

平成 21 年 4 月 20 日現在

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2008

課題番号：18209052

研究課題名（和文） 自己免疫の活性化を利用した新しい婦人科癌免疫療法の確立と臨床応用

研究課題名（英文） The establishment and clinical application of new immunotherapy for gynecologic cancers by using the activation of self-tolerance

研究代表者

高倉 賢二（TAKAKURA KENJI）

京都大学・医学研究科・非常勤講師

研究者番号：10221350

研究成果の概要：

婦人科悪性腫瘍の多くは初期治療反応性は良いが、長期的予後は良くない。このため腫瘍免疫療法等の新しい治療法の開発が必要である。腫瘍は本来不可欠な自己寛容維持機構をうまく利用することで免疫系の攻撃から逃れていると考えられ、本研究で我々は、自己寛容維持のメカニズムを逆に利用して、これを一過性に抑制し、ある程度の自己免疫状態を惹起することによって強力な自己免疫を得るといふ新しい治療法を婦人科悪性腫瘍に対して導入する基礎的検討を行なうことができた。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	26,100,000	7,830,000	33,930,000
2007年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2008年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
総計	38,700,000	11,610,000	50,310,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・産婦人科学

キーワード：婦人科腫瘍、腫瘍免疫、PD-1、制御性 T 細胞、免疫逃避機構、BMP、NK 細胞

1. 研究開始当初の背景

婦人科悪性腫瘍の多くは初期治療反応性は良いが、長期的予後は良くない。このため腫瘍免疫療法等の新しい治療法の開発が必要である。腫瘍は本来不可欠な自己寛容維持機構をうまく利用することで免疫系の攻撃から逃れていると考えられており、この克服が治療に繋がるという報告が散見されるようになっていた。

2. 研究の目的

本研究で我々は、自己寛容維持のメカニズム

を逆に利用して、これを一過性に抑制し、ある程度の自己免疫状態を惹起することによって強力な自己免疫を得るといふ新しい治療法を婦人科悪性腫瘍に対して導入する基礎的検討を行なうことを目的とした。

3. 研究の方法

（1）ヒト卵巣癌における Programmed cell death 1 ligands (PD-L1、PD-L2)の発現を当

科にて1995-2001年に初回治療を行った卵巣癌患者のうち、同意を得た70例のパラフィン切片を用いて免疫組織染色によって確認し、予後との関係を明らかにするとともに、腫瘍内CD8+T細胞数との相関を調べた。

(2) ヒト卵巣癌におけるNK細胞活性化レセプターNKG2Dのリガンド(MICA/B, ULBP2)の発現ならびにNK細胞の浸潤を当科にて1996-2002年に初回治療を行った卵巣癌患者のうち、同意を得た55例のパラフィン切片を用いて免疫組織染色によってMICA/B, ULBP2の発現強度および腫瘍内浸潤CD57+NK細胞数を調べ、予後との関係を解析した。

(3) 卵巣癌における免疫細胞の浸潤パターンとCOX発現および予後との相関を検討した。卵巣癌70例の腫瘍上皮内および間質内のCD8、CD57、CD1a陽性細胞数を免疫染色により検討し、これを用いて階層的クラスター解析を行った。これにより分類された卵巣癌3クラスターと、腫瘍のCOX-1、COX-2発現(免疫染色)および患者の全生存期間と無病生存期間を比較検討した。

4. 研究成果

(1) 卵巣癌においてPD-L1強陽性であった48例(68.6%)は、全生存率および無病生存率において有意($p=0.016$, $p=0.038$)に予後が不良であり、多変量解析にて独立した予後因子であることがわかった。PD-L2強陽性26例(37.1%)は予後不良の傾向を認めたが有意ではなかった。腫瘍上皮内CD8+T細胞数も全生存率および無病生存率に関して独立予後因子(両者とも $p<0.001$)であったが、PD-L1発現とは逆相関していた。これらの結果から卵巣癌患者において、免疫関連因子であるPD-L1の発現、腫瘍内CD8+T細胞数とともに独立予後因子であり、互いに相関することが示された。ヒト卵巣癌において免疫監視回避に関わるメカニズムは、患者の予後を左右する重要な要素であり、これを解析することによって、臨床における予後評価や治療選択に役立つ可能性が示唆された。

(2) 卵巣癌組織の55例(100%)にMICA/B発現を認めた。また、45例(81%)にULBP2発現を認め、ULBP2発現が高いほど無病生存率が有意に不良であり($p<0.05$)、多変量解析の結果、全生存率、無病生存率独立予後因子であることがわかり、さらにその発現強度はMICA/Bの発現強度との間に正の相関関

係を認めた。しかし正常卵巣にはMICA/B、ULBP2のどちらも発現を認めず、また腫瘍内浸潤CD57+NK細胞数と予後との相関は認められなかった。以上から卵巣癌患者において、NK細胞免疫関連因子であるULBP2の発現は独立予後因子であり、MICA/B発現と正の相関することが示された。ヒト卵巣癌においてNK細胞の抗腫瘍傷害活性に関わるメカニズムは、患者の予後を左右する要素のひとつであり、これらを解析することによって、臨床における更なる予後評価や治療選択に役立つ可能性が示唆された。

(3) 上皮内CD8+T細胞数はCOX-1およびCOX-2発現と逆相関していた。3つのクラスターのうち、上皮および間質内の低CD8+細胞/高CD1a+細胞の集団(Cluster 1)は上皮および間質内の高CD8+/低CD1a+細胞の集団(Cluster 2)に比し予後不良であった。上皮内の高CD57+細胞の集団(Cluster 3)は、中等度の予後を示した。クラスター分類は年齢、進行期、組織型、残存腫瘍等の臨床的病理学的所見との相関を示さず、多変量解析にてCluster 1は独立した予後不良因子であった。Cluster 1のCOX-1およびCOX-2発現はCluster 2よりも有意に高かった。つまり、腫瘍浸潤免疫細胞の階層的クラスター解析により、予後不良かつCOX高発現の卵巣癌を同定できた。卵巣癌細胞の発現するCOXが微小環境に影響し、免疫細胞の浸潤パターンを変える可能性が示唆された。

一方、CD4+25+制御性T細胞に関する解析については、近年その誘導因子のひとつであるTGF- β との関係について、腫瘍組織を用いて解析を進めている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計4件)

①Li K, Mandai M, Hamanishi J, Kenji Takakura et al.
Clinical significance of the NKG2D ligands, MICA/B and ULBP2 in ovarian cancer.
Cancer Immunol Immunother.
58, 649,2009
査読あり

②Liu M, Matsumura N, Mandai M, Kenji Takakura et al.
Classification using hierarchical clustering of tumor-infiltrating immune cells identifies poor prognostic ovarian cancers with high levels of COX expression.

Modern Pathology
22, 373-378, 2009
査読あり

③ Hamanishi J, Mandai M, Iwasaki M, Okazaki T, Tanaka Y, Yamaguchi K, Higuchi T, Yagi H, Takakura K, Minato N, Honjo T, Fujii S.
Programmed cell death 1 ligand 1 and tumor-infiltrating CD8+ T lymphocytes are prognostic factors of human ovarian cancer.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2007 Feb 27;104(9):3360-5. 2007
査読あり

④ 濱西潤三、藤井信吾
「臨床医学の展望 2007 婦人科学」
婦人科腫瘍と免疫
日本医事新報 No.4320 p87-88, 2007
査読なし

[学会発表] (計 14 件)

① 濱西潤三、万代昌紀、樋口壽宏、山口建、高倉賢二、藤井信吾、小西郁生
卵巣癌腹膜播種の新生血管を標的として、ケモカイン遺伝子 (CCL19) 導入胚性血管内皮前駆細胞を用いて 局所免疫賦活を目指した新規免疫療法開発の基礎的検討
第 61 回日本産科婦人科学会学術講演会 平成 21 年 4 月 5 日 於 京都

② Hamanishi J, Mandai M, Higuchi T, Yamaguchi K, Takakura K, Fujii S, Konishi I
Activated local immunity by chemokine CCL19-transduced embryonic endothelial progenitor cells suppresses lung metastasis of murine ovarian cancer
40th Annual Meeting of Women's Cancer, Feb 6, 2009 in San Antonio, Texas

③ Hamanishi J, Mandai M, Higuchi T, Yamaguchi K, Takakura K, Fujii S, Konishi I
Activated local immunity by CCL19-transduced endothelial progenitor cells suppresses lung metastasis
第 67 回日本癌学会学術総会 平成 20 年 10 月 於 名古屋

④ 濱西潤三、万代昌紀、樋口壽宏、山口建、高倉賢二、藤井信吾、小西郁生
卵巣癌の新生血管を標的としてケモカイン遺伝子 (CCL19) 導入血管内皮前駆細胞を用いた局所免疫賦活療法
第 44 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
平成 20 年 7 月 19 日 於 名古屋

⑤ 濱西潤三、李奎、万代昌紀、樋口壽宏、山口建、高倉賢二、藤井信吾
卵巣癌における NK 細胞活性化受容体のリガンド発現とその意義
第 60 回日本産科婦人科学会学術講演会
平成 20 年 4 月 13 日 於 横浜

⑥ 濱西潤三、万代昌紀、樋口壽宏、山口建、高倉賢二、藤井信吾
卵巣癌の新生血管での局所免疫賦活を目指した胚性血管内皮前駆細胞によるターゲティング療法
第 59 回日本産科婦人科学会学術講演会
平成 19 年 4 月 17 日 於 京都

⑦ 濱西潤三、万代昌紀、樋口壽宏、山口建、高倉賢二、藤井信吾
免疫抑制性補助シグナル分子 PD-L1 発現は卵巣癌の予後と関連する
第 59 回日本産科婦人科学会学術講演会
平成 19 年 4 月 17 日 於 京都

⑧ 濱西潤三、万代昌紀、樋口壽宏、山口建、高倉賢二、藤井信吾
卵巣癌の新生血管での局所免疫賦活を目指した胚性血管内皮前駆細胞によるターゲティング療法
第 12 回 生殖医療フォーラム
平成 19 年 6 月 13 日 於 奈良

⑨ 濱西潤三、万代昌紀、岡崎拓、本庶佑、藤井信吾
卵巣癌における Programmed cell death - Ligand 1 (PD-L1) 蛋白の発現
21 世紀 COE コロキウム 京都大学大学院医学研究科「病態解明における基礎・臨床連携の進捗」
平成 18 年 1 月 21 日 (土) 於 京都

⑩ 濱西潤三、樋口壽宏、福原健、由良茂夫、万代昌紀、刈谷方俊、高倉賢二、藤井信吾
婦人科癌再発症例に対する拡大手術の試み～難治性子宮頸癌再発症例に対する骨盤半截術の経験～
第 58 回日本産科婦人科学会学術講演会
平成 18 年 4 月 25 日 於 横浜

⑪ 濱西潤三、万代昌紀、樋口壽宏、刈谷方俊、高倉賢二、藤井信吾

卵巣癌における免疫抑制性補助シグナル分子 PD-L1 発現と予後との相関
第 40 回日本婦人科腫瘍学会学術講演会
シンポジウム
平成 18 年 7 月 21 日 於 岐阜

⑫ Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Taku Okazaki, Tasuku Honjo, Shingo Fujii
Prognostic significance of programmed cell death-1 ligand and tumor-infiltrating CD8+ lymphocytes in human ovarian cancer
21century COE Colloquium on Immunology
2006 4th November 2006 in Kyoto

⑬ Junzo Hamanishi, Masaki Mandai, Shingo Fujii
Targeting of tumor vessels and activation of local tumor immunity using embryonic endothelial progenitor cells (eEPCs) lead to tumor suppression in lung metastatic model of ovarian cancer
21century COE Colloquium on Immunology
2006 4th November 2006 in Kyoto

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高倉 賢二 (TAKAKURA KENJI)
京都大学・医学研究科・非常勤講師
研究者番号：10221350

藤井 信吾 (FUJII SHINGO)
京都大学・医学研究科・教授 (2006 初年度)
研究者番号：30135579

(2) 研究分担者

万代 昌紀 (MANDAI MASAKI)
京都大学・医学研究科・講師
研究者番号：80283597

八木 治彦 (YAGI HARUHIKO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：70402857

坂口 志文 (SAKAGUCHI SHIMON)
京都大学・再生医科学研究所・教授
研究者番号：30280770

岡崎 拓 (OKAZAKI TAKU)
京都大学・医学研究科・准教授
研究者番号：00362468

(3) 連携研究者

岡崎 拓 (OKAZAKI TAKU)
徳島大学・医学部・教授
(2008)
研究者番号：00362468