OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans
Author(s)	杉山, 大介
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51888
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	杉山　大介
論文題名 Title	Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans. （エフェクター型制御性T細胞の選択的除去による抗原特異的免疫応答の増強）

論文内容の要旨

〔目　的(Purpose)〕

近年、がんに対する治療法としてがん免疫療法が注目されている。がんの環境下では、がん細胞と免疫細胞の鬩ぎ合いが生じているが、中でも免疫抑制の中心的役割を担う制御性T細胞（Regulatory T cells: Tregs）はがん細胞を攻撃するエフェクターT細胞（CD8陽性T細胞: $CD8^+$ T cells）の活性を抑制している。また、Tregsの数が多い、あるいはTregsの割合が$CD8^+$ T cellsよりも多いがん患者は予後不良になることが報告されている。本研究では、がんに浸潤しているTregsの詳細な解析をおこなうと共に、がん局所のTregsを除去することで抗腫瘍免疫応答が増強するか否かを検討した。

〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕

悪性黒色腫患者由来の末梢血リンパ球（Peripheral Blood Mononuclear Cells: PBMCs）および腫瘍浸潤リンパ球（Tumor Infiltrating Lymphocytes: TIL）を用い、フローサイトメーターにてTregsの詳細な解析をおこなった。Tregsはマスター遺伝子であるForkhead box P3（FOXP3）陽性およびCD4陽性T細胞（$CD4^+$ T cells）で同定され、ヒトでは$CD4^+$ T cellsをFOXP3およびCD45RAで展開することで3つの細胞画分に分類できる。すなわち、$FOXP3^{lo}CD45RA^+$：Naïve Tregs、$FOXP3^{hi}CD45RA^-$：effector Tregs、$FOXP3^{lo}CD45RA^-$：Non Tregsに分類できる。この分類法を用いPBMCおよびTILを解析したところ、PBMCに比べTILのeffector Tregsの割合が高く、$FOXP3^+$ cellsのほとんどがeffector Tregsであった。そこで、effector Tregsに選択的に発現している分子を探索したところ、ケモカインレセプターの一種であるCCR4の発現が高いことが分かった。この結果から、抗CCR4抗体および磁気ビーズを用い、PBMCあるいはTILから$CCR4^+$ cellsの除去を試みた後、フローサイトメトリー解析をおこなった。その結果、PBMCおよびTILのeffector Tregsが有意に減少することが分かった。これらを踏まえ、CCR4を標的としたeffector Tregsの除去により、抗腫瘍免疫応答が増強するか否かを検討した。がん・精巣抗原NY-ESO-1陽性である悪性黒色腫患者由来のPBMCを用い、未処理の$CD4^+$ T cellsあるいは$CCR4^+$ cellsを除去した$CD4^+$ T cellsからNY-ESO-1特異的$CD4^+$ T cellsを誘導したところ、$CCR4^-$ $CD4^+$ T cellsにおいてのみNY-ESO-1に反応しうる$CD4^+$ T cellsを誘導することができた。また、未処理のPBMCあるいは$CCR4^+$ cellsを除去したPBMCからNY-ESO-1特異的$CD8^+$ T cellsの誘導を試みたところ、$CCR4^-$ PBMCから誘導したほうが多くのNY-ESO-1特異的$CD8^+$ T cellsを得られた。さらに、未処理PBMCからNY-ESO-1特異的$CD8^+$ T cellsを誘導する際に、抗ヒトCCR4抗体による抗体依存性細胞傷害活性により$CCR4^+$ cellsを除去したところ、より多くの特異的$CD8^+$ T cellsを誘導することができた。抗ヒトCCR4抗体は成人T細胞白血病・リンパ腫（Adult T cell Leukemia / Lymphoma: ATLL）の治療薬として使用されている。また、一部のATLL cellsはNY-ESO-1を発現していることが報告されている。そのため、抗ヒトCCR4抗体投与前後のATLL患者検体を用い、*in vivo*における$CCR4^+$ cellsの除去効果を検討した。その結果、抗CCR4抗体投与後では$CD4^+$ $FOXP3^+$ $CD45RA^-$ cellsの減少がみられ、ATLL抗原すなわちNY-ESO-1特異的な$CD8^+$ T cellsが増加していた。

〔総　括(Conclusion)〕

悪性黒色腫の腫瘍局所に浸潤している$CD4^+FOXP3^+$ cellsの多くがeffector Tregsであった。また、PBMCおよびTILのeffector TregsにおいてCCR4が有意に発現上昇していた。$CCR4^+$ cellsを除去したところ、effector Tregsが有意に減少し、腫瘍抗原特異的$CD4^+$および$CD8^+$ T cellsをより多く誘導することができた。これらの結果から、CCR4を標的としeffector Tregsを選択的に除去することで抗腫瘍免疫応答を増強することができ、新たながん免疫療法の開発につながると考えられる。

論文審査の結果の要旨及び担当者

（申請者氏名）杉山大介

論文審査担当者	（職）	氏　名
主　査	大阪大学教授	坂口志文
副　査	大阪大学教授	竹田潔
副　査	大阪大学教授	熊ノ郷淳

論文審査の結果の要旨

がんに対する新たな治療法として、免疫力を駆使したがん免疫療法の確立が進められている。がんの環境下において、負の免疫応答を担う制御性T細胞（Tregs）の腫瘍内浸潤が、がん患者の予後不良に起因することが報告されている。本研究では、ヒト悪性黒色腫局所に浸潤しているTregsの詳細な解析を行なうと共に、局所Tregsの選択的除去により抗腫瘍免疫応答が増強できるか否かを検討した。ヒトTregsは細胞表面分子CD45RAと転写因子FOXP3の発現差異から3つの細胞画分に分類できる。その中で、エフェクター型（$CD45RA^{-}FOXP3^{hi}$）Tregsが悪性黒色腫局所に多数浸潤していることが見出され、そのTregsにはケモカインレセプターの一種であるCCR4が高発現していた。抗ヒトCCR4抗体を使用しCCR4陽性細胞の除去を試みたところ局所浸潤エフェクター型Tregsが優位に減少し、がん抗原特異的T細胞応答が増強した。以上の結果から、本研究成果はCCR4を標的としたエフェクターTregsの除去による抗腫瘍免疫応答の増強が、新規がん免疫治療法に応用できる可能性を示唆したものであり、博士の学位授与に値すると考えられる。