

(論文内容の要旨)

ウシ型結核菌の細胞壁骨格成分は、悪性腫瘍の免疫療法への応用を目的として、
Toll 様受容体 (TLR) 2 および TLR4 を介して免疫を活性化させる免疫アジュバントとして研究されている。しかしながら、巨大な分子量を有し、複雑なリポグリカン構造をとり、調製方法が難しいために、構造と活性の関係は未だ正確には理解されていない。我々はウシ型結核菌 BCG 東京株から細胞壁骨格を調製する方法を至適化し一定の品質の新規細胞壁骨格 (SMP-105) を調製するに至った。転写因子 NF- κ B の活性化を指標としたレポーター遺伝子アッセイ法および TLR2、TLR4 あるいは MyD88 ノックアウトマウス由来のチオグリコレート誘発腹腔浸出細胞を用いて SMP-105 の TLR に対する作用を検討したところ、これまでの細胞壁骨格とは異なり SMP-105 は TLR4 に対する作用を持たず TLR2 選択的に作用した。TLR2 選択的な細胞壁骨格を用いて、抗腫瘍免疫の増強作用を検討したところ、細胞壁骨格と同時に投与したルイス肺癌に対してインターフェロン γ を産生する細胞が所属リンパ節に誘導された。卵白アルブミンを発現する胸腺腫細胞 E. G7-OVA を細胞壁骨格と同時に OT-I トランスジェニックマウス脾細胞を養子免疫したマウスに投与したところ、卵白アルブミンに対する特異的な CD8 陽性細胞が所属リンパ節で増加した。細胞壁骨格とルイス肺癌を投与したマウスにルイス肺癌を移植して腫瘍の増殖を検討したところ、細胞壁骨格を同時に投与した場合に腫瘍の増殖が抑制された。腫瘍生着を阻止する作用は、TLR4 ノックアウトマウスでは野生型マウスと同様に阻止された。TLR2 ノックアウトマウスでは阻止作用は十分認められなかった。MyD88 ノックアウトマウスでは腫瘍が生着し、阻止作用が認められなかった。以上の結果から、細胞壁骨格により誘導される抗腫瘍免疫作用の増強作用には、TLR4 を介した作用は必須ではなく、TLR2 に対する作用を有すれば十分であることが明らかとなった。

(論文審査の結果の要旨)

腫瘍に対する免疫療法は、化学療法剤よりも副作用が軽減されるためその臨床応用が期待されている。しかし、現在の免疫療法剤を用いた療法が十分な効果を示すとは一般的に受け入れられていない。免疫療法が十分な効果を示さない理由は、多くの腫瘍抗原の免疫原性が低いことがあげられる。抗原提示を適切に活性化させることができれば、腫瘍の免疫原性を増加させ、腫瘍に対する免疫反応を増強できると考えられる。申請者は、ウシ型結核菌 (BCG 菌) の細胞壁骨格 (CWS) が、自然免疫に作用する特徴的で強い増強作用を持つことから、BCG-CWS の癌に対する免疫療法への応用を目指し、まず、その生体の免疫反応への作用機構を解析した。BCG-CWS は BCG 菌細胞壁の不溶性画分として調製される。その成分は、ミコール酸、アラビノースとグルコースからなる中性糖、ペプチドグリカンから構成される。申請者は、本研究で、BCG-CWS が抗原に対する免疫応答を増強する強いアジュバント活性を持ち、さらに動物モデルを用いた研究から腫瘍を縮小させる効果を有することを見いだした。BCG-CWS は長年研究されているものの、溶解性に乏しいために、臨床応用は限定されている。申請者らは、様々な至適化を加えることで、BCG 東京 172 株からより高度に精製された BCG-CWS (SMP-105) を調製する方法を確立した。この SMP-105 は非構成成分の混入量が極めて少ない BCG-CWS であることがわかった。本論文では、微生物の分子パターンを認識する受容体 TLR に対する SMP-105 の作用および抗腫瘍作用を検討し、SMP-105 は TLR2 を選択的に活性化させることを示した。さらに、申請者は、細胞に取り込まれた BCG-CWS がリソゾームで分解されて効果を示すことを見いだした。しかし、その有効な分解産物の化学構造は明らかにできていない。また、SMP-105 を投与したマウスでは、マクロファージや樹状細胞がリンパ節に集積した。さらに、SMP-105 と不活化した腫瘍を投与したマウスでは、腫瘍に対してインターフェロン- γ を産生するような免疫応答が誘導された。申請者の研究から、TLR2 に選択的に作用する SMP-105 を用いることで、腫瘍に対する免疫反応を誘導する際の TLR2 の役割を明らかにすることが可能となった。今後は、TLR2 を発現する細胞の分布、細胞への取り込みの効率、細胞内での動態、薬物動態などより詳細な検討が必要である。以上の SMP-105 の免疫反応は抗腫瘍作用において重要な役割を果たすことが考えられる。さらに、TLR2 ノックアウトマウスで部分的に抗腫瘍作用が認められなかったこと、MyD88 ノックアウトマウスではまったく作用が認められなかったこと、TLR4 ノックアウトマウスでは抗腫瘍作用が野生型と同様に認められたことから、*in vivo* の抗腫瘍作用は TLR2/MyD88 に依存することが示された。この結果は、SMP-105 の TLR2 依存性とよく一致している。

申請者の研究は、BCG-CWS の作用機構の解明だけでなく、癌免疫に関する基礎研究に大きな貢献をするものである。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として価値あるものと認めた。平成 20 年 12 月 5 日、本論文および参考論文に報告されている研究業績を中心にして、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。