

令和元年度 共同研究報告書

研究区分	一般共同研究	
研究課題	担がん生体・腫瘍微小環境におけるミエロイド系細胞群の新規制御機構解明とその制御によるがん治療効果	
新規・継続の別	新規・継続	
研究代表者	所属	鈴鹿医療科学大学 薬学部
	職名・氏名	准教授・西田 圭吾
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	鈴鹿医療科学大学・大学院薬学研究科
	職名・氏名	大学院生・出口 昌孝
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	准教授・北村 秀光
概要 (100～150 字程度)	<p>本共同研究では、担がん生体の慢性炎症や腫瘍微小環境における樹状細胞などミエロイド系細胞集団の誘導とその機能制御について、細胞内亜鉛シグナルに着目した検討を行う。また細胞内亜鉛ウェーブの制御により、担がん生体の免疫抑制状態が改善することや樹状細胞の活性化を介して宿主抗腫瘍免疫を賦活することを明らかにする。</p>	
研究目的 (300 字程度)	<p>亜鉛は、私たちの生命維持に重要な役割を担う必須微量元素の一つで、これまでマスト細胞や樹状細胞などミエロイド系細胞群において、刺激依存的に細胞内亜鉛濃度が変化する現象(亜鉛シグナル)を見出し、この亜鉛シグナルが、それぞれの細胞機能の制御に深く関与することを明らかとしてきた。そこで本共同研究では、炎症性疾患モデルマウスの病変組織や担がんマウスの腫瘍微小環境における各種ミエロイド系細胞集団の誘導と、その機能制御について、細胞内亜鉛シグナルに着目した検討を行い、慢性炎症や担がん生体における細胞内亜鉛ウェーブを介した新たな炎症反応・免疫応答の調節メカニズムを明らかにする。</p>	
研究内容・成果 (1000 字程度)	<p>亜鉛は必須微量元素の一つであり、生体機能の維持に重要である。従来、亜鉛はタンパク質の構造形成・維持に必要であることが知られていたが、近年亜鉛は細胞内のシグナル伝達に関与していることが明らかとなりつつある。これまでに、マスト細胞においてFcεRI 刺激によって細胞質内亜鉛濃度が5 から 15 分程度で上昇する現象が見出され、この現象は亜鉛ウェーブと名付けられた。亜鉛ウェーブは細胞内亜鉛シグナルの一種であり、サイトカインの転写を促進する役割を担う (Nishida K et al., <i>Journal of Immunology Research</i>, 2018)。さらに、ミエロイド系の樹状細胞を LPS で刺激した後、亜鉛蛍光プローブを用いて細胞内の亜鉛濃度を観測したと</p>	

ころ、亜鉛レベルが樹状細胞の成熟に伴って減少し、同時に獲得免疫反応に重要な MHC クラス II の細胞表面における発現レベルが上昇していることを見出している (Kitamura et al., *Nature Immunology*, 2006)。これらの結果は、細胞内亜鉛がマスト細胞や樹状細胞といった自然免疫反応に関与しているミエロイド系細胞集団の機能発現に関与していることを示している。

マスト細胞では Fc ϵ RI 刺激の他に、Toll 様受容体 4 (TLR4) 刺激や種々のサイトカイン受容体刺激によってもサイトカイン産生が行われるが、TLR4 やサイトカイン受容体のシグナル経路における亜鉛ウェーブの関与については検討されていなかった。そこで、本共同研究において、亜鉛ウェーブの制御機構解明の一環として、Fc ϵ RI 刺激以外のシグナル経路においても亜鉛ウェーブが関与しているのかを検討した。その結果、亜鉛シグナルは Fc ϵ RI の他に TLR4 や IL-33 受容体由来のシグナル経路においても存在することが示された (Uchida et al., *Biol. Pharm. Bull.*, 2019)。

またマウス生体から誘導した樹状細胞に対して L-type カルシウムチャネル (LTCC) 拮抗阻害剤や亜鉛キレーターで処理することで、細胞内亜鉛ウェーブの発生を遮断したところ、TLR リガンド刺激が起因となって生じる炎症性サイトカイン IL-6 の産生誘導が有意に減弱することを見出した。これらの結果は、亜鉛ウェーブが様々な細胞におけるサイトカイン転写の制御機構として機能する可能性を示唆した。

さらに、亜鉛ウェーブを抑制する阻害剤を用いて、LPS 誘導性の敗血症モデルで、生体における亜鉛ウェーブの関与を調べたところ、亜鉛ウェーブ阻害によって LPS 刺激誘導性の血清サイトカインが抑制されることも見出している。

今後、慢性炎症や担がん生体の免疫抑制状態における亜鉛シグナルの作用機序解明とその下流標的分子による抗腫瘍免疫応答の制御機構について検証することで、亜鉛シグナルの制御によるがん治療への応用も期待できると考えられる。

成果

【学会報告】

① K. Nishida and R Uchida, The 6th Meeting of International Society for Zinc Biology, Zinc plays roles in the inflammatory phase of wound healing through the GPR39/IL-6 axis, Kyoto, 10th Sep, 2019

【論文発表】

① Uchida R, Xiang H, Arai H, Kitamura H, and Nishida K. L-type calcium channel-mediated Zinc wave is involved in the regulation of IL-6 by stimulating non-IgE with LPS and IL-33 in mast cells and dendritic cells. *Biol. Pharm. Bull.* 42 (2019) 87-93, . DOI: 10.1248/bpb.b18-00565. (IF=1.540)

②Nishida K, Hasegawa A, Yamasaki S, Uchid R, Ohashi W, Kurashima Y, Kunisawa J, Kimura S, Iwanaga T, Watarai H, Hase K, Ogura H, Nakayama M, Kashiwakura J, Okayama Y, Kubo M, Ohara O, Kiyono K, Koseki H, Murakami M and Hirano T. Mast cells play role in wound healing through the ZnT2/GPR39/IL-6 axis. *Scientific Reports*. 9 (2019) 10842, DOI: org/10.1038/s41598-019-47132-5 (IF=4.011)

【新聞報道】

なし