

2025 年 8 月 1 日、当社研究部による研究成果が、がん研究の専門学術誌「Anticancer Research」に掲載されました。

【タイトル】 Combination of 3-(Trihydroxygermyl)propanoic Acid (THGP) and Lipopolysaccharide Promotes Macrophage Differentiation to M1, and Antitumor Activity

【著 者】 JUNYA AZUMI, TOMOYA TAKEDA, YASUHIRO SHIMADA, HISASHI ASO, HIROYUKI INAGAWA, TAKASHI NAKAMURA

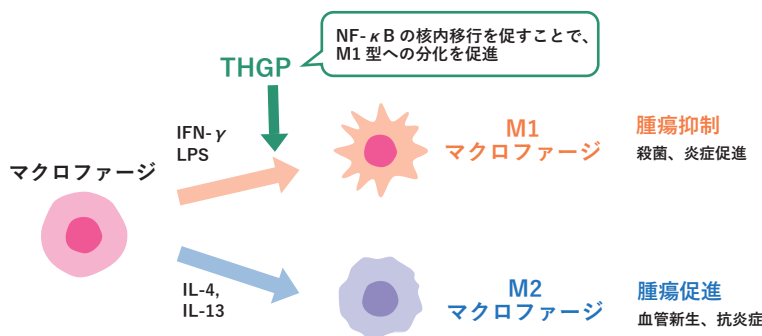
【掲 載 誌】 ANTICANCER RESEARCH

【U R L】 <https://doi.org/10.21873/anticanres.17704>

※本ニュースレターは、上記論文の内容を再構成したものです。

研究背景

免疫細胞の一種である「マクロファージ」は、主に、炎症促進性の M1 型と、抗炎症性の M2 型に分類されます。そのうちの M1 型マクロファージは抗腫瘍効果を発揮することが分かっており、近年、がん治療の分野で注目されています。



先行研究では、THGP(水に溶けた状態のアサイゲルマニウムの略称)が、NF- κ B を介した細胞内シグナルに作用し、マクロファージ様細胞の M1 型への分化を促進することが分かっています。また、リポポリサッカライド(LPS)は、TLR4 を介した細胞表面からのシグナル伝達により M1 型への分化を促進することが知られています。

そこで、本研究では、作用するシグナル経路が異なる THGP と LPS を組み合わせることで、M1 型への分化およびマクロファージ機能に相乗的な影響がみられるかを検討しました。

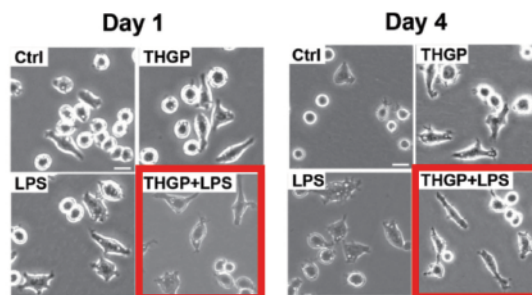
研究内容

1. マクロファージの形態変化

RAW264.7 細胞(マクロファージ様細胞)を、通常培養、THGP(500 μ M)添加、LPS(1 ng/mL)添加、両成分共添加のそれぞれの条件下で 4 日間培養し、形態を観察しました。

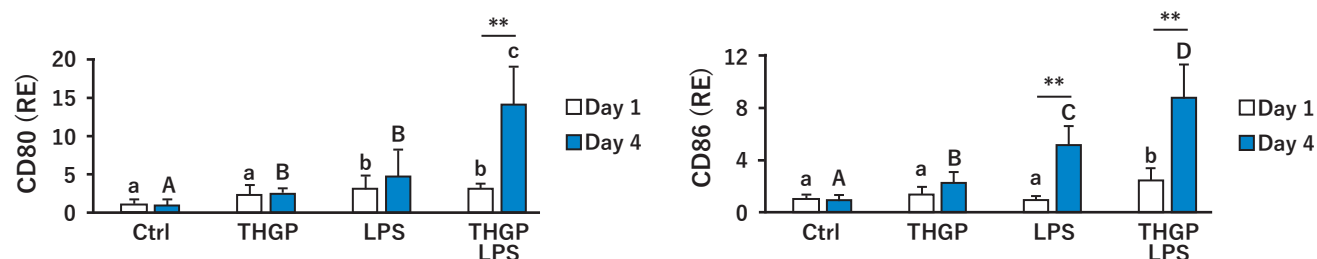
その結果、THGP 単独では樹状突起が長くなり、LPS 単独では、附着性のあるアメーバ様形態のマクロファージの割合が高くなりました。

さらに、両成分を共添加した場合、各単独培養時の特徴が併存しており、1 日目・4 日目の段階で M1 型への分化を示す顕著な形態変化が確認されました。



2. M1 マーカーによる分化の検討

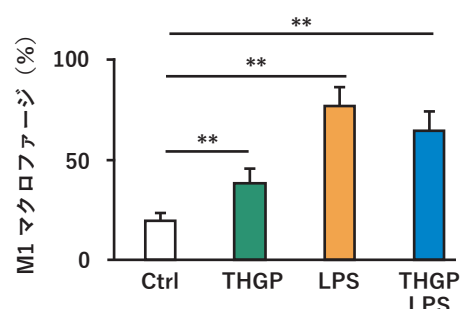
M1型のマクロファージの代表的なマーカーであるCD80およびCD86について、遺伝子の発現をqPCRで評価しました。その結果、4日間の併用により、マクロファージのCD80とCD86遺伝子発現量が、各単独の場合よりも有意に高くなりました。また、1日目に対して、同発現量が4-5倍に上昇したことも確認されました。



さらに、CD86 高発現・CD206 低発現細胞(M1 マクロファージ)の割合を調べました。

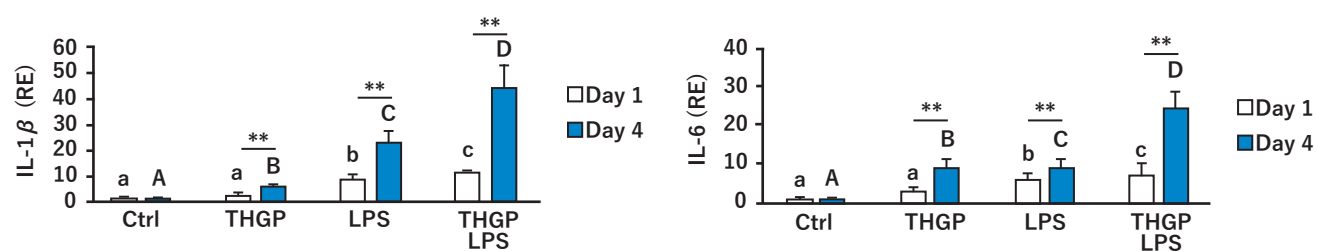
対照群における M1 マクロファージの割合は 19% を示した一方で、THGP 単独添加によって 38% に、LPS 単独添加またはTHGP との併用によって約 70% に増加しました。

これらの結果は、THGP および LPS による 4 日間の刺激が、M1 マクロファージへの分化を誘導したことを示しています。



3. M1 関連サイトカイン遺伝子発現の検討

M1 マクロファージは、IL-1 β 、IL-6 などの炎症性サイトカインの産生が高まることが知られています。そこで、各処理群のマクロファージ様細胞において、これらのサイトカインの遺伝子発現を qPCR で評価しました。



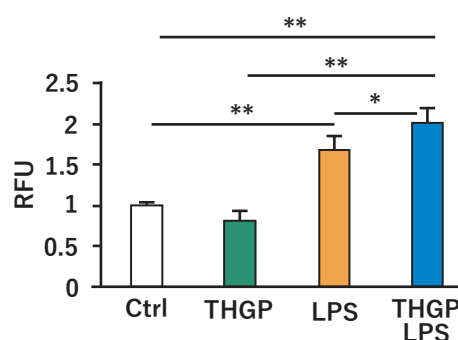
その結果、IL-1 β 、IL-6 の遺伝子発現は、それぞれ単独処理でも増加しましたが、THGP と LPS の共添加により、有意に増強しました。

4. マクロファージの機能評価

① マクロファージの異物貪食能

刺激したマクロファージに、蛍光を発するナノサイズの FITC ビーズを与えた時の取り込み量の変化を調べました。

その結果、マクロファージの異物貪食能は、LPS 単独でも増加しましたが、THGP と LPS 併用によって、相乗的に増強されました。



② マクロファージの抗腫瘍効果

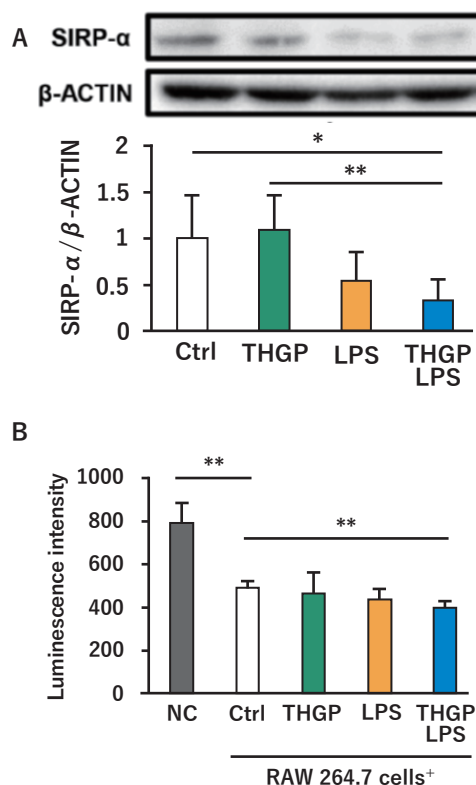
マクロファージ上の SIRP- α タンパクが、がん細胞上の CD47 タンパクに結合することで、がん細胞が免疫応答を回避しやすくなります。この仕組みは“don't-eat-me (私を食べないで)”シグナルと呼ばれています。

まず、ウェスタンブロット法により、各処理群のマクロファージにおける SIRP- α の発現を調べました。

その結果、THGP および LPS の単独処理では有意な変化は見られませんが、両者の併用によって、SIRP- α の発現が有意に低下しました(図 A)。

次に、マクロファージをがん細胞(B16-F10 メラノーマ)と2日間共培養し、ルシフェラーゼアッセイにより、各処理群のマクロファージのがん細胞傷害活性を調べました。

その結果、それぞれ単独での刺激では有意な変化は得られませんが、THGP と LPS の併用処理によって、がん細胞に対するマクロファージの抗腫瘍活性を著しく増加させました(図 B)。



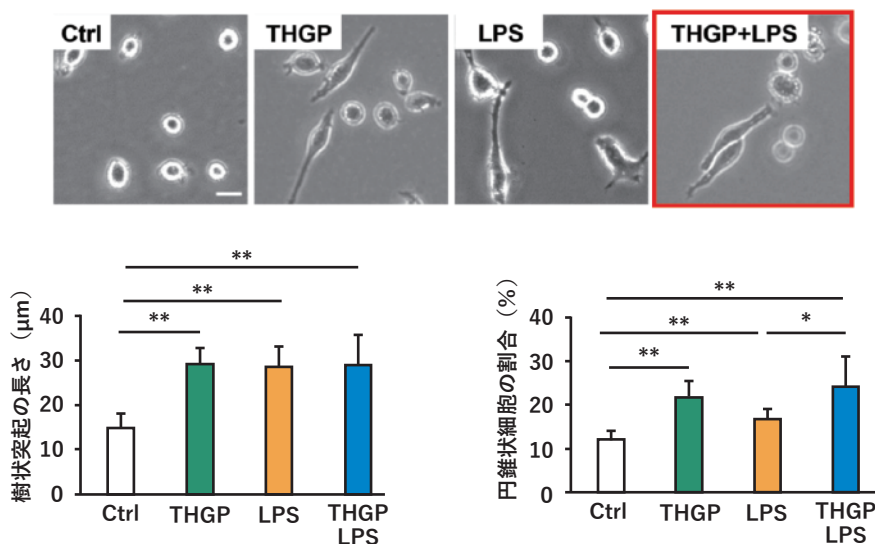
5. 10 日間の刺激による総合評価

ここまでの結果から、THGP と LPS による4日間の併用刺激がマクロファージの M1 分化を促進し、異物に対するマクロファージの貪食活性および抗腫瘍効果を高めることが示されました。

そこで、長期刺激の影響を調べるために培養期間を10日間に延長し、マクロファージ様細胞を通常培養、THGP (500 μ M) 添加、LPS (1 ng/mL) 添加、THGP と LPS 共添加のそれぞれの条件下で培養し、評価を行いました。

① マクロファージの形態変化

培養1～4日では、THGP 単独処理により樹状突起が長くなり、LPS 単独処理では、アメーバ様形態を示すマクロファージの割合が高くなりました。一方、10日目以降では、THGP または LPS の単独刺激によっても、併用時と同等程度に樹状突起が長く、アメーバ様の形態を示す細胞が認められました。

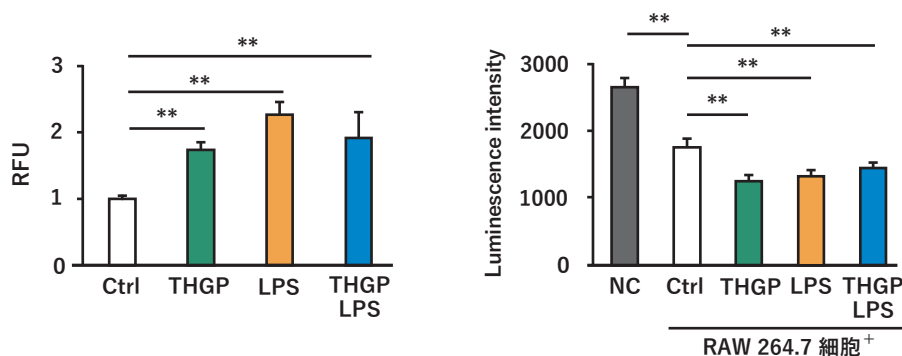


② 単独の異物貪食能および抗腫瘍活性

次に、マクロファージの異物貪食能と抗腫瘍活性を評価しました。

その結果、10 日間の処理では、THGP または LPS の単独処理でも、併用処理時と同程度の貪食能および抗腫瘍活性が認められました。

これらの結果は、THGP および LPS の単独処理でも、長期培養では M1 型への分化を十分に誘導できること、また両者の併用により、そのプロセスを短縮できる可能性を示しています。

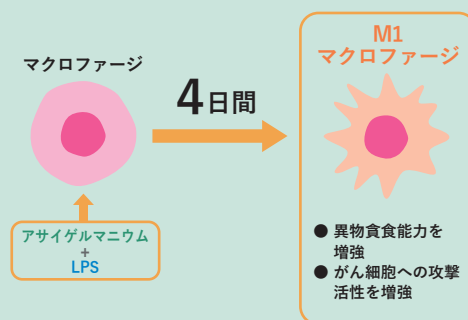


まとめ

本研究では、アサイゲルマニウムおよび低濃度 LPS 刺激による、マクロファージの M1 分化の誘導について検討しました。

今回明らかになったこと

- ① アサイゲルマニウムと低濃度 LPS は、各単独の添加でも、10 日間の刺激でマクロファージを M1 型に分化させ、異物貪食能力やがん細胞への攻撃活性を増強させました。
- ② 両者の併用により、「M1 型への分化」および「貪食能力やがん細胞への攻撃活性の増強」が、短期間(4 日間)で確認されました。



本研究では、アサイゲルマニウムと LPS が、マクロファージの M1 型への分化を促進することにより、相乗的にマクロファージの貪食活性および抗腫瘍効果を増強することが示されました。

アサイゲルマニウムは細胞内で、LPS は細胞表面で働くため作用機序が異なります。そのため、両者の相乗効果は、免疫療法における新規の治療戦略や予防的サポートの新たなアプローチになると期待されます。

お問い合わせ



株式会社
浅井ゲルマニウム研究所

ASA Germanium Research Institute Co., Ltd.

〒215-0004 神奈川県川崎市麻生区万福寺
1-1-1 新百合ヶ丘シティビルディング 3F
TEL: 044-954-2101 FAX: 044-954-2066

無断複写・無断転載禁止