

平成 21 年 5 月 27 日現在

研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790283
 研究課題名（和文） 未成熟ミエロイド系細胞の担癌宿主内動態とケモカインによる制御
 研究課題名（英文） Dynamism of immature myeloid cells in tumor-bearing host and its regulation by chemokines
 研究代表者
 上羽 悟史（UEHA SATOSHI）
 東京大学・大学院医学系研究科・特任助教
 研究者番号：00447385

研究成果の概要：

マウス皮下腫瘍モデルを用いて、担癌宿主における免疫抑制に重要な役割を果たすとされる ImC が主にマクロファージと好中球から構成されており、これらの細胞の担癌宿主内動態がケモカイン受容体 CCR2 によって制御されている事を明らかにした。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	2,400,000	0	2,400,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	270,000	3,570,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・実験病理学

キーワード：腫瘍、細胞遊走、ケモカイン、樹状細胞、マクロファージ、好中球

1. 研究開始当初の背景

抑制系免疫担当細胞による担癌患者における免疫抑制状態は、癌免疫療法において克服すべき重要な課題である。未成熟ミエロイド系細胞（immature myeloid cells: ImC）は、担癌患者の病変部位、末梢血およびリンパ組織に誘導され、腫瘍の進行に付随して増加する細胞サブセットであり、マウスにおいては CD11b 陽性 Gr-1 陽性細胞として、またヒトにおいても癌患者の末梢血より lineage 陰性 HLA DR 陽性細胞や CD11b 陽性 CD15 陽性 CD14 陰性の細胞として同定される。また ImC

は T 細胞に対する強い抑制活性を持つことからミエロイド系抑制性細胞（myeloid derived suppressor cell: MDSC）とも呼ばれており、近年では腫瘍免疫抑制解除の標的として注目されている。

国際的にも ImC を標的とした免疫抑制解除戦略の確立を目指し、ImC による T 細胞抑制の分子機構が精力的に研究されており、これまで細胞間接触依存性の抑制機構や iNOS, arginase 等を介する抑制機構が明らかにされてきた。抑制の分子機構や細胞特性に関する解析が進展する一方で、生体内における ImC の動態、他の細胞サブセットとの細胞間

相互、さらには ImC が病態の進行にどのような関与（腫瘍促進または抑制）を果たすかという、個体の中での ImC の細胞生物学的基盤は薄弱であった。

2. 研究の目的

本研究ではこれまで全く手のつけられていなかった、担癌宿主における「ImC による T 細胞抑制の「場」の可視化」、「ケモカインによる ImC の腫瘍浸潤制御の解明」、「骨髄および末梢血における ImC 前駆細胞の同定」を通じて ImC の本質を理解し、ケモカインを標的とした ImC の動態制御による新規な腫瘍免疫抑制解除戦略の基礎を築く事を目的とした

3. 研究の方法

(1) マウス皮下腫瘍モデルで誘導される ImC のサブポピュレーションをフローサイトメトリーによる免疫表現型解析および細胞化学染色により解析した。

(2) ImC サブポピュレーションの担癌宿主内動を、フローサイトメトリー、in vivo BrdU 標識試験、および並体結合実験により解析した。

(3) CCR1, CCR2, CCR5, CX3CR1 等のケモカイン受容体欠損マウスに 3LL を皮下接種し、腫瘍、脾臓、末梢血、骨髄における ImC の分布をフローサイトメトリーおよび免疫組織染色により経時的に解析した。

(4) CCR2 欠損マウスにおける T 細胞応答、腫瘍増殖、腫瘍局所の組織構築およびサイトカイン、ケモカイン、増殖因子の発現を解析した。

4. 研究成果

(1) マウス皮下腫瘍モデルで誘導される CD11b⁺Gr-1⁺ 腫瘍浸潤 MDSCs は、主に CD11b⁺Gr-1^{int}Ly-6C^{hi} 炎症性マクロファージと CD11b⁺Gr-1^{hi}Ly-6C^{lo} 好中球から構成される事を明らかにした (図 1)。

(2) In vivo BrdU 標識試験により、腫瘍浸潤マクロファージおよび好中球がいずれも末梢組織での増殖応答は示さず、またマクロファージのターンオーバーは好中球より速い事を明らかにした。(図 2)。また並体結合実験により、これらのポピュレーションが骨

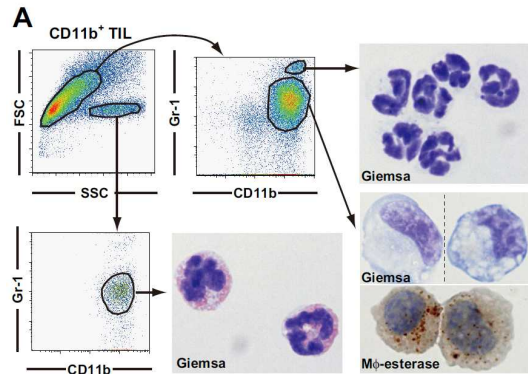


図 1: 腫瘍浸潤 MDSC のサブポピュレーション

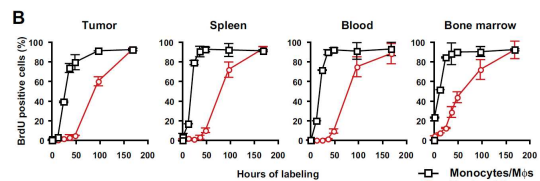


図 2: MDSC サブポピュレーションの増殖カINETIKS

髄に由来し、血行性に組織浸潤する細胞であり、組織浸潤後は速やかに除去されることを明らかにした。

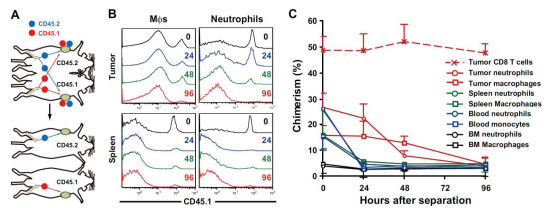


図 3: MDSC サブポピュレーションの組織残存時間

(3) ケモカイン受容体 CCR2 欠損マウスでは、腫瘍浸潤細胞の構成がマクロファージ優位から好中球優位へと変化しており、その一因として腫瘍局所における CXCL2 および G-CSF の過剰産生が関与している事を明らかにした (図 4, 図 5)。

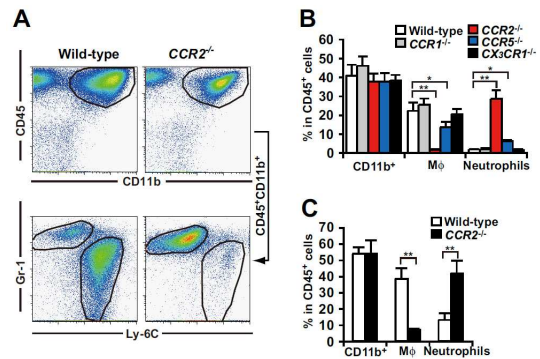


図 4: ケモカイン受容体欠損マウスにおける MDSC サブポピュレーションの腫瘍浸潤

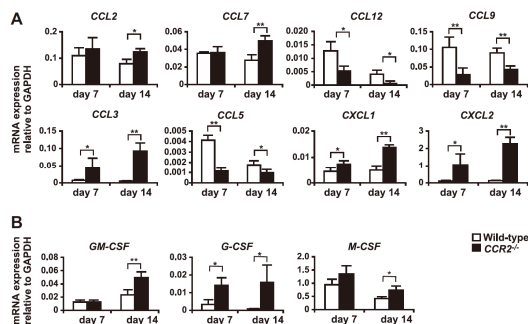


図 5 : CCR2 欠損マウスの腫瘍局所におけるケモカイン、増殖因子の発現

(4) CCR2 欠損マウスでは腫瘍組織における絵師領域が拡大する事、一方でエフェクター T 細胞の誘導増強および腫瘍増殖の抑制は得られない事を明らかにした (図 6, 図 7)。

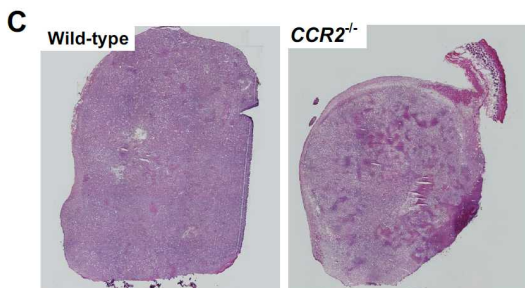


図 6 : CCR2 欠損マウスの腫瘍組織像

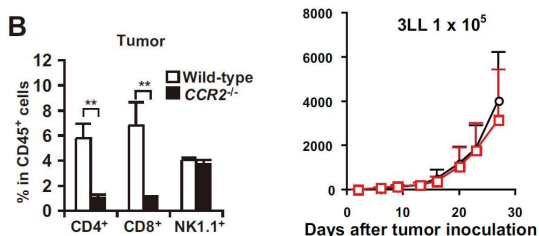


図 7 : CCR2 欠損マウスにおける T 細胞の腫瘍浸潤と腫瘍増殖

これらの結果から、CCR2 を標的として MDSCs の腫瘍浸潤を制御するのみでは治療効果を得るのに十分ではないことが示唆された

これらの成果はケモカインを標的とした ImC の動態制御による新規な腫瘍免疫抑制解除戦略の基礎を築く上で重要な貢献ができるものと思われる (図 8)。

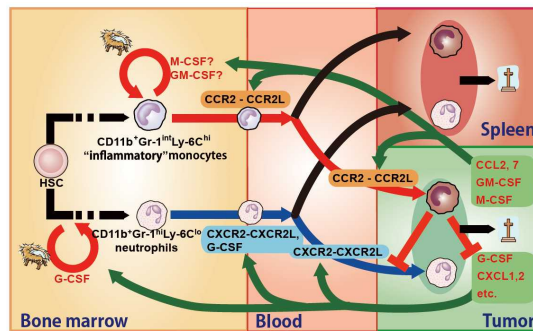


図 8 : ケモカインによる骨髄系抑制性細胞 (MDSC) の担癌宿主内動態制御

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 1 件)

- 1) Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. Sawanobori Y, Ueha S, Kurachi M, Shimaoka T, Talmadge JE, Abe J, Shono Y, Kitabatake M, Kakimi K, Mukaida N, Matsushima K. Blood. 2008 Jun 15;111(12):5457-66, 査読有

(学会発表)(計 10 件)

- 1) 上羽 悟史, Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice, 第 38 回日本免疫学会総会・学術集会, 2008 年 12 月 2 日, 京都市左京区・国立京都国際会館
- 2) 上羽 悟史, Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice, 第 67 回日本癌学会学術総会, 2008 年 10 月 28 日, 名古屋市熱田区・名古屋国際会議場
- 3) 上羽 悟史, ケモカインによる CD11b⁺Gr-1⁺ "Myeloid-derived suppressor cells" の単眼宿主内動態制御, 第 29 回日本炎症・再生学会, 2008 年 7 月 9 日, 東京都千代田区・都市センターホテル
- 4) 上羽 悟史, Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor

cells in tumor-bearing mice, 第12回基盤的癌免疫研究会, 2008年7月3日, さいたま市大宮区・大宮ソニックシティ

- 5) 上羽 悟史, Chemokine-mediated rapid turnover of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice, 第17回日本癌病態治療研究会, 2008年6月27日, 京都市下京区・メルパルク京都
- 6) Yasushi Sawanobori, Pivotal role of CCR2 in the recruitment of CD11b+Gr-1dull immature myeloid cells to the tumor tissue, 第37回日本免疫学会総会・学術集会, 2007年11月22日, 港区 グランドプリンスホテル新高輪
- 7) 上羽悟史, CCR2による未成熟ミエロイド系細胞の腫瘍浸潤制御, 第28回日本炎症・再生医学会, 2007年8月2日, 新宿区 京王プラザホテル
- 8) Satoshi Ueha, Pivotal role of CCR2 in the recruitment of CD11b+Gr-1dull immature myeloid cells to the tumor tissue, 66th Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, 2007年10月3日, 横浜市 パシフィコ横浜
- 9) Satoshi Ueha, Pivotal role of CCR2 in the recruitment of CD11b+Gr-1dull immature myeloid cells to the tumor tissue, 第11回基盤的癌免疫研究会総会, 2007年7月11日, 文京区 東京大学鉄門記念講堂
- 10) Satoshi Ueha, Pivotal role of CCR2 in the recruitment of CD11b+Gr-1dull immature myeloid cells to the tumor tissue, International symposium on molecular cell biology of macrophages, 2007年6月15日, 駿河区静岡コンベンションアーツセンター

〔図書〕(計 1 件)

- 1) 上羽悟史, 松島綱治, ケモカインによる制御性 T 細胞と骨髄系抑制性細胞の担癌宿主内動態制御, Minophargen Medical Review, 2009年 第54巻1号, 1-12

6. 研究組織

(1)研究代表者

上羽 悟史 (UEHA SATOSHI)
東京大学・大学院医学系研究科・特任助教
研究者番号: 00447385

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし