



Title	PM01183 inhibits myeloid-derived suppressor cells in vitro and in vivo
Author(s)	黒田, 浩正
Citation	大阪大学, 2018, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/70734
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

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 黒田 浩正			
論文審査担当者	(職)	氏	名
	主 査	大阪大学教授	木村 正
	副 査	大阪大学教授	金谷 謙
	副 査	大阪大学教授	吉川 裕樹
論文審査の結果の要旨 骨髄由来免疫抑制細胞（MDSC）は、免疫抑制や血管新生、転移促進などを介して腫瘍の進展を促進し、また癌治療に対する抵抗性にも関与していることが知られている。このため、MDSC はがん治療の重要な標的であるが、MDSCに対する選択的阻害薬は開発されておらず、既存薬の Drug repositioning が現実的な治療法である。本研究では、既存薬剤である PM01183（Lurbinectedin）が MDSC に選択的に抑制効果を示すか検証をした。 本研究では、PM01183 が MDSC をアポトーシスに導き、また機能を抑制することを示した。またアポトーシスが起こる機序として、PM01183 によって MDSC のSTAT3 のリン酸化が起こるためであることを証明した。さらに、PM01183 による STAT3 リン酸化抑制によって、MDSC の Arginase 活性が低下しNO 産生が低下することを確認した。この経路の抑制によって、MDSC による抗腫瘍免疫担当細胞 CD8⁺T 細胞の増殖抑制効果も減弱されることを示した。また In vitro と In vivo の実験において、PM01183 は抗腫瘍免疫担当細胞である CD8⁺T 細胞と NK 細胞を抑制しないことも示した。このことは、殺細胞性抗癌剤である PM01183 が選択的に MDSC を阻害する効果を併せ持つ薬剤であることを示唆している。MDSC を標的にした癌治療への導入につながるものであり、本論文は学位論文に値する。			

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	黒田 浩正
論文題名 Title	PM01183 inhibits myeloid-derived suppressor cells <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> (PM01183 (ルビネクテジン) は骨髄由来抑制細胞を抑制し T細胞を増強する)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 骨髄由来免疫抑制細胞 (MDSC) は、骨髄球系の幹細胞由来の未熟な細胞であり、免疫抑制や血管新生、転移促進などを介して腫瘍の進展を促進する。MDSC は、シスプラチンなどの抗癌剤や放射線療法の抗腫瘍効果を減弱させることが分かっており、最近ではチェックポイント阻害薬の効果を減弱させることも報告されている。このように、MDSC はがん治療の重要な標的だが、MDSC に対する選択的阻害薬は開発されておらず、既存薬の Drug repositioning が現実的な治療法である。本研究では、既存薬剤である PM01183 (Lurbinectedin) が MDSC に選択的に抑制効果を示すか検証をした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 MDSC の生存性や活性化には STAT3 のリン酸化が関与していると報告されている。我々の研究においても、STAT3 のリン酸化によって MDSC の生存性が高まることを Apoptosis assay (Annexin V-PI) で確認した。さらに、Lurbinectedin により MDSC の STAT3 リン酸化が抑制されることがウェスタンブロッティングで確認できたため、実際に Lurbinectedin によりアポトーシスが誘導されるか検証をした。MDSC を Lurbinectedin 存在下で培養し Apoptosis assay をしたところ、Lurbinectedin の濃度依存的に MDSC の生細胞は減少しており、0.1nM では 85% 減少させることが分かった。既存の抗癌剤であるシスプラチンやバクリタキセルでは MDSC を減少さなかった。また In vivo では、Lurbinectedin を子宮頸癌細胞株 ME180 の担癌マウスに投与したところ、腫瘍中と脾臓中の MDSC の割合がともに減少することをフローサイトメトリーで確認した。 MDSC は、STAT3 のリン酸化により Arginase が活性化し L-アルギニンが代謝されて、NO の産生が亢進することで、抗腫瘍免疫担当細胞である CD8⁺T 細胞や NK 細胞の増殖活性化が抑制されることが分かっている。これらの経路に対する Lurbinectedin の影響を検討した。Lurbinectedin 存在下で MDSC を培養すると、Arginase 活性が低下しメディアウム中の NO 濃度が低下することを確認した (QuantiChrom arginase assay, Nitric Oxide Assay)。さらに、Lurbinectedin により MDSC による CD8⁺T 細胞の増殖抑制効果が減弱するか T cell suppression assay を行ったところ、Lurbinectedin を事前に投与した MDSC では CD8⁺T 細胞の増殖抑制効果が減弱することを確認した。以上より、Lurbinectedin は MDSC の Arginase 活性や NO 産生を阻害し、CD8⁺T 細胞増殖抑制効果を減弱させることが分かった。 最後に、Lurbinectedin が MDSC に対する選択性を持つか In vitro、In vivo で検証した。Lurbinectedin 存在下で、CD8⁺T 細胞と NK 細胞を培養した。Apoptosis assay で MDSC の生細胞の割合を比較したが、CD8⁺T 細胞は減少させず、NK 細胞ではより高濃度である 1nM でしか減少させなかった。また In vivo では、マウスに Lurbinectedin を投与しても CD8⁺T 細胞と NK 細胞はともに減少しなかった。 〔総 括(Conclusion)〕 Lurbinectedin は、MDSC のアポトーシスを誘導し機能を抑制するが、抗腫瘍免疫担当細胞である CD8⁺T 細胞や NK 細胞を抑制しないことが確認された。殺細胞性抗癌剤である Lurbinectedin は、MDSC 阻害効果も併せ持つ薬剤であり、癌治療への早期導入が期待される。	