



Title	Tetracyclines enhance antitumor T-cell immunity via the Zap70 signaling pathway
Author(s)	刀祢, 麻里
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/101794
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	刀 祢 麻里
論文題名 Title	Tetracyclines enhance antitumor T-cell immunity via the Zap70 signaling pathway (テトラサイクリン系抗菌薬によるZap70シグナル経路を介したT細胞性抗腫瘍免疫の賦活作用)
論文内容の要旨	
〔目 的(Purpose)〕 免疫チェックポイント阻害薬は単剤では奏功率が低く治療成績向上のために新たな作用機序に基づく治療薬の開発が望まれている。そこで既存薬の中から免疫賦活作用を示す薬剤を見出すため、二重特異性分子 (BiTE)を用いたT細胞活性評価系にてスクリーニングした結果、ミノサイクリンを含む複数のテトラサイクリン系抗菌薬にT細胞性免疫応答賦活作用があることが見出された。本研究ではテトラサイクリン系抗菌薬のT細胞性免疫応答賦活作用の機序を調べ、動物実験での検証を行うことで、テトラサイクリン系抗菌薬のT細胞性免疫応答賦活作用機序に基づいた創薬の可能性を検証することを目的とした。	
〔方法(Methods)〕 BiTEを用いた <i>in vitro</i> のT細胞活性評価系で、ミノサイクリンなどテトラサイクリン系抗菌薬投与時の健康人末梢血T細胞と非小細胞肺癌組織の腫瘍浸潤リンパ球 (TIL)をフローサイトメトリーやELISA、RNA-seqで解析した。さらにマウス腫瘍細胞株を皮下移植したマウスにテトラサイクリン系抗菌薬を経口投与した際の腫瘍成長曲線を検証し、TILをフローサイトメトリーで解析した。	
〔成績(Results)〕 BiTEを用いたT細胞性免疫応答評価系において、ミノサイクリンなどテトラサイクリン系抗菌薬の投与により健康人末梢血T細胞による腫瘍細胞傷害作用が増強し、T細胞活性化マーカーであるCD69の発現およびInterferon- γ (IFN- γ)分泌が増加した。テトラサイクリン系抗菌薬と共培養したCD8 ⁺ T細胞をRNA-seqで解析すると、リンパ球の活性化や細胞傷害活性に関するパスウェイの亢進がみられた。さらにテトラサイクリン系抗菌薬投与によりZap70リン酸化が増強しており、T細胞受容体シグナル伝達増強が活性化の引き金になっていると考えられた。またヒトの非小細胞肺癌から抽出した腫瘍浸潤リンパ球にテトラサイクリン系抗菌薬を投与した場合においてもT細胞活性化マーカーの発現上昇がみられた。 さらにテトラサイクリン系抗菌薬をT細胞ではなく、腫瘍細胞にのみ反応させた場合にT細胞による腫瘍細胞傷害が賦活化されたことより、テトラサイクリン系抗菌薬の標的細胞はT細胞ではなく腫瘍細胞であることが明らかになった。テトラサイクリン系抗菌薬の標的結合タンパク質として、T細胞性免疫抑制作用を持つことが報告されているGalectin-1を同定し、実際にSPR顕微鏡を用いて腫瘍細胞上のGalectin-1とテトラサイクリン系抗菌薬の結合反応を確認した。さらにRecombinant Galectin-1タンパク質によるヒト末梢血T細胞の免疫応答抑制作用がテトラサイクリン系抗菌薬で阻害され、またGalectin-1ノックアウト腫瘍細胞株をJurkat細胞と反応させた場合、野生型腫瘍細胞株でみられたテトラサイクリン系抗菌薬によるT細胞性免疫賦活化作用がみられないことより、テトラサイクリン系抗菌薬はGalectin-1に結合することでT細胞性免疫抑制作用を阻害する可能性が示唆された。 次にマウスにおけるテトラサイクリン系抗菌薬の抗腫瘍効果について検証した。マウス腫瘍細胞株CT26、EMT6をそれぞれ皮下移植したマウスにテトラサイクリン系抗菌薬を経口投与した結果、腫瘍成長が抑制された。またテトラサイクリン系抗菌薬投与マウスにおいては抗原特異的T細胞やIFN- γ 産生T細胞の増加がみられた。	
〔総 括(Conclusion)〕 テトラサイクリン系抗菌薬のZap70シグナル伝達経路の増強を介したT細胞性免疫賦活化による抗腫瘍効果が示され、動物実験もそれを支持する結果であった。今後テトラサイクリン系抗菌薬のT細胞性免疫応答賦活化機序を基にした新たながん免疫療法の開発が期待される。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)				刀祢 麻里	
論文審査担当者	(職)		氏 名		
	主 査	大阪大学教授	熊ノ御 淳		署名
	副 査	大阪大学特任教授	楠崎 雅司		署名
	副 査	大阪大学教授	江口 英利		署名
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>テトラサイクリン系抗菌薬はT細胞による腫瘍細胞傷害を賦活化したが、T細胞側の変化としてはT細胞早期活性化マーカーであるCD69の発現が増加していた。CD69の発現はT細胞受容体シグナル伝達の下流で増強することが知られているが、テトラサイクリン系抗菌薬投与時にはT細胞受容体シグナルを直接反映するZap70リン酸化増強もみられ、テトラサイクリン系抗菌薬によるT細胞活性化の引き金としてZap70シグナル伝達を介したT細胞受容体シグナル伝達が増強されていることが示唆された。テトラサイクリン系抗菌薬の標的結合タンパク質としては腫瘍細胞上のGalectin-1を同定し、Galectin-1のT細胞性免疫抑制作用をテトラサイクリン系抗菌薬が阻害する結果が得られた。テトラサイクリン系抗菌薬による変化は健常人末梢血T細胞だけでなく、ヒト肺癌腫瘍浸潤T細胞やマウスでも同様にみられた。これらの結果はテトラサイクリン系抗菌薬が今後新規癌免疫賦活化剤として応用できる重要な知見と考えられ、本審査は学位の授与に値するものと認める。</p>					