

骨髓由来免疫抑制細胞の抑制機能発現における HMGB1 の機能解析

立花雅史

大阪大学大学院薬学研究科 附属創薬センター ワクチン・免疫制御学(BIKEN) 共同研究講座

【研究の背景】

我が国における死因の第一位は悪性新生物(がん)である。がんは第二位の心疾患による死者の約 2 倍の死亡率となっており、自殺・事故による死因を除けばほとんどの世代で最も死亡率が高い死因である。また全世界では、およそ 960 万人(2018 年, 全死亡者の約 1/6)ががんによって死亡しており、死因の第二位となっている。このような背景から、有効ながん治療法の開発は全世界の保健医療向上のためには必要不可欠であると言える。免疫抑制機構の阻害に基づく「免疫チェックポイント阻害療法」は様々ながん種で高い有効性を発揮しているが、有効性が認められる患者は2~3割にとどまっており、さらなる治療効果の向上が望まれている。新たな抑制性免疫細胞として注目を集めている骨髓由来免疫抑制細胞(Myeloid-derived suppressor cells; MDSC)は、CD11b と Gr-1 を共発現し、かつ T 細胞増殖抑制能を有することで定義される不均一な細胞集団である^{1,2)}。MDSC は担がん生体において分化・増殖し、抗がん免疫系細胞の抑制を介してがんの増悪を誘導することから、次なる免疫チェックポイント阻害療法の標的細胞として注目を集めている。しかしながら、その分化・増殖・機能発現における分子メカニズムは十分に理解されておらず、いまだ創薬には繋がっていない。

【目 的】

近年、MDSC の分化・増殖には炎症性サイトカインのみならず、細胞傷害時に放出される Damage-associated molecular patterns (DAMPs)も重要であることが報告されてきている。本研究では、DAMPs の一つである High mobility group box 1 (HMGB1)に着目し、HMGB1 がMDSC の分化や抑制機能発現に与える影響の分子メカニズムを解明することを目的とした。

【方 法】

マウス骨髓細胞を GM-CSF 存在下で 4 日間培養することで、*in vitro* MDSC を分化誘導できることが知られている。そこで、この *in vitro* MDSC 分化誘導系に HMGB1 を添加し、得られた *in vitro* MDSC について、抗 CD3ε/CD28 抗体刺激存在下で T 細胞と共培養した後、T 細胞増殖率を測定した。HMGB1 が *in vitro* MDSC の T 細胞増殖抑制能に与える影響の分子メカニズムを明らかにするため、HMGB1 のレセプターの一つである Toll-like receptor 4 (TLR4) や Type I IFN のレセプター IFNAR2 に着目し、そのノックアウト(KO)マウスを用いて上記の検討を行った。また、定量的 RT-PCR 法により MDSC における各種遺伝子発現について解析した。

【結 果】

TLR4 KO マウスの解析から、HMGB1 による *in vitro* MDSC の T 細胞増殖抑制能が TLR4 依存的に増強されることを明らかにした。また興味深いことに、別の TLR4 リガンドである LPS を添加した場合は、*in vitro* MDSC の T 細胞増殖抑制能が TLR4 依存的に減弱した。これらのことは、HMGB1 と LPS は TLR4 という共通のレセプターを介するにも関わらず、MDSC に対して正反対の作用を発揮することが支持される。続いて、TLR4 シグナル下流の分子について定量的 RT-PCR 法により解析した結果、Type I IFN の一つである IFN-α の遺伝子発現量が LPS 添加で低下し、HMGB1 添加で上昇するという、抑制能

の変化と相関する結果が得られた。そこで、*in vitro* MDSC 分化誘導系に IFN- α を添加したところ、MDSC の抑制能増強が認められた。さらに、IFNAR2 KO マウスを用いて同様の検討を行った結果から、HMGB1 による MDSC の抑制能増強には IFN- α が重要であることが示された。以上より、HMGB1 は MDSC の IFN- α 発現を上昇させることで、MDSC の T 細胞増殖抑制能を増強していることが明らかとなった。

【考 察】

一般に、Type I IFN は感染防御や抗腫瘍免疫に働くことが知られており、MDSC を減少させるという報告が多くなされている。一方で、Type I IFN が MDSC の抑制能に重要な遺伝子発現を上昇させるということも報告されていることから、HMGB1 により IFN- α の発現が上昇することで MDSC の免疫抑制能が増強されることも十分に考えられる。以上のことから、HMGB1 シグナルを標的とし MDSC の免疫抑制能を阻害可能な因子を同定することで、新規がん免疫チェックポイント阻害療法の開発につながると期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

がん患者において HMGB1 の発現上昇が報告されていることから、HMGB1 ががんの進展に寄与することが示唆されている^{3,4)}。本研究成果はこれらの知見を支持するものであり、MDSC を標的とした新規がん免疫療法に繋がる重要な成果である。さらなる研究を遂行し、今後のがん治療に貢献していきたい。

【参考・引用文献】

- 1) Bronte V. et al., *Nat. Commun.*, **7**, 12150 (2016).
- 2) Gabrilovich D. I. et al., *Nat. Rev. Immunol.*, **9**, 162-74 (2009).
- 3) Wu T. et al., *Oncotarget*, **7**, 50417-50427 (2016).
- 4) Yu J. et al., *Onco. Targets. Ther.*, **9**, 4901-4911 (2016).