

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	担がんマウス生体内に存在する接着性新規免疫細胞の同定と機能解析
Title(English)	
著者(和文)	椿卓也
Author(English)	takuya tsubaki
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10821号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:近藤 科江,丸山 厚,中村 浩之,西山 伸宏,小倉 俊一郎
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10821号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体分子機能工学	専攻	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	（ 工学 ）
学生氏名： Student's Name	椿 卓也		指導教員（主）： Academic Supervisor(main)	近藤 科江	
			指導教員（副）： Academic Supervisor (sub)	丸山 厚	

要旨（和文 2000 字程度）

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

本論文は「担がんマウス生体内に存在する接着性新規免疫細胞の同定と機能解析」と題し、以下の 7 章より構成される。

第 1 章「研究の背景」では、腫瘍成長に大きく貢献している代表的な免疫細胞である CTL, TAM, MDSC の各々の機能について詳述し、現在のがん免疫療法の多くが CTL を再活性化するものであることを述べた。加えて、その CTL の不活性化に貢献する主要な細胞である TAM および MDSC も新規治療標的として注目されつつあることなど、本研究の背景について述べた。

第 2 章「新規免疫細胞 MLAC の同定と性状解析」では、CD11b⁺ Gr-1⁺ 細胞群を構成する各細胞種を識別する膜表面マーカーが同定されていないため、表面マーカーを用いた従来の FACS 法では各々を分取できない。そこで、腫瘍組織内の細胞を培養ディッシュで短時間培養し、強接着性細胞を回収したところ、約半数が CD11b⁺ Gr-1⁺ F4/80⁻であり、膜表面マーカーや骨髄由来細胞の主要な遺伝子の発現パターン、および形態学的特徴が、MDSC と似ていることを述べた。しかし、細胞サイズが MDSC よりも大きく、また、MDSC は接着性が弱い浮遊細胞であることから、強接着性 CD11b⁺ Gr-1⁺ F4/80⁻細胞は、既存の MDSC とは異なる新規細胞種であることを述べた。

第 3 章「MLAC の腫瘍増殖促進作用の解析」では、第 2 章にて同定した新規細胞種 MLAC の機能的な特性を MDSC と比較する目的で、腫瘍増殖促進作用について調べた。マウス由来の肺癌細胞株 LLC/Fluc を、MLAC または MDSC と一緒に B6 albino マウスの皮下に同種移植し、腫瘍増殖を生体発光イメージングで継続的に観察した結果、MLAC は、共移植後早期（8 日目頃）と後期（20 日目頃）の 2 段階で腫瘍増殖を有意に促進し、後期のみで腫瘍増殖促進作用を示した MDSC とは異なる腫瘍促進作用を有することを述べた。また、MLAC と LLC を、非接触型で共培養したところ、LLC 細胞の増殖が有意に促進されたことから、MLAC は直接的にがん細胞の増殖を促進する機能を有しており、共移植後の早期の腫瘍増殖促進作用は、この直接的な増殖促進機能による可能性があることを述べた。

第 4 章「MLAC のがん細胞増殖機構作用の解析」では、MLAC が非接触型の共培養で LLC 細胞の増殖を有意に促進したことから、サイトカインを介した癌細胞増殖促進が示唆された。候補因子を探索するために、培養上清 (CM) を用いたサイトカインアレイを行い、がん細胞や MLAC の単独培養 CM 中と比べて共培養 CM 中で顕著に増加していた 13 種のサイトカインを選出した。そのうち CXCL1, CXCL2, CXCL5 に注目し、それらのリコンビナントタンパク質、中和抗体、また対応する受容体 CXCR2 をノックダウンしたがん細胞株を用いたアッセイを行い、MLAC 由来の CXCL1, CXCL2, CXCL5 が、がん細胞の増殖を直接促進したことについて述べた。

第 5 章「MLAC による腫瘍増殖促進機構の解析」では、第 3 章で示された腫瘍増殖促進機能における MLAC と MDSC の違いを解明するために、MDSC が有する主な機構である(1) 血管新生促進、(2) CTL 抑制、(3) TAM への分化に注目し、MLAC がこれらの機能を有しているかを調査した。MLAC と共移植することで、腫瘍内の血管新生が有意に促進されたが、CTL 抑制能および TAM への分化能を MLAC は有しておらず、MLAC は機能面でも MDSC と異なることを述べた。

第 6 章「MLAC による MDSC の腫瘍組織内への誘引作用の解析」では、第 4 章のサイトカインアレイにて選出された 13 種の候補因子の中に MDSC の腫瘍内への誘引を促進するケモカイン 7 種が含まれていたことから、MLAC による MDSC 誘引作用を調査した。その結果、MLAC 共移植により、腫瘍内の MDSC が増加し、TAM の増加、活性化 CTL と NK 細胞の減少が確認された。また、腫瘍内の存在比に注目すると、MDSC が腫瘍の増殖に相関して増えているのに対し、MLAC は腫瘍サイズに依らずほぼ同じ割合で存在することが、LLC 腫瘍のみでなく他のがん種の腫瘍でも示された。これらの結果から、第 3 章で観察された後期の腫瘍増殖促進作用に MDSC が寄与していること、MLAC が免疫抑制型の腫瘍微小環境構築の開始に普遍的に貢献している可能性があることを述べた。

第 7 章「考察・今後の展望」では、今回の研究内容を考察するとともに今後の課題と展望を述べた。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800

Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。
Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻 : Department of	生体分子機能工学	専攻	申請学位 (専攻分野) : Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(工学)
学生氏名 : Student's Name	椿 卓也		指導教員 (主) : Academic Supervisor(main)	近藤 科江	
			指導教員 (副) : Academic Supervisor(sub)	丸山 厚	

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

A solid tumor tissue is composed of various types of stromal cells such as endothelial cells, fibroblasts, and immune cells. Among them, myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) are one of the key drivers of the immunosuppressive tumor microenvironment that is a hallmark of cancers. MDSCs are CD11b⁺ Gr-1⁺ tumor-infiltrating immature myeloid cells that strongly mediate tumor immunosuppression and several therapeutic strategies targeting MDSCs are currently under clinical trials. However, the CD11b⁺ Gr-1⁺ cells are a heterogeneous cell population, and the impacts of each subpopulation on tumor progression are not yet completely understood. In the present study, we identified a novel subpopulation of CD11b⁺ Gr-1⁺ cells from murine lung carcinoma tumors according to their strongly adherent abilities. Although strong adherent activity is a unique property of macrophages, their marker expression pattern is similar to that of MDSCs; thus, we named this novel subpopulation MDSC-like adherent cells (MLACs). Unlike known MDSCs, MLACs lack the ability to suppress cytotoxic T lymphocytes and differentiate into tumor-associated macrophages (TAMs), but could still directly facilitate tumor growth and angiogenesis through secreting CCL2, CXCL1/2/5, PAI-1, MMPs, and VEGFA. Furthermore, MLACs recruited MDSCs via the secretion of CCL2/5 and CXCL1/2/5, thereby enhancing the immunosuppressive tumor microenvironment and promoting TAMs-mediated tumor progression. Our findings suggest that MLACs may function as an initiator of the immunosuppressive tumor microenvironment and highlight a new therapeutic target to prevent the onset or delay malignant progression.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意 : 論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).