

様 式 F - 7 - 1

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）実施状況報告書（研究実施状況報告書）（令和元年度）

			機関番号	1 4 6 0 3
所属研究機関名称 奈良先端科学技術大学院大学				
研究 代表者	部局	先端科学技術研究科		
	職	教授		
	氏名	河合 太郎		

1．研究種目名 挑戦的研究（萌芽） 2．課題番号 19K22533

3．研究課題名 RNA結合分子HuRを基盤とした新たな免疫チェックポイント分子の探索

4．補助事業期間 令和元年度～令和2年度

5．研究実績の概要

がん細胞は免疫系で認識され排除される一方、免疫細胞の腫瘍内浸潤や活性化を抑制する免疫抑制機構を複数備えており免疫系からの攻撃を回避している。我々は、Hu antigen R (HuR; 別名ELAV1) と呼ばれるRNA結合タンパク質を欠損したマウス肺がん細胞 (LLC) をマウスに移植すると、抗腫瘍免疫が誘導される知見を得た。HuRはmRNAの3'末端非翻訳領域に結合するタンパク質であり、mRNAの安定化に寄与する分子である。研究代表者の知見は、HuRにより発現が制御される遺伝子の中に、免疫抑制に関与する分子が含まれることを強く示唆するものである。そこで、本研究では、HuR欠損細胞で発現が減少している遺伝子群の中から免疫抑制に関わると予想される細胞表面分子やサイトカイン類を抽出し、それらを個々にノックアウトしたLLC細胞を樹立し、マウスへと移植することで、その後の腫瘍免疫誘導を検討する。腫瘍免疫活性化が認められた場合、該当分子に対する中和抗体の作成も視野に入れ、これが新たな免疫チェックポイント阻害剤として機能するか検討を行い、腫瘍に対する新たな治療アプローチへと繋げることを目指す。これまで、ケモカインCCL2やCXCL1、細胞外マトリックスの分解酵素MMP3やEFEMP1、細胞接着に関与するCDH2 (カドヘリン)、サイトカインであるTGFβ1の発現がHuR欠損 LLC細胞で有意に低下していることを見出し、これらを中心に腫瘍免疫への寄与について解析する。

6．キーワード

腫瘍免疫 RNA サイトカイン

7．現在までの進捗状況

区分 (2) おおむね順調に進展している。

理由
自ら樹立したHuRを欠損する肺がん細胞 (LLC) 細胞と野生型細胞間の遺伝子発現をマイクロアレイにより網羅的解析を行った結果、単球の遊走に関与するケモカインであるCCL2やCXCL1、細胞外マトリックスの分解酵素であるMMP3やEFEMP1、細胞接着に関与するCDH2 (カドヘリン)、サイトカインであるTGFβ1の発現がHuR KO LLCで有意に低下していた。また、qRT-PCRによる再現実験でも確かにこれら遺伝子の発現低下が確認された。今年度、これらの中でMMP3、CDH2を欠損する細胞株の樹立に成功した。さらにマウス皮下への移植実験から、MMP3欠損LLC細胞では腫瘍の成長が野生型と比べ有意に抑制されていた。さらに詳細に解析を行ったところ、野生型と比べMMP3欠損細胞を移植した腫瘍部位ではCD4陽性T細胞の有意な増加が認められ、またCD8陽性T細胞の増加傾向も認められた。以上のことから、MMP3がT細胞による腫瘍免疫に対し抑制的に働く可能性が示唆された。また、他の候補遺伝子についても欠損株の樹立を行っている段階である。

2 版

8. 今後の研究の推進方策

今後、他の候補遺伝子についても欠損細胞の樹立を完成させ、それぞれマウスへの移植実験ならびに浸潤する免疫細胞分布解析を通して、抗腫瘍免疫への寄与を明らかにする。また、新たな候補因子の探索も同時に進め、それらについても欠損株の樹立を行う。MMP3に関しては今回の実験結果より腫瘍免疫抑制に寄与している可能性が示唆されたため、今後T細胞のみならず自然免疫細胞である樹状細胞やマクロファージの浸潤やサブセットの解析を行う。さらに、MMP3の阻害剤を用いて、腫瘍抑制効果ならびにT細胞浸潤促進効果があるかマウス個体レベルで解析を行い、チェックポイント阻害剤として機能しうるか検討を行う。一方、HuRそのものに対する阻害が抗腫瘍免疫を高める可能性があることから、HuRの阻害剤も用いて同様の実験を行う。また、HuR阻害剤で処理した細胞においてもHuR欠損細胞と同様の遺伝子発現の変化が起こるかもRNA-Seq等を用いて網羅的に解析を行う。

9. 次年度使用が生じた理由と使用計画

次年度使用額が無いため、記入しない。

10. 研究発表（令和元年度の研究成果）

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件／うち国際共著 3件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Zainol MIB, Kawasaki T, Monwan W, Murase M, Sueyoshi T, Kawai T.	4. 巻 9
2. 論文標題 Innate immune responses through Toll-like receptor 3 require human-antigen-R-mediated Atp6v0d2 mRNA stabilization	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 20406-20406
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-56914-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Monwan W, Kawasaki T, Hasan MZ, Ori D, Kawai T.	4. 巻 521
2. 論文標題 Identification of nucleoporin 93 (Nup93) that mediates antiviral innate immune responses.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biochem Biophys Res Commun.	6. 最初と最後の頁 1077-1082
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.11.035.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Soponpong S, Amparyup P, Kawai T, Tassanakajon A.	4. 巻 10
2. 論文標題 A Cytosolic Sensor, PmDDX41, Binds Double Stranded-DNA and Triggers the Activation of an Innate Antiviral Response in the Shrimp <i>Penaeus monodon</i> via the STING-Dependent Signaling Pathway.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 2069-2069
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.02069. eCollection 2019.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Jaree P, Kawai T, Lo CF, Tassanakajon A, Somboonwiwat K.	4. 巻 93
2. 論文標題 Genome organization and definition of the <i>Penaeus monodon</i> viral responsive protein 15 (PmVRP15) promoter.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Fish Shellfish Immunol.	6. 最初と最後の頁 997-1006
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.fsi.2019.08.026.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nhnkhorn Z, Amparyup P, Kawai T, Tassanakajon A.	4. 巻 10
2. 論文標題 <i>Penaeus monodon</i> IKKs Participate in Regulation of Cytokine-Like System and Antiviral Responses of Innate Immune System.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Immunol.	6. 最初と最後の頁 1430-1430
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fimmu.2019.01430.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Dewi Pamungkas Putri D, Kawasaki T, Murase M, Sueyoshi T, Deguchi T, Ori D, Suetsugu S, Kawai T.	4. 巻 294
2. 論文標題 PtdIns3P phosphatases MTMR3 and MTMR4 negatively regulate innate immune responses to DNA through modulating STING trafficking.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 J Biol Chem.	6. 最初と最後の頁 8412-8423
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.005731.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

2 版

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1．発表者名 Kawai T, Kawasaki T
2．発表標題 Local expansion of CD8+ T cells by tissue resident macrophages in the lung
3．学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4．発表年 2019年

1．発表者名 Kawai T
2．発表標題 The role of innate immune signaling pathways in induction of anti-cancer immunity
3．学会等名 The 6th ICPAPS-The 3rd ASEAN PharmNET 2019（招待講演）（国際学会）
4．発表年 2019年

1．発表者名 河合太郎
2．発表標題 自然免疫による病原体や内在性因子の認識と炎症制御のメカニズムについて
3．学会等名 免疫サマースクール2019（招待講演）
4．発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1．著者名 加納規資、織大祐、河合太郎	4．発行年 2019年
2．出版社 南山堂	5．総ページ数 252
3．書名 免疫・炎症病態×治療Update	

1 1．研究成果による産業財産権の出願・取得状況

計0件（うち出願0件 / うち取得0件）

1 2 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

計0件

1 3 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

-

1 4 . 備考

-