

令和元年度 共同研究報告書

研究区分		
研究課題		がん、感染に関わる炎症性単球サブセットの機能解析
新規・継続の別		<u>新規</u> ・ 継続
研究代表者	所属	北里大学獣医学部動物管理室
	職名・氏名	准教授・藤倉大輔
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	
	職名・氏名	
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	教授・高岡晃教
概要 (100～150 字程度)		がん等の疾患制御に重要な機能を担う単球サブセットにおける TNFRSF21/death receptor 6 (DR6) の機能を解析した。公共データベースの解析から、DR6 タンパク質は、乳がんやメラノーマ患者の病変部位において単球様細胞に強発現していることが確認された。また、DR6 およびそのリガンドである Syndecan-1 タンパク質は単球分化過程において段階的に発現誘導され、IL10 産生単球サブセットへの分化制御に機能的に関与しうることが示唆された。
研究目的 (300 字程度)		単球およびそれから分化したマクロファージは、食食能を介して抗微生物感染応答を担い、或いは サイトカイン産生を介して炎症応答における重要な役割を担う。また、最近では抗炎症性物質を産生し、がんの浸潤を促進するなど、がんとの密接な関係が明らかにされつつある。単球・マクロファージは上記疾患において重要な役割が明らかにされつつあるものの、様々な細胞膜表現型及び機能を示す多様なサブセットにより構成されたヘテロな細胞集団であり、個々のサブセットの役割および機能制御機構には依然として不明な点が多い。本研究では、新たに単球・マクロファージ機能 制御への関与が見出された TNFRSF21/death receptor 6 (DR6) の分子機能的役割を明らかにする。

研究内容・成果 (1000 字程度)	DR6 とがん疾患の関与を検討するため、公共データベース (The human protein atlas、https://www.proteinatlas.org) における解析を行ったところ、複数の乳がんおよびメラノーマ患者病変切片において、腫瘍に浸潤する単球様細胞に抗 DR6 タンパク質抗体染色陽性像が確認された。このことから、DR6 タンパク質が腫瘍浸潤単球サブセットの機能に関与する可能性が示唆された。次に、単球サブセットの分化過程における DR6 タンパク質の発現を解析した。単球サブセットの分化過程は、マウス大腿骨より採取した骨髄細胞を GM-CSF 存在下で培養することにより解析することが可能である (in vitro 分化実験)。上記実験系における分化細胞の DR6 タンパク質とそのリガンドである Syndecan-1 タンパク質発現をフローサイトメトリー法で経時的に解析したところ、分化過程初期の 4 日以降に DR6 タンパク質の発現が誘導されるのに対し、Syndecan-1 タンパク質は分化過程中期の 6 日以降に誘導されることが明らかとなった。この結果は、DR6 タンパク質シグナルが単球細胞分化過程に機能的に関与することを示唆する。次に、DR6/Syndecan-1 間結合を阻害する DR6-Fc タンパク質 (DR6 阻害剤) 存在下で上記 in vitro 分化実験を行い、分化過程における細胞死誘導を解析した。通常培養条件下において、分化過程中期の 6 日以降に約 40% の細胞で細胞死が検出されたのに対し、DR6 阻害剤添加条件下においては、約 20% の細胞に細胞死が検出された。このことは、DR6 シグナルは単球細胞分化における細胞死誘導を促進することを示唆する。次に、通常培養条件下および DR6 阻害剤添加条件下において分化した単球細胞の機能を解析した。それぞれの条件下で分化した細胞に対して、LPS により活性化刺激を加え、それぞれの細胞における各種サイトカイン遺伝子発現を QPCR 法により検出し、それぞれの細胞における発現量を比較した。通常培養条件下で分化した細胞は LPS 刺激に応答して抗炎症性サイトカインである IL10 遺伝子を発現したのに対して、DR6 阻害剤添加条件下で分化した細胞では、より顕著な IL10 遺伝子発現亢進が認められた。一方で、通常培養条件下で分化した細胞は LPS 刺激に応答して炎症性サイトカイン遺伝子である IL12b や TNFα 遺伝子を顕著に発現したのに対して、DR6 阻害剤添加条件下で分化した細胞の IL12b あるいは TNFα 遺伝子発現量はより低値であった。上記の結果は、単球分化過程において、DR6 シグナルは単球の抗炎症性機能形質への分化を抑制する一方で、炎症性機能形質への分化を促進することを示唆する。これまでの報告から、抗炎症性機能形質を持つ単球サブセットは、宿主免疫細胞のがん細胞への炎症応答を抑制し、がんの進展を促進することが明らかにされつつある。このことから、DR6 は抗炎症性単球サブセットの分化を
-------------------------------	---

	抑制することにより、がん進展を抑制する機能を担うことが示唆される。現在、上記仮説を検討するため、DR6 ノックアウトマウスおよび DR6 作動性および阻害性抗体の開発を進めている。
成果	【学会報告】 参加者名、講演タイトル、学会名、開催場所、開催日時入力のこと 藤倉大輔、慢性炎症やがんにおける DR6 の機能解析、北海道大学遺伝子病制御研究所セミナー、北海道大学、2020 年 2 月 21 日午前 11 時
	【論文発表】 著者、論文名、掲載誌名、号・年・ページ等、IF 入力のこと 特になし
	【新聞報道】 特になし