



Title	Macrophage inflammatory protein-1 alpha expands intratumoral DCs and augments anti-tumor immunity
Author(s)	中野, 晶子
Citation	大阪大学, 2007, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/47473">https://hdl.handle.net/11094/47473</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 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

氏名	なかのあきこ 中野 晶子
博士の専攻分野の名称	博士 (医学)
学位記番号	第 20935 号
学位授与年月日	平成 19 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 医学系研究科分子病態医学専攻
学位論文名	Macrophage inflammatory protein-1 alpha expands intratumoral DCs and augments anti-tumor immunity (リコンビナント MIP-1 $\alpha$ の経静脈投与は腫瘍内樹状細胞を増大し抗腫瘍免疫を増強する)
論文審査委員	(主査) 教授 川瀬 一郎  (副査) 教授 青笹 克之 教授 林 紀夫

## 論文内容の要旨

## 【 目的 】

抗原提示細胞である樹状細胞 (Dendritic cells ; DCs) は所属リンパ節での Th1 レスポンス及び CTL 誘導を起こす有力なバイオロジカルアジュバントとして研究、開発が進められているが、従来の DC をベースとしたワクチンは必ずしも効果的な腫瘍退縮に結びついていない。一方これまでの臨床研究によると、腫瘍局所中の myeloid DC (mDC) には良好な予後と相関があることが知られており、DC を腫瘍塊に集簇させることは、ワクチン効果を高める一つのアプローチとも考えられる。我々は以前からの研究により、CCL3 ケモカインである Macrophage inflammatory protein-1 alpha (MIP-1 $\alpha$ ) が血中 DC 前駆体を炎症組織へ誘導すること、リコンビナント MIP-1 $\alpha$  の静注によって末梢血中に誘導された DC 前駆体を、in vitro で maturation させた DC ワクチンは抗腫瘍 CTL を誘導することを明らかにした。mDC の migration メカニズムや、治療パターンによってどの様に DC は移動し腫瘍へ入り込んでいくのか理解を深めることは、抗腫瘍免疫を進展させていく上で重要であると考え、本研究では、MIP-1 $\alpha$  の DC inducer としての役割に特に注目し、担癌マウスモデルを用いて検討を行った。

## 【 方法と結果 】

以前に発表した、MIP-1 $\alpha$  の静注が DC 前駆体を末梢血中に誘導する知見に基づき、heat-killed *Propionibacterium acnes* (*Pacnes*) 投与による腫瘍局所の実験的な炎症と組み合わせることで、endogenous mDC を効率よく腫瘍へ集簇せしめ、抗腫瘍免疫の増強を導く事をマウス治療モデルで確認した。B6 マウスにマウス肺癌細胞 (3LL) を皮下移植し、24 時間後に heat-killed *Pacnes* 10  $\mu$  g/body を腫瘍局所に接種、更に 24 時間後 20  $\mu$  g/body の MIP-1 $\alpha$  を経静脈的投与する治療を 1クール/週、4週間行った。結果、MIP-1 $\alpha$  / *Pacnes* 治療群で 100%、*Pacnes* 治療群で 50%、MIP-1 $\alpha$  治療群で 12.5% の生存率が認められた。また、免疫組織化学を用いた腫瘍局所の組織染色像では、腫瘍移植から 10 日後の MIP-1 $\alpha$  / *Pacnes* 治療群組織で顕著な CD11c<sup>+</sup>/Gr-1<sup>-</sup> mDC の集簇が確認された。免疫組織化学染色を用いて腫瘍局所単位面積あたりの局所内 NK 細胞及び CD8<sup>+</sup>T 細胞数をカウントしたところ、腫瘍移植 3 日後において NK 細胞は control に対して MIP-1 $\alpha$  / *Pacnes* 治療群で 7 倍、MIP-1 $\alpha$  治療群で 1.6 倍の増加を示したのに対し

て、CD8<sup>+</sup>T細胞では各群に有意差を認めなかった。

NK細胞は、DCが産生するIL-2、IL-12やアジュバントからの刺激によって所属リンパ節中へ homing し、NK homing と Th1 応答の誘導が相関する事が知られている。今回のマウスモデルでも FACS 解析した所属リンパ節中のNK細胞数は、MIP-1 $\alpha$  / *P.acnes* 治療群が他の各治療群及び control に対して有意な増加を示し、Real-Time PCR による IFN- $\gamma$  発現の解析では所属リンパ節で control に対し MIP-1 $\alpha$  / *P.acnes* 治療群は 17 倍の発現量を認め、脾臓、非所属リンパ節においても IFN- $\gamma$  の発現が control に対して増加した。MIP-1 $\alpha$  / *P.acnes* 治療群での効率の良い NK homing と Th1 誘導が示唆された。

これらの結果を踏まえ、今回の系の治療効果に対するNK細胞やCD8<sup>+</sup>T細胞の影響度を in vivo depletion 実験にて検討した。CD8 depletion 群、NK depletion 群共に MIP-1 $\alpha$  / *P.acnes* による治療効果が解除され、腫瘍移植から 26 日後の腫瘍径は無治療 control : 76.86 $\pm$ 40.57 mm<sup>2</sup>、CD8 : 84.57 $\pm$ 28.58 mm<sup>2</sup> に対して NK : 137.61 $\pm$ 36.20 mm<sup>2</sup> と、NK細胞がより抗腫瘍効果に大きく影響する可能性が示唆された。

## 【 総 括 】

本研究によって初めてリコンビナント MIP-1 $\alpha$  を用いた癌免疫治療法の可能性が示され、そのメカニズムにおける mDC と NK の寄与する役割の大きさが示唆された。MIP-1 $\alpha$  は生体内で DC を動員、賦活する。従来の T 細胞、DC の機能を生体外で処理し賦活する治療方法と異なり、治療コストと患者への身体的負担が低減され、また DC の機能的変質を生じないメリットを有する。さらに癌治療に際しては、炎症を生起させた状態での投与が条件であるが、放射線照射、アジュバント投与、患部の凍結融解、超音波照射等と併用して投与することにより標的患部へ選択的に DC を集積させることが可能であり、従来の免疫療法より効果的で、かつ正常な細胞や組織への副作用の少ない治療効果が期待出来る。

## 論文審査の結果の要旨

樹状細胞 (Dendritic cells ; DCs) は抗腫瘍免疫応答を起こす有力な生物アジュバントとして知られるが、これまでの DC をベースとしたワクチンは必ずしも効果的な腫瘍退縮に結びついていない。臨床研究の実績に基づけば、相当量の DC を腫瘍塊に集積せしめれば確固たる抗腫瘍免疫応答を呼び起こすと予測される。本研究では担癌マウスモデルにおいて、アクネ菌を用いたアジュバントで腫瘍局所を炎症下にした上、リコンビナントの macrophage inflammatory protein(MIP)-1 $\alpha$  を経静脈投与することで効果的にミエロイド DC が腫瘍塊中に集簇することを見出した。同様に同群で、NK細胞の集簇が腫瘍局所と所属リンパ節に認められ、早期に Th1 型サイトカインである IFN- $\gamma$  の発現上昇が示された。更には両投与群での腫瘍拒絶と、MIP-1 $\alpha$  単独投与群においても有意な survival 延長を認めた。本研究によって初めて、リコンビナント MIP-1 $\alpha$  を用いた新たな癌治療法開発の可能性が示された。

本研究の結果は、新たな癌免疫治療開発に貢献するものであり、学位授与に値すると考える。