD8T 細胞の抑制メカニズムを検討するため、抗原特異的 CD8T 細胞の動態を詳細に解析できるモデルを確立した。腫瘍接種後、誘導される OT-I 細胞は、14 日目でピークを迎え以後減少した。OT-I 細胞における IFN- の産生またはグランザイム発現を、14 日目と 21 日目でそれぞれ比較すると 70%と 35%、30%と 1%であった。PD-1 発現は 80%と 70%と横ばいであった。これらのモデル疲弊化 CD8T 細胞が誘導され詳細な解析が可能であることがわかった。今後このモデルを用いて、 型 T 細胞による抗原特異的 CD8T 細胞の活性化を抑制する詳細なメカニズムの解明をすすめる。



型 T 細胞による抗原特異的 CD8T 細胞の

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 星野 弘毅、矢島俊樹、播本憲史、村主遼、萩原慶、山中崇弘、石井範洋、塚越真梨子、渡辺亮、新木健一郎、調 憲
2. 発表標題 抗原特異的CD8 T細胞誘導マウス腫瘍モデルを用いた動態解析
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村主 遼、矢島俊樹、星野弘毅、栗山健吾、塚越真梨子、山中崇弘、萩原慶、石井範洋、渡辺亮、新木健一郎、播本憲史、調 憲
2. 発表標題 抗原特異的CD8陽性T細胞の疲弊化誘導における各免疫チェックポイント分子の役割
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 栗山 健吾、矢島 俊樹、山口 亜梨紗、吉川 良平、村主 遼、須賀 邦彦、星野 弘毅、酒井 真、佐野 彰彦、小川 博臣、宗田 真、調 憲、佐伯 浩司
2. 発表標題 腫瘍局所への放射線照射により活性化される、全身での抗腫瘍免疫応答に関する検討
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 村主 遼、矢島俊樹、星野弘毅、山中崇弘、萩原慶、塚越真梨子、石井範洋、渡辺亮、新木健一郎、播本憲史、調 憲
2. 発表標題 抗原特異的 CD8T 細胞の疲弊化誘導における各免疫チェックポイント分子の役割
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 矢島 俊樹、村主 遼、星野 弘毅、吉川 良平、大瀧 容一、尾林 海、中澤 世識、河谷 菜津子、矢澤 友弘、塚越 真梨子、調 憲
2. 発表標題 抗 PD-1 抗体耐性メカニズムにおける疲弊化 CD8T 細胞での各免疫チェックポイント分子の役割
3. 学会等名 第122回日本外科学会定期学術集会
4. 発表年 2022年

〔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
研究分担者	矢島 俊樹 (Yajima Toshiki) (20346852)	香川大学・医学部・教授 (16201)	
研究分担者	塚越 真梨子 (Tsukagoshi Mriko) (60781317)	群馬大学・大学院医学系研究科・助教 (12301)	

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