



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	TLR2 シグナルは MDSCの生存と抑制活性を増強する [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	丸山, 晃
Description	配架番号 : 2169
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11687号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58827
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Akira_Maruyama_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 丸山 晃

	主査	教授	村上 正晃
審査担当者	副査	教授	瀬谷 司
	副査	教授	志田 壽利
	副査	准教授	森松 組子

学 位 論 文 題 名

TLR2 シグナルは MDSC の生存と抑制活性を増強する
(TLR2 signal enhances survival and immune-suppressive activity of MDSCs)

腫瘍の免疫療法では問題となる2つのポイントがある。1点目は、腫瘍特異的な免疫系を人為的に活性化できることである。そのため、腫瘍抗原特異的に反応するCD8+T細胞、いわゆる腫瘍特異的キラーT細胞を誘導する試みが行われてきた。2点目は、腫瘍に対する免疫反応を増強する行為自体が、同時に免疫反応を抑制する機構を作動させて、腫瘍の免疫療法の効果を抑制する点である。アジュバントとして用いられるTLRリガンドの投与でもこの抑制効果が知られている。これまでの先行研究から、免疫抑制に関連する細胞としてTAM(Tumor associated macrophage)、Treg(Regularoty T cell)、MDSC(Myeloid-derived suppressor cell)などが存在する。今回申請者は、マウスモデルを用いて、腫瘍特異抗原とアジュバントTLR2リガンド投与によっても腫瘍退縮が完全には進まないとの現象の分子メカニズムを検討した。その結果、TLR2リガンドによる免疫抑制性細胞MDSCの関与を見いだした。EG7細胞は、OVAを発現した胸腺腫EL4細胞であり、EG7細胞の特異抗原、OVAとPam2CSK4(TLR2リガンド)を投与すると腫瘍の退縮が予想された。しかし、実際には腫瘍の退縮がほとんど認められなかった。いくつかの既知の抑制細胞集団を検討するとMDSC細胞のみがTLR2リガンド投与依存性に増加、活性化して腫瘍特異的免疫反応の中心を成すCD8+T細胞を抑制していることが判明した。実際に、MDSC細胞は、TLR2刺激によってBclファミリー遺伝子の発現が亢進して生存が増加して、細胞数が増えている可能性が示唆された。試験管内の実験で、TLR2刺激によって増加したMDSC細胞はCD8+T細胞の増殖をROS依存性に抑制することがわかった。また、先行研究にてMDSC細胞はLy6CおよびLy6G発現にて単球系MDSC細胞と顆粒球系MDSC細胞に2分されることが判明していた。今回、TLR2リガンド刺激後には、ROSをより発現する単球系MDSC細胞が増えることがわかった。

審査にあたり、副査の志田教授より、非担ガンマウスでのTLR2刺激の役割についての質問があった。申請者は、非担ガン状態でもTLR2信号の導入にてMDSC細胞が増加して感染時の免疫反応の収束に機能している可能性を返答した。また、同教授より、逆にTLR2リガンドが免疫反応を増強する時の分子機構について質問があった。申請者は、TLR2リガンドが、MDSC細胞ではなく樹状細胞に働いた場合に活性化を誘導して腫瘍特異的なキラーT細胞を効率良く誘導する機構の可能性を説明した。

副査の森松准教授より、MDSC細胞の分化段階についての質問があった。申請者は、

MDSC 細胞が顆粒球系の未熟な細胞で単球、樹状細胞に分化できる未分化の細胞と返答した。また、同准教授より、今回の論文の解析を主に腫瘍組織に集積している細胞集団ではなく、脾臓で行っている理由、意義についての質問があった。申請者は、腫瘍細胞内に集積している細胞は、非常に数が少なく、安定的な結果が得られなかった事実を示し、より安定的な結果を得ることができる脾臓内の細胞集団の解析を今回主として行ったこと、さらに、MDSC 細胞自体の特性には、脾臓内と腫瘍組織内でも大きな変化がなかったことを返答した。

副査の瀬谷教授より、今回の MDSC 細胞出現の IL-6 非依存性の理由についての質問があった。申請者は、先行研究で示されている IL-6 依存性の MDSC 細胞出現について詳しく説明して、今回の実験系で MDSC 細胞出現が IL-6 非依存性であった理由については、他の STAT3 活性化因子の存在の可能性を返答した。また、同教授より、骨髄中の MDSC 前駆細胞が腫瘍組織に移行する分子機構について質問があった。申請者は、腫瘍組織から産生されるケモカインなどの遊走因子が骨髄中の MDSC 前駆細胞を腫瘍組織に移行させる分子機構の 1 つである可能性を返答した。

主査の村上教授より、MDSC 細胞の免疫抑制活性には細胞特異性があるかについての質問があった。申請者は、MDSC 細胞と CD8+T 細胞との接着が高い可能性を例に返答した。また、同教授より、同じ CD11b と Gr1 をマーカーにもつ好中球と MDSC 細胞との関連について質問があった。申請者は、MDSC 細胞は幼弱な顆粒球系の細胞なので、好中球にも分化できる細胞であり、実際に腫瘍組織では好中球数も増加していることを返答した。さらに、同教授より、MDSC 細胞の生体移入後の分化の実験に関して、実際に単球系 MDSC 細胞が割合だけではなく、実数としても増加しているかの質問があった。申請者は、具体的なフローサイトメーターの実験結果を表示して、本解析においては、実際に単球系 MDSC 細胞が割合だけではなく、実数として増加していると返答した。

本研究の基礎論文は *Biochemical and Biophysical Research Communications* 誌に掲載されている。また、本研究の成果はアジュバント投与時における免疫反応の活性化と不活性化のバランスを考える上で非常に重要であり、今後、TLR2 リガンド依存性の MDSC 細胞分化を人為的に制御できれば、本リガンドをヒトガン治療へ応用できる可能性を示したものと考えられる。

審査員一同は、上記の成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。