

## 論文内容の要旨

申請者氏名 藪 政彦

癌と炎症とは密接に結びついていることが知られている。癌局所では免疫担当細胞がしばしば浸潤しており、慢性炎症を誘発するのみならず、血管新生や組織の再構築を誘導する。IL-23はp19と、IL-12と共通のサブユニットp40とで構成されるヘテロダイマーであり、感染防御や炎症誘発、自己免疫疾患に関与する。近年、IL-17産生CD4<sup>+</sup> helper T (Th17) 細胞がIL-6とTGF- $\beta$ によりnaïve T細胞から分化誘導され、その機能維持にIL-23が働くことが報告された。また、IL-23は癌組織で高発現しており、抗癌免疫に関与すると報告されている。IL-23は、血管新生や組織再構築に関わるIL-17産生を誘導し、IL-23/IL-17経路は癌の成長促進に関わると考えられている。

当研究室において、肺癌細胞株培養上清がIL-23p19遺伝子のTLRリガンド刺激依存的な発現を増強することを見出した。私が構築したヒトIL-23p19遺伝子プロモーター領域のレポーター遺伝子アッセイ系により、当研究室で、乳酸がTLRリガンド刺激によるIL-23p19遺伝子の発現を増強することを発見した。同じアッセイ系を用い、乳酸の増強メカニズムを解析した結果、乳酸はIL-23p19のプロモーター活性を増強することがわかった。また、乳酸はNF- $\kappa$ B、CREB、AP-1、IRFのいずれの転写因子の活性化にも関与しなかった。

乳酸は抗原刺激によるIL-17産生をIL-23依存的に増強する、という興味深い現象を発見した。次に、本研究では、このIL-17産生への乳酸による増強作用について解析した。その作用機序には、3段階のステップが存在すると考えた。① 抗原提示細胞が抗原提示を介してCD4<sup>+</sup> T細胞を活性化する。② 活性化CD4<sup>+</sup> T細胞からのシグナルと、乳酸からのシグナルにより、抗原提示細胞が活性化する。③ 活性化した抗原提示細胞はCD4<sup>+</sup> T細胞をさらに活性化し、IL-17分泌を促進する。乳酸によるIL-17産生増強作用メカニズムについて、次に述べる事柄を明らかにした。(1) 単球・マクロファージとeffector/memory CD4<sup>+</sup> T細胞が増強作用に必須である。(2) 乳酸はIL-17産生CD4<sup>+</sup> T細胞の増殖を抑制するが、IL-17産生量は増強する。(3) 乳酸はTh17細胞分化には関与しない。(4) ステップ②におけるCD40からのシグナルが抗原提示細胞からのIL-12/23p40産生を誘導するのに必要である。(5) このp40を含む既知のサイトカイン、IL-23、IL-12、及びIL-12ホモ二量体ではなく、p40を含む未知のサイトカインが増強作用に関わる。(6) IL-1 $\beta$ 産生はステップ③におけるIL-17産生の誘導に必須である。

以上から、乳酸は、IL-23依存的、あるいは非依存的経路により、IL-17産生の増強に働く炎症誘発メディエーターであることが示唆された。乳酸は解糖系の最終産物であるが、癌細胞の転移や担癌患者予後の悪化との関連性が示されているため、今後、乳酸により誘導されるシグナル経路を標的とすることは、癌の効果的な治療法の開発に繋がる重要な研究課題となり得る。

## 論文審査結果の要旨

申請者氏名 藪 政彦

癌細胞は解糖系の恒常的な活性化と TCA サイクルの抑制とにより、乳酸発酵を介して乳酸を高濃度に生産し、この現象は“Warburg effect”と呼ばれている。本論文は、癌細胞由来の乳酸が免疫担当細胞の機能に与える影響について、特に二つの点に注目して解析した成果をまとめたものである。第1に、乳酸が Toll-like receptor 刺激によって単球・マクロファージ・樹状細胞 (DC) で誘導される IL-23p19 遺伝子の転写活性を増強することから、ルシフェラーゼ遺伝子アッセイにて IL-23p19 遺伝子のプロモーター領域と、乳酸のシグナル経路について解析した。この研究により、乳酸からのシグナルを単球・マクロファージが認識し、TLR 刺激により誘導される IL-23p19 遺伝子の発現を転写レベルで亢進させることが明らかとなった。また、乳酸は NFκB などの転写因子の活性化には影響しないことから、乳酸からのシグナルによる発現増強は、遺伝子発現を誘導する一般的な機構、いわゆる転写因子がプロモーター活性領域に結合して転写を誘導するといった機構であることを示唆した。

第2に、乳酸がマウス脾細胞において抗原刺激により誘導される IL-17 産生を増強することから、この増強作用機序について細胞生物学的に解析した。その結果、抗原と乳酸が共存する場合には、乳酸からのシグナルを単球・マクロファージが認識して、CD4 陽性 T 細胞に IL-17 産生を促進し、この IL-17 産生の促進に IL-12/23p40 という分子が関与することが明らかとなった。しかしながら、この分子を含む既知のサイトカイン、IL-23 (p40 + p19)、IL-12p40 ホモ二量体、IL-12p70 (p40 + p35) は乳酸による IL-17 産生の促進には関与しなかったことから、p40 分子を含む新規のサイトカインが CD4 陽性 T 細胞からの IL-17 産生の促進に働くことが示唆された。また、乳酸は CD4 陽性 T 細胞からの IL-17 産生を維持・増強する一方で、IFNγ 産生を抑制した。これらのことから、乳酸は抗原刺激による IL-17 産生を促進することにより、メディエーターとして炎症誘発に働く可能性が考えられた。従って、癌組織内の微小環境のような特異的な条件下では、乳酸は IL-17 産生を促進することにより、癌の成長促進に働くことを示唆した。

以上のように、本論文は癌組織内の乳酸量は頭頸部癌や子宮頸癌において癌細胞の転移や担癌患者の予後との関連を示唆するもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は、本論文が博士 (バイオサイエンス) の学位論文として価値あるものと認めた。