

氏 名	大塩 恭彦
学位の種類	博士（医学）
学位記番号	博士 甲第728号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成27年 3月10日
学位論文題目	Cancer-associated fibroblast-targeted strategy enhances antitumor immune responses in the dendritic cell-based vaccine. (がん関連線維芽細胞の機能阻害により樹状細胞ワクチン療法によって誘導される抗腫瘍免疫応答は増強する)
審査委員	主査 教授 杉原 洋行 副査 教授 村上 節 副査 教授 平田 多佳子

論文内容要旨

※整理番号	735	(ふりがな) 氏名	おしお やすひこ 大塩 恭彦
学位論文題目	Cancer-associated fibroblast-targeted strategy enhances antitumor immune responses in the dendritic cell-based vaccine (がん関連線維芽細胞の機能阻害により樹状細胞ワクチン療法によって誘導される抗腫瘍免疫応答は増強する)		
<p>【目的】がん組織は、がん細胞のみから成る組織ではなく、多種の間質細胞との複合体である。がん間質細胞のうち、がん関連線維芽細胞 (Cancer-associated fibroblast: CAF) は最も主要な細胞であり、epidermal growth factor、hepatocyte growth factor、stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) 等の液性因子を分泌して、がん細胞の増殖、浸潤、転移を促進すると考えられている。また、腫瘍免疫学的見地からは、CAF は、免疫抑制性のサイトカインである transforming growth factor-β (TGF-β) を分泌し、抗腫瘍免疫応答を抑制することも示唆されている。このような CAF の特性から、CAF は、がん治療の新たな標的として注目されているが、CAF の腫瘍免疫応答に対する機能については、不明な点が多い。</p> <p>我々は、これまでに、抗線維化薬・抗アレルギー薬として市販されているトラニラストは、臨床用量での血中濃度に近い 100μM 以下の濃度では、がん細胞や腫瘍組織に浸潤する免疫細胞群にアポトーシスを誘導しないが、CAF に対しては増殖を抑制する特異的阻害剤であることを報告した (参考論文)。さらに、同論文において、マウス腫瘍組織から単離した CAF にトラニラストを作用させると、SDF-1、TGF-β、prostaglandin E2 (PGE₂) などの免疫抑制性の液性因子の分泌が低下すること、抑制性の免疫細胞である制御性 T 細胞 (Treg) や myeloid-derived suppressor cells (MDSC) の前駆細胞からの誘導が抑制されることを見出した。この結果を踏まえ、本研究では、in vivo において CAF の腫瘍免疫応答における機能を明らかにすることを目的とした。そのために、担がんマウスモデルにおいて、トラニラストを腫瘍内投与して CAF の機能を阻害した際の腫瘍免疫応答の変化を系統的に解析した。さらに、CAF の機能阻害による免疫学的変化は、樹状細胞ワクチン療法によって誘導される抗腫瘍免疫応答に対して相乗的に作用するか解析し、がん免疫療法における CAF の機能阻害の意義について考察した。</p> <p>【方法】C57BL/6 マウス (6 週齢・メス) の側腹部に 5×10^5 のマウスリンパ腫細胞株 E.G7 を皮下移植し、7 日目以降 2 週間、200μM のトラニラストを 100μL、腫瘍内に連日投与した。対照群のマウスにはトラニラストの溶媒 (DMSO) や PBS を同様に投与した。最終投与から 5 日後に腫瘍、腫瘍所属リンパ節、脾臓を摘出した。この間、継時的に腫瘍径を測定し抗腫瘍</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、2千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

効果を評価した。腫瘍内の CAF の分布を α -SMA を指標にした免疫組織染色で、TGF- β 、PGE₂、SDF-1 の濃度を ELISA 法で、Treg、MDSC の割合を免疫組織 (蛍光) 染色で評価した。腫瘍所属リンパ節および脾臓における Treg、MDSC、抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の割合をフローサイトメトリーで評価した。また、脾細胞を用いて全身性の CTL 活性および Natural Killer 活性を細胞傷害性試験で評価した。E.G7、マウス肺がん細胞株 LLC1、マウスメラノーマ細胞株 B16F1 を皮下移植した担がんマウスに、トラニラストの腫瘍内投与と樹状細胞ワクチンの皮下接種を行い、併用効果について評価した。

【結果】 E.G7 担がんマウスにおいて、トラニラストの腫瘍内投与により、腫瘍内の CAF は有意に減少し、TGF- β 、PGE₂、SDF-1 の濃度も有意に低下した。CAF の機能阻害により腫瘍内、腫瘍所属リンパ節、脾臓において Treg、MDSC の数は減少した。一方で、腫瘍所属リンパ節、脾臓において E.G7 特異的な CTL の割合は増加し、全身性の CTL 活性および Natural Killer 活性は増強した。腫瘍増殖は CAF の阻害により有意に抑制された。このような免疫学的変化は、樹状細胞ワクチンとの併用により相乗的に増強され、E.G7、LLC1 および B16F1 の腫瘍増殖は有意に抑制された。しかし、E.G7 担がん免疫不全マウスでは、トラニラストの腫瘍内投与により CAF の阻害効果は得られたものの、腫瘍増殖は抑制されなかった。

【考察】 担がんマウスにおいて、CAF の機能阻害は、腫瘍内の免疫抑制性の液性因子の濃度を低下させた。この変化により、これらの液性因子が流入する腫瘍所属リンパ節において、抑制性の免疫細胞群の誘導を減少し、その結果、抗原特異的な CTL が増加した。抗腫瘍免疫応答が惹起される重要な場所での抗腫瘍免疫応答の改善により、全身性の抗腫瘍免疫応答が増強したと考えられた。このような状況で樹状細胞ワクチンを併用したことにより、抗原特異的な CTL の活性がさらに増強して抗腫瘍効果が増強したと考えられた。

【結論】 CAF は免疫抑制性の液性因子の産生を介して抑制性の免疫細胞群を誘導し、抗腫瘍免疫応答を負に制御していると考えられた。そのため、CAF の機能阻害によって、腫瘍所属リンパ節および全身性の抗腫瘍免疫応答が改善し、樹状細胞ワクチンの抗腫瘍効果が相乗的に増強すると考えられる。このことから、CAF の機能阻害は、がん免疫治療の抗腫瘍効果を増強させる新たな戦略となると考えられた。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	735	氏名	大塩 恭彦
論文審査委員			
<p>(学位論文審査の結果の要旨) (明朝体11ポイント、600字以内で作成のこと。)</p> <p>近年、がん細胞だけでなく、がんの生長を支えるがん間質も標的にする総合的ながん治療が有望視されている。本論文では、抗線維化薬として臨床で使われているトラニラストが、がん間質の主要な成分の一つで、がんに対する免疫反応を負に制御しているがん関連線維芽細胞(CAF)を特異的に阻害することを明らかにした著者らによる先行研究に基づき、トラニラストが <i>in vivo</i> でがん特異的な免疫療法の効果を増強するかどうかについて、担がんマウスモデルを用いて検討を行い、以下の点を明らかにした。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) トラニラストを腫瘍内投与することにより、腫瘍内のCAFの有意な減少、TGFβ等の濃度低下が起こり、腫瘍所属リンパ節や脾臓における制御性T細胞や骨髄由来免疫抑制細胞の数が減少する一方、腫瘍抗原特異的な細胞傷害性T細胞が増加し、natural killer 活性が増強した。 2) 腫瘍の生長はCAFの阻害によって有意に抑制された。 3) この腫瘍の生長抑制は樹状細胞ワクチンとの併用によって相乗的に増強された。 4) 担がん免疫不全マウスではトラニラストの腫瘍内投与により、CAFの阻害効果は得られたものの腫瘍の生長は抑制されなかった。 <p>本論文は、がんに対する免疫療法について、その効果を増強させる新しい知見を与えたものであり、最終試験として論文内容に関連した試問を受け合格したので、博士(医学)の学位論文に値するものと認められた。</p> <p style="text-align: right;">(総字数594字)</p> <p style="text-align: right;">(平成27年 1月28日)</p>			