

第二次審査（論文公開審査）結果の要旨

Induction of tumor-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes from naïve human T cells by using *Mycobacterium*-derived mycolic acid and lipoarabinomannan-stimulated dendritic cells

結核菌由来ミコール酸(MA)ならびにリポアラビノマンナン(LAM)で活性化した樹状細胞による未熟 T 細胞からの腫瘍特異的 CD8 陽性キラー T 細胞の誘導

日本医科大学大学院医学研究科 男性生殖器・泌尿器科学分野
研究生 富田 祐司

Cancer Immunol Immunother. 2019 Oct;68(10):1605-1619 掲載

DOI: 0.1007/s00262-019-02396-8

BCG (*Bacillus de Calmette-Guérin*) 膀胱内注入療法は筋層非浸潤性膀胱癌に対する現時点で最も効果的な膀胱内注入療法である。申請者らは、これまで BCG を樹状細胞 (dendritic cell: DC) に感染させることにより、IL-12 や TNF- α を産生し、NKT 細胞や $\gamma\delta$ T 細胞の誘導を介して、T24 膀胱癌細胞の発育が抑えられることを報告してきた (*Cancer Immunol Immunother*, 2009, 58:1245-1255)。そして、BCG と DC とを 48 時間共培養したところ、生菌・死菌いずれにおいても DC の活性化が確認された。この際、生菌においては 60%以上の DC 細胞死が認められ、死菌においても 30%近くの DC 細胞死が認められ、BCG の樹状細胞に対する毒性が強いことが確認された。BCG 膀胱内注入療法に伴い、頻尿・排尿時痛・血尿・発熱・BCG 感染などの様々な有害事象が惹起されたことから、より効果的で毒性の低い治療法の開発が望まれていた。

一方、抗腫瘍免疫として最も重要なものは、class I MHC 分子に拘束された腫瘍特異的 CD8 陽性細胞傷害性 T リンパ球 (cytotoxic T lymphocyte: CTL) が誘導されることであり、腫瘍由来のエピトープや共刺激分子を発現した DC が、腫瘍特異的 CTL の分化誘導をコントロールしている。申請者らはこれまで、腫瘍内には共刺激分子の発現が減少した免疫抑制的な寛容型樹状細胞 (tolerogenic DC)が存在し、腫瘍特異的 CTL の誘導を抑制していることを報告してきた (*Immunol Cell Biol*, 2013, 91:545-555)。こうした tolerogenic DC は腫瘍由来の液性因子によって誘導され、ヒト CD141 分子ならびに XCR1 分子を発現している。この CD141・XCR1 陽性 tolerogenic DC を十分な共刺激分子を有した immunogenic DC に変換できれば、腫瘍内の未熟な T 細胞が活性化され腫瘍特異的 CD8 陽性 CTL を誘導されることが期待できる。

本研究の結果、申請者らは mycolic acid (MA)や lipoarabinomannan (LAM)など、毒性が非常に少ないヒト型結核菌由来脂質で、T24 膀胱癌細胞や dexamethasone 存在下で誘導した tolerogenic DC を刺激することにより、DC 上の CD141 及び XCR1 の発現が高まり、CD40・CD80・CD86 などの共刺激分子の発現が増加することを見出した。この際、BCG 由来の MA よりもヒト型結核菌（青山株）由来の MA の方が共刺激分子 CD86 の発現が増強することを確認した。さらには MA と LAM を併用することにより、CD141 及び XCR1 陽性 tolerogenic DC 上の共刺激分子発現が相乗的に強まり、より多量の IL-12 を産生する immunogenic DC に変換されることを確認した。さらに、MA と LAM 双方であらかじめ刺激した DC に T24 膀胱癌細胞抗原を取り込ませた後、ナイーブな CD3 陽性 T 細胞と共培養した結果、このナイーブな T 細胞が T24 膀胱癌細胞を特異的に傷害する CTL に変換されることを確認した。この際、MA と LAM で頻回刺激した場合、IL-12 産生能が高まり、より強い細胞傷害能を有した特異的 CD8 陽性 CTL が誘導されることを見出した。

以上本研究は、ヒト型結核菌由来脂質抗原の MA と LAM が tolerogenic DC を immunogenic DC に変換し、腫瘍抗原を捕捉提示することにより、近傍に存在する未熟な T 細胞を腫瘍特異的 CD8 陽性 CTL に変換できることを世界で初めて具体的に示したものであり、従来の BCG 膀胱内注入療法よりも効果が高く、より安全な治療法の開発に繋がるものであり、丸山ワクチンの真の作用機序の解明に繋がるものである。

第二次審査では BCG 膀胱内注入療法の副作用、CD141 陽性 DC の特性、CD141 や XCR1 の発現上昇における MA・LAM の相乗効果の機序、エフェクター細胞として CTL 以外に自然免疫が関連している可能性、膀胱癌以外の他癌腫への効果など、今後の研究課題や臨床への応用なども質疑応答がなされ、それぞれの確な応答がなされた。以上より、本論文は学位論文として価値があるものとして認定した。