

ビタミンCによるDNA脱メチル化が誘導するガレクチン3発現増加がCD8 T細胞の 腫瘍排除能に及ぼす影響の解明と癌免疫療法への応用

近藤健太

滋賀医科大学

【研究の背景】

癌免疫療法は、T細胞の免疫応答を人為的に高めることで腫瘍排除を促す治療法である。抗原刺激により活性化したT細胞がエフェクターやメモリーT細胞に分化するには、適切なゲノム領域が脱メチル化されることが必要であることが知られている^{1,2)}。DNA脱メチル化は、DNA脱メチル化酵素（TET）により誘導され、TETによるDNA脱メチル化には α KGと Fe^{2+} が必要とされる。ビタミンCは、 Fe^{3+} を Fe^{2+} に還元することでTETを活性化することでDNA脱メチル化を促進し、様々な生命現象に寄与することが報告されている³⁻⁶⁾。しかしながら、ビタミンCによるDNA脱メチル化促進作用のT細胞における役割は不明である。

【目的】

本研究では、ビタミンCのDNA脱メチル化促進作用がT細胞に及ぼす影響を明らかにすることを目的とする。さらに、ビタミンC存在下で培養したCD8 T細胞を用いた癌免疫療法への応用を検討する。

【方法】

1) ビタミンC処理CD8 T細胞の調整

B6マウスもしくはOT-I TCR Tg マウスの脾臓からナイーブCD8 T細胞を単離し、抗CD3/28抗体とIL-2存在下で4日間培養して活性化させた。その後、ビタミンCとIL-2存在下で4日間培養し、各種実験に用いた。

2) ビタミンCがCD8 T細胞の免疫応答に及ぼす影響の検討

1)の方法で用意したビタミンC処理CD8 T細胞をレシピエントマウスに移植し、3~4週間経過した後、OVA発現リステリア菌（LM-OVA）もしくはOVA発現EL4（EG7）細胞を投与して、病原体や腫瘍細胞に対する免疫応答を検討した。

【結果】

ビタミンC存在下で培養したCD8 T細胞をレシピエントマウスに移植すると、対照群のCD8 T細胞と比較して脾臓に存在する細胞が増加していた。さらに、ビタミンCで処理したOVA特異的CD8 T細胞をレシピエントマウスに移植後、OVA発現リステリア菌（LM-OVA）を感染させると、対照群と比較して急激に増殖した。これらの表現型は、ビタミンCと同様に還元作用をもつNアセチルシステイン（NAC）では認められなかった。したがって、ビタミンCはCD8 T細胞の生存能とリステリア菌に対する免疫応答を亢進させることが明らかとなった。

次に、RNA-seq解析を行い、ビタミンCにより発現増加する遺伝子としてGalectin3とBatf3を同定した。Galectin3の強制発現およびノックダウンは、CD8 T細胞の表現型に影響を及ぼさなかった。対して、Batf3の強制発現はCD8 T細胞の免疫応答を亢進させ、Batf3のノックダウンはビタミンCの効果を減弱させた。最後に腫瘍細胞に対する免疫応答を評価するため、

OVA 特異的 CD8 T 細胞を移植したマウスに OVA 発現腫瘍細胞を移植した。その結果、ビタミン C 処理 CD8 T 細胞を移植すると僅かにマウスの生存率が改善した。以上の結果から、ビタミン C は Batf3 を発現増加させ、CD8 T 細胞のリステリア菌と腫瘍に対する免疫応答を亢進させることが明らかとなった。

【考 察】

本研究により、ビタミン C は Batf3 を発現増加させることで CD8 T 細胞の免疫応答を亢進させることが明らかとなった。しかしながら、ビタミン C による Batf3 の発現増加が DNA 脱メチル化によるものかは不明である。現在、ビタミン C により脱メチル化を受けるゲノム領域の同定を試みている。本研究で見出したビタミン C による CD8 T 細胞の免疫応答促進作用を応用した新たな癌免疫療法の開発が期待される。

【臨床的意義・臨床への貢献度】

T 細胞の分化・活性化にはエピジェネティックな遺伝子発現機構に関わることが報告されているが、これを調節する因子は知られていない。特に腫瘍浸潤 T 細胞は、エフェクター分子のゲノム領域が高度にメチル化され機能不全になることから¹⁾、T 細胞のエピジェネティクスの制御機構の解明および人為的に制御する手法の開発が求められている。本研究では、ビタミン C による DNA 脱メチル化促進機構に着目し、CD8 T 細胞の遺伝子発現を変動させて免疫応答を促進することを見出した。ビタミン C は水溶性のため、過剰量を投与しても体外に排出されるため副作用の危険性が極めて低い。そのため、ビタミン C は副作用のリスクを上げることなく、既存のチェックポイント阻害薬と併用することで、治療効果を高められることが考えられる。今後、ビタミン C による CD8 T 細胞の免疫応答の促進作用を応用した免疫療法の開発を進めていきたい。

【参考・引用文献】

1. Ghoneim, H.E. *et al.* De Novo Epigenetic Programs Inhibit PD-1 Blockade-Mediated T Cell Rejuvenation. *Cell* **170**, 142-157.e119 (2017).
2. Youngblood, B. *et al.* Effector CD8 T cells dedifferentiate into long-lived memory cells. *Nature* **552**, 404-409 (2017).
3. Blaschke, K. *et al.* Vitamin C induces Tet-dependent DNA demethylation and a blastocyst-like state in ES cells. *Nature* **500**, 222-226 (2013).
4. Agathocleous, M. *et al.* Ascorbate regulates haematopoietic stem cell function and leukaemogenesis. *Nature* **549**, 476-481 (2017).
5. Cimmino, L. *et al.* Restoration of TET2 Function Blocks Aberrant Self-Renewal and Leukemia Progression. *Cell* **170**, 1079-1095.e1020 (2017).
6. DiTroia, S.P. *et al.* Maternal vitamin C regulates reprogramming of DNA methylation and germline development. *Nature* **573**, 271-275 (2019).