

Title	Human Nkp44+ group 3 innate lymphoid cells associate with tumor-associated tertiary lymphoid structures in colorectal cancer
Author(s)	池田, 敦世
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/77543
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論文内容の要旨
Synopsis of Thesis

氏名 Name	池田 敦世
論文題名 Title	Human NKp44 ⁺ group 3 innate lymphoid cells associate with tumor-associated tertiary lymphoid structures in colorectal cancer (ヒトNKp44 ⁺ 3型自然リンパ球は大腸癌において腫瘍関連三次リンパ組織に関与する)
論文内容の要旨	
〔目的(Purpose)〕	
<p>自然リンパ球 (innate lymphoid cell: ILC) は、抗原受容体を持たず自然免疫を担当するリンパ球である。局所において速やかに反応し、免疫応答のメディエーターとなることで、腸管においても、恒常性維持や感染・炎症に対する免疫応答において重要な役割を果たしている。近年、ヒト腸管に存在する ILC が様々な疾患に関与することが示唆されてきているが、大腸癌における役割は不明である。そこで、我々は大腸癌に浸潤する ILC を解析し、大腸癌微小環境における ILC の役割について検討を行った。</p>	
〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕	
<p>まず、ヒト正常大腸粘膜に存在する ILC について解析を行った。大腸癌患者の手術検体を用いて、正常粘膜部の粘膜固有層より細胞を採取し flow cytometry にて ILC 分画を展開した。正常大腸には、ILC1、NKp44⁺ ILC3、NKp44⁻ ILC3 の 3 分画が存在しており、ILC2 はこれらと比較し非常に少ない分画であった。この中で、NKp44⁺ ILC3 が正常大腸に最も多く存在する ILC 分画であり、リンパ組織誘導に関与する遺伝子 (<i>LTA</i>, <i>LTB</i>, <i>TNF</i>, <i>NRP1</i>) を高発現していた。</p> <p>次に、大腸癌組織より細胞を採取して ILC 分画を解析した結果、癌部にも正常粘膜と同様の 3 分画 (ILC1、NKp44⁺ / NKp44⁻ ILC3) が存在していた。これらの分画の分布は、腫瘍深達度の進行に伴い変化し、NKp44⁺ ILC3 は T1/T2 腫瘍においては豊富に存在するが、T3/T4 腫瘍では減少していた。正常部および T1/T2 腫瘍、T3/T4 腫瘍に存在する NKp44⁺ ILC3 の機能に差がないか検討したところ、T3/T4 腫瘍に浸潤する NKp44⁺ ILC3 では、<i>RORC</i>, <i>IL22</i>, <i>IL17A</i> といった ILC3 の主要転写因子や一部のサイトカイン発現に差は見られないものの、<i>LTA</i>, <i>LTB</i>, <i>TNF</i> といったリンパ組織誘導に関与する遺伝子の発現が低下していた。<i>LTA</i> や <i>LTB</i> にコードされる lymphotoxin は、間質細胞に作用して接着分子やケモカインの発現を亢進させることで、異所性リンパ組織を誘導することが知られているため、大腸癌組織中の間質細胞を採取し解析した。T4 腫瘍の間質細胞では、T2 腫瘍の間質細胞と比較し、接着分子 (ICAM-1, VCAM-1) およびケモカイン (<i>CXCL13</i>, <i>CCL21</i>) の発現が低下していた。正常大腸の NKp44⁺ ILC3 と T4 腫瘍の間質細胞を共培養すると、間質細胞における <i>ICAM-1</i>, <i>CXCL13</i>, <i>CCL21</i> の発現亢進が見られ、以上より、NKp44⁺ ILC3 が間質細胞への作用を介してリンパ組織誘導に関与している可能性が示された。</p> <p>大腸癌組織に存在する異所性リンパ組織として、三次リンパ様構造 (tertiary lymphoid structure: TLS) が知られている。これらと NKp44⁺ ILC3 の関連を評価するために、まず、免疫組織化学染色により大腸癌に存在する TLS を評価した。TLS は中心部が CD20 および CD21 で染色され、辺縁部が CD3 で染色されるリンパ組織と定義され、腫瘍辺縁部および中心部に存在した。腫瘍組織の単位面積あたりの TLS の量は、Tis/T1 腫瘍で最も多く (0.25 ± 0.05 /mm²)、T3/T4 腫瘍においては大きく減少していた (T3: 0.05 ± 0.01 /mm², $P < 0.0001$) (T4: 0.03 ± 0.15 /mm², $P < 0.0001$)。また、二重染色を用いた免疫組織化学染色にて、TLS 内に CD3 陰性 Rorγt 陽性である ILC3 が存在することを確認した。CD3 陰性 Rorγt 陽性細胞も、腫瘍深達度の進行に伴い減少していた。大腸癌腫瘍組織における TLS と NKp44⁺ ILC3 の相関を検討した結果、TLS 密度は腫瘍 ILC における NKp44⁺ ILC3 の割合 ($R = 0.62$; $P < 0.005$)、および NKp44⁺ ILC3 の腫瘍単位重量あたりの細胞数 ($R = 0.64$; $P < 0.005$) と有意な相関を示した。</p>	
〔総括(Conclusion)〕	
<p>ヒト大腸癌組織には正常大腸粘膜と同様の ILC 分画が存在していた。正常大腸において、NKp44⁺ ILC3 が主要な ILC 分画であり、リンパ組織誘導に関与する遺伝子を高発現していたが、T3/T4 腫瘍では NKp44⁺ ILC3 の細胞数およびこれらの遺伝子発現は減少していた。NKp44⁺ ILC3 の減少は TLS の減少と相関しており、NKp44⁺ ILC3 が TLS 誘導を介してヒト大腸癌の抗腫瘍免疫に関与している可能性が示唆された。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 池田 敦世

	(職)	氏 名
論文審査担当者	主 査	大阪大学教授 土岐 裕一郎
	副 査	大阪大学教授 長谷 和世
	副 査	大阪大学特任教授 和田 尚

論文審査の結果の要旨

自然リンパ球 (innate lymphoid cell: ILC) は、腸管において、感染や炎症に対する免疫応答の重要なメディエーターとなっているが、大腸癌における役割は不明である。本研究では、ヒト大腸癌組織に正常大腸粘膜と同様のILC1、NKp44⁺ ILC3、NKp44⁻ ILC3の3分画が存在していることを同定した。正常大腸およびT1/T2腫瘍ではNKp44⁺ ILC3が最も豊富に存在し、リンパ組織形成に関与する遺伝子 (*LTA*, *LTB*, *TNF*) を高発現していたが、T3/T4腫瘍ではNKp44⁺ ILC3の細胞数およびこれらの遺伝子発現は大きく減少していた。NKp44⁺ ILC3の減少は腫瘍組織の三次リンパ組織 (tertiary lymphoid structure: TLS) の減少と相関しており、NKp44⁺ ILC3がTLS誘導を介して大腸癌の腫瘍免疫に関与している可能性が示唆された。

本研究はCancer Immunology Researchに掲載され、学位の授与に値すると考える。