

## 論文の要旨

申請者 西川 誠

### 題目

LPS トレランス誘導マウスの肝臓における抗腫瘍活性についての研究

### 1. 目的

Lipopolysaccharide(LPS)はグラム陰性菌の細胞外膜の構成成分であり、生体に対して様々な生物活性を示す。過量の LPS はエンドトキシンショックと呼ばれる致命的な炎症反応を生体に誘導するが、極微量の LPS によってあらかじめ刺激しておく(priming)と、その後の大量の LPS 刺激に対して不応性を生じることが古くから知られており、この現象は LPS トレランスと呼ばれている。通常は、炎症反応が抑制されると菌の排除能は減弱するが、興味深いことに LPS トレランスでは、LPS を始めとする刺激に対して炎症性サイトカインの産生が著明に抑制されるものの、マクロファージの分画が変化して殺菌活性は逆に亢進することが分かってきた。筆者はこの特性を利用して、トレランスを外科手術の周術期管理に応用できないかと考えたが、消化器悪性疾患の手術においては、術中操作や術後の免疫能低下に伴う新たな転移形成が問題となってくる。しかしながら、LPS トレランスが抗腫瘍活性や、その中心となる Natural Killer(NK)細胞、NKT 細胞の機能にどのような影響を与えるかに関してはこれまでに報告がなかった。本研究では、LPS トレランスを誘導したマウスの抗腫瘍活性について、特に肝の NK 細胞及び NKT 細胞の機能に注目して検討した。

### 2. 対象ならびに方法

BALB/c マウスを用いて、LPS 5 $\mu$ g/kg を 3 日間連続で腹腔内投与し、LPS トレランスを誘導した。大腸癌株 Colon 26 を門脈内投与することにより大腸癌肝転移モデルを作成し、生存期間を観察した。Colon 26 に Nano-lantern という高輝度発光蛋白質を安定発現させ、IVIS imaging system を用いて経時的に腫瘍の増大を観察した。LPS トレランスを誘導したマウスの肝及び脾単核球を採取し、フローサイトメトリーで免疫担当細胞の分画をみるとともに Perforin/Granzyme の発現を検討した。また肝脾単核球の Colon 26 に対する細胞傷害活性をテラスキャンで測定した。

### 3. 成績

トレランス群では対照群と比較して肝転移の増大が顕著に抑制されており、生存期間が有意に延長した。肝単核球をフローサイトメトリーで解析したところ、トレランス群ではNK細胞及びNKT細胞が増加しており、ともに Perforin、Granzyme B の発現が亢進していた。通常であればNK細胞、NKT細胞の活性化を促す働きを持つ IFN- $\gamma$  の産生は、トレランス群で亢進していなかった。また、トレランス群は肝単核球の Colon 26 に対する細胞傷害活性が有意に亢進していた。脾臓の単核球では、これらの変化は肝単核球ほど顕著には見られなかった。

#### 4. 考察

LPS トレランスを誘導したマウスの肝臓では、NK細胞及びNKT細胞が量的、質的に活性化しており、特に Perforin/Granzyme 系の活性が亢進していた。これにより大腸癌株 Colon 26 に対する細胞傷害活性が増強していることを *in vitro* で示し、さらに *in vivo* でも大腸癌肝転移モデルの生存期間が延長することを示し、抗腫瘍活性が亢進していることを明らかにした。興味深いことに IFN- $\gamma$  の産生は亢進していなかったことから、本来の活性化経路とは異なる経路の存在によりNK細胞、NKT細胞が活性化しているものと考えられた。本研究ではLPSトレランスにおいて抗腫瘍活性が亢進していることを初めて明らかにした。LPSトレランスを外科手術の周術期に適切、かつ安全に誘導することができれば、炎症反応を抑制しつつ、感染性合併症を予防し、新たな転移形成を抑制できる可能性があると考えられた。

#### 5. 結論

LPS トレランスを誘導したマウスでは、肝のNK細胞及びNKT細胞が活性化し、Perforin/Granzyme 系が活性化することで抗腫瘍活性を亢進させていることを明らかにした。LPS トレランスにおいて、NK細胞、NKT細胞の活性化には、IFN- $\gamma$  などの炎症性サイトカインによるシグナルとは異なる経路の関与が示唆された。