

自然免疫制御機構に着目した生活習慣病発症因子の同定

北海道大学 遺伝子病制御研究所 附属感染癌研究センター
地主 将久

1. はじめに

がん、動脈硬化など生活習慣病の発症を予測する鋭敏な分子マーカーや、特異性の高い予防法の確立は効率的コスト化を伴う健康社会実現において喫緊の課題である。がんや動脈硬化性疾患の共通項として、病巣微小環境中の自然免疫シグナル活性が認められること、この制御機構の変化が発がんおよび動脈硬化性疾患の進展に深く関与していることが挙げられる。

本研究課題では発症前、初期における微小環境、とりわけミエロイド細胞において、TIM-3をはじめとした自然免疫シグナル活性を負に制御している因子群の発現ないし機能低下が発がん、動脈硬化性病変双方の疾患発症に寄与しているとの仮説に立脚して、とりわけ疾患特異性の高い責任因子の同定と機能解析を遂行する。さらに疾患モデル動物やヒト検体を対象にして、その疾患発症予測や治療効果に与えるインパクトを総合的に検証することで、新たな分子診断マーカーや分子標的剤の開発に貢献することを視野に、本研究を遂行した。本研究では、まず胃がん自然発症モデルを対象に、自然免疫制御因子TIM-3の発現動態と機能活性の発がん各期における変化について検証した。

2. 方法及び研究成果

胃がん自然発症モデルとして、胃粘膜特異的(K19)Wnt-5a強制発現マウス(K19-Wnt-5a TG)および K19-Wnt-5a にプロスタグランジン E2 合成酵素を強制発現したマウス(GAN マウス)の各々を対象として F4/80⁺CD11b⁺マクロファージや CD11c^{high}MHC class II⁺樹状細胞など、組織ミエロイド細胞における TIM-3 発現を検討した。K19-Wnt-5a TG マウスは第 30 週を境に胃腺腫を形成するが、進行性腺癌への移行を認めないのに対して、GAN マウスは 30~40 週を境に 100%の確立で胃腺癌に進行するという特徴を有し、発がん早期、晩期における免疫応答の相異の比較検証に有効である。胃腺腫モデルでは、腺腫発現期に一致して TIM-3 発現がマクロファージ、樹状細胞に認められ、かつ腺腫組織内における自然免疫活性の抑制に貢献していた、それに対して、GAN マウスにおいては発がん非顕在期に TIM-3 発現や自然免疫応答の抑制が認められ、発がん顕在期では腺癌組織由来ミエロイド細胞の多くで TIM-3 発現の抑制と、IL-6、TNF α 高発現など炎症シグナル活性、および高頻度のミエロイド細胞の浸潤を認めた。その病変部マクロファージの多くは CD11c^{low}MHC-II^{low}CD206^{high} M2 マクロファージや CD11b⁺Gr-1⁺ミエロイド由来サプレッサー細胞(MDSC)であり、腺腫、腺癌間に大きな差を認めなかった。この粥状硬化巣より分離されたマクロファージにおける自然免疫活性能を検証するため、腺腫、腺癌組織より分離されたマクロファージや樹状細胞を対象に、HMGB1、CpG-ODN 刺激、および抗 TIM-3 中和抗体存在下での IFN- α 、IL-6、TNF α 産生能を検証した。その結果、腺腫内マクロファージは腺癌マクロファージと比較して、IFN- α 、IL-6 産生能が低下していること、抗 TIM-3 中和抗体により、特に腺腫病巣マクロファージ、樹状細胞における炎症性サイトカイン産生能の増強が認められることが判明した。以上の結果は、胃発癌の初期に、とりわけミエロイド細胞に高誘導される TIM-3 は、DAMPs を介した自然免疫炎症を負に制御すること、病態の進行に伴い TIM-3 発現低下を誘発されることで、逆に炎症応答増強に寄与していることが明らかとなった。

よって、申請者は Apo-E-KO マウスおよび高脂肪食接種 Apo-E-KO マウスに対して抗 TIM-3 中和抗体を投与することで、粥状硬化巣の進行を *in vivo* で追跡することとした。その結果、TIM-3 阻害は Apo-E-KO マウスにおける粥状硬化巣の進行を早め、冠状動脈や頸動脈の動脈

硬化症の発症を有意に増強させることが明らかとなった。それに対して、抗 TIM-3 抗体による影響は、高脂肪食負荷 Apo-E-KO では軽微であった。以上より、粥状硬化巣形成初期に誘導される TIM-3 は、病変局所の自然免疫応答を負に制御することにより、プラーク破綻や動脈硬化症発症を防止する生体防御因子として機能することを同定した。

3. 考察・まとめ

近年になり、発がんの進行や転移活性に、マクロファージなどミエロイド細胞における自然免疫シグナル活性が深く寄与することが明らかになり、注目されている。今後、腺腫、腺癌モデル各々に対して TIM-3 遺伝子欠損マウスを組み合わせることで発がん各期における TIM-3 活性変化と発がん活性との経時的パターンを明らかにする予定である。さらに TIM-3 アゴニスト、アンタゴニスト抗体双方を併用することによって、その発がん進展に及ぼすインパクトを検証していく計画である。本研究によって、主要な生活習慣病であるがんに対する進行を予測するバイオマーカー、あるいは新たな予防医薬の標的としての TIM-3 の役割を明らかにした。今後は臨床への橋渡しを含め、TIM-3 以外の、発がん、生活習慣病制御に寄与する自然免疫制御因子の同定や機能解析に取り組んでいく予定である。

4. 発表論文、参考文献

1. Baghdadi M, Yoneda A, Yamashina T, Nagao H, Komohara Y, Nagai S, Akiba H, Yoshiyama H, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Takeya M, Tahara H, Viollet B, Yagita H & **Jinushi M***. TIM-4 glycoprotein-mediated degradation of dying tumor cells by autophagy leads to reduced antigen presentation and increased immune tolerance. *Immunity* 39: 1070-1081, 2013.
2. **Jinushi M*** Yin and yang of tumor inflammation: how innate immune suppressors shape the tumor microenvironments. *International Journal of Cancer*, in press
3. Komohara Y, **Jinushi M**, Takeya M. Clinical significance of macrophage heterogeneity in human malignant tumors. *Cancer Science*, in press.
4. Baghdadi M & **Jinushi M*** Impact of TIM gene family on tumor immunity and immunosuppression. *Cellular and Molecular Immunology*, in press.
5. Yoneda A & **Jinushi M*** TIM-3 as an emerging target for immunotherapy in cancer management. *ImmunoTargets and Therapy* 2: 135-141, 2013.
6. **Jinushi M***, Yagita H, Yoshiyama H, Tahara H. Putting the brakes on anticancer therapies: suppression of innate immune pathways by tumor-associated myeloid cells. *Trends in Molecular Medicine*, 19: 536-545, 2013.
7. Baghdadi M, Nagao H, Yoshiyama H, Akiba H, Yagita H, Dosaka-Akita H & **Jinushi M*** Combined blockade of TIM-3 and TIM-4 augments cancer vaccine efficacy against established melanomas. *Cancer Immunology Immunotherapy* 62: 629-637, 2013.
8. **Jinushi M*** Regulatory mechanisms of nucleic acid-mediated innate immune responses in the tumor microenvironment. *Oncolmunology* 1: 1632-1634, 2012.
9. **Jinushi M***, Chiba S, Baghdadi M, Yoshiyama H: Regulation of cancer stem cell functions by tumor-associated macrophages. *American Journal of Cancer Research* 2: 529-539, 2012.
10. **Jinushi M*** Chronic activation of DNA damage signals causes tumor immune evasion in the chemoresistant niche. *Oncolmunology* 1: 400-402, 2012.
11. **Jinushi M*** The role of innate immune signals in the regulation of antitumor immunity. *Oncolmunology* 1: 189-194, 2012.
12. China S, Baghdadi M, Akiba H, Yoshiyama H, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Gorman JV, Colgan JD, Hirashima M, Uede T, Takaoka A, Yagita H & **Jinushi M*** Tumor-infiltrating DCs suppress nucleic acid-mediated innate immune responses through interactions between the receptor TIM-3 and the alarmin HMGB1. *Nature Immunology* 13: 832-842, 2012.