



Title	In vivoにおける口腔レンサ球菌の抗腫瘍活性 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	原, 博志
Citation	北海道大学. 博士(歯学) 甲第11261号
Issue Date	2014-03-25
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/56229
Rights(URL)	http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Hiroshi_Hara_review.pdf (審査の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏名 原 博志

	主査	教授	山崎 裕
審査担当者	副査	教授	柴田 健一郎
	副査	教授	進藤 正信

学位論文題名

*In vivo*における口腔レンサ球菌の抗腫瘍活性

審査は、審査担当者全員の出席の下に行われた。まず申請者に提出論文の概要の説明を求め、次いで口頭試問形式で提出論文の内容及び関連分野について試問した。申請者は論文の概要を以下のように説明した。

細菌成分を認識する Toll-like receptor (TLR) の中で抗腫瘍活性に関する研究が進められているのが TLR2, TLR4 ならび TLR9 である。TLR9 リガンドである CpG-DNA は Th1 応答を誘導し、抗腫瘍効果を示すことが知られており、臨床応用(Phase 3)もされている。

今までに我々は、TLR2 リガンドであるマイコプラズマ由来リポペプチド FSL-1 が *in vivo*における腫瘍細胞の増殖を TLR2 依存的抑制することを明らかにした。また、我々は口腔レンサ球菌の全菌体の認識に、*in vivo* ならびに *in vitro*においても TLR2 が重要な役割を果たしていることを明らかにしてきた。

そこで、本研究では安全で有効な癌ワクチンを開発する第一段階として、合成された高価な TLR2 リガンドではなく、TLR2 で認識されることが明らかにされている口腔レンサ球菌の全菌体を腫瘍接種後に免疫した場合に *in vivo*において抗腫瘍活性を示すかどうかを検証した。口腔レンサ球菌としては、結核菌や HIV の抗原タンパク質のワクチンベクターとしても現在用いられている口腔常在レンサ球菌である *Streptococcus gordonii*を用いた。

TLR2 を発現している C57BL/6 (B6)マウスにおいて、B16F0 メラノーマの増殖に及ぼす本菌の生菌ならびに熱処理菌体の影響を調べたところ、共に腫瘍増殖を有意に抑制していることがわかった。我々は *S. gordonii* 菌体の認識には TLR2 が重要な役割をはたしていることを既に明らかにしている。そこで、本菌体の抗腫瘍活性が TLR2 依存的であるか否かを調べるため、B6 マウスから TLR2 をノックアウトした TLR2^{-/-}マウスでも同様の腫瘍細胞の増殖を調べた。その結果、予想に反して、TLR2^{-/-}マウスでも B6 (TLR2^{+/+}) マウスの場合と同

様に、本菌菌体による抗腫瘍活性が認められた。このことは、レンサ球菌の菌体には TLR2 のリガンド以外にも、TLR9 リガンドである CpG-DNA、NOD2 のリガンドである PGN 由来のムラミルジペプチド等が含まれていることから、それらのパターン認識受容体のシグナルが菌体の抗腫瘍活性に関与していることが示唆された。実際に、我々は *S. gordonii* の全菌体が NOD2 で認識されることを報告している。

S. gordonii における抗腫瘍活性のメカニズムを調べるため、腫瘍細胞を傷害する細胞であるナチュラルキラー (NK) 細胞や、腫瘍特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の活性を脾臓ならびに所属リンパ節で調べたところ、菌体免疫により両細胞の活性が亢進していることが分かった。

次に、我々は、担癌生体における癌組織の微小環境における免疫抑制や免疫回避機構に注目した。最近、癌細胞は免疫抑制性サイトカイン (TGF- β や IL-10) を産生する制御性 T 細胞 (Treg) や、骨髄由来抑制細胞 (MDSC) を癌局所に集積させることにより免疫抑制状態を惹起し、癌の増殖を有利にしていることが明らかにされている。そこで、B6 マウスに対し腫瘍細胞接種後 15 日目に、所属リンパ節細胞における Treg ならびに MDSC の割合をフローサイトメーターで測定した。その結果、菌体免疫により Treg や MDSC の所属リンパ節内での割合は減少していることがわかった。このことは *S. gordonii* 菌体免疫を行うことにより、腫瘍の増殖しやすい免疫抑制環境が阻害されたために腫瘍の増殖が抑制されたことを示唆している。

このように、本研究では口腔常在菌である *S. gordonii* の菌体は *in vivo* における抗腫瘍活性を有することが明らかにされ、安全性の高い癌ワクチンとしての可能性が示唆された。

続いて、審査担当者から本研究およびその関連事項について質問がなされた。主な質問内容は、以下の通りであった。

- 1) Th1, Th2 応答について
- 2) TLR9 リガンド CpG-DNA について
- 3) 正常な状態における Treg の役割について
- 4) 細胞内センサー NOD について
- 5) 腫瘍の大きさと生存率の相関性について
- 6) Treg, MDSC がどのように免疫抑制状態を惹起するのか
- 7) NK 細胞の機能について : ADCC 活性とは
- 8) 本研究の今後の展望について

以上の質問に対して申請者から適切かつ明快な回答が得られた。審査担当者との質疑応答をとおして、申請者が本研究ならびに関連分野に対する理解が十

分なされており、幅広い知識を有していることが明らかになり、本研究のさらなる発展・今後の研究が期待された。

以上のことから、審査委員は全員、本研究が学位論文として十分値し、申請者が歯学博士の学位を授与される資格を有するものと認めた。