

令和 4 年 6 月 9 日現在

機関番号：15101

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2021

課題番号：20K17652

研究課題名（和文）胃癌におけるIgA産生細胞の検討

研究課題名（英文）Investigation of IgA-producing cells in gastric cancer

研究代表者

植嶋 千尋 (UEJIMA, Chihiro)

鳥取大学・医学部附属病院・助教

研究者番号：70774107

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：がん細胞の免疫機構からの逃避システムの一つに腸管由来のIgA陽性の制御性B細胞が報告されている。我々は胃癌手術の切除標本を用いた研究を行い、癌部でのIgAが少ないと予後不良であることを見出した。そのシステムとしてケモカインであるCCL28を介している可能性がある。また、がん特異的IgA抗体が存在する可能性も示唆されているが、これらについては今後のさらなる研究が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

がん関連微小環境におけるIgA産生細胞の作用機序が明らかになれば、今後の新たな治療法につながる可能性がある。IgA産生免疫抑制性B細胞の存在はいくつか報告されているが、一定の見解はなく胃癌での報告はない。我々は腫瘍特異的IgAが存在する可能性、IgAの分布の違いにCCL28-CCR10が関与している可能性を見出した。機序解明はできなかったが、今後の更なる研究に繋がりうる。

研究成果の概要（英文）：Intestinal-derived IgA-positive regulatory B cells have been reported as one of the escape systems of cancer cells from the immune mechanism. We performed a study using resected gastric cancer surgical specimens and found that low levels of IgA at the cancer site were associated with poor prognosis. The system may be mediated by the chemokine CCL28. It has also been suggested that cancer-specific IgA antibodies may be present, but these need further study.

研究分野：消化器外科学関連

キーワード：IgA産生形質細胞 がん特異的抗体 免疫活性化 胃癌

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

生体内で B 細胞は獲得免疫の一種の抗原抗体反応による免疫反応を担っている。一方、近年担癌患者における免疫抑制状態の形成に免疫制御性機能を持つ免疫細胞が関与していることが報告されている。予備実験として行った、胃癌手術の切除標本を用いた IgA の免疫染色を行い、腫瘍部と腫瘍隣接部では腫瘍部で有意に IgA が減少すること、腫瘍部での IgA が少ないと予後不良であることを見出した。

(図.1)

全ての B 細胞の表面には元々特異的 IgM が存在し、サイトカイン等の作用により定常領域が変化する IgA、IgG などへのクラススイッチが行われる。さらに、可変領域の VDJ 再編成が行われ、抗原の多様性に対応している。悪性黒色腫では IgG と IgA が形質細胞として存在し、VDJ 再編成の分析での IgA オリゴクローナリティと予後が関連するとの報告がある。我々は予備実験として胃癌の手術の切除検体を用いたフラグメント解析を数例行い、胃癌においては(1)腫瘍特異的抗体なし、(2)腫瘍特異的 IgG 交代なし、(3)腫瘍特異的 IgG・IgA 抗体あり、の 3 パターンがあることが示唆された。(図.2)これらのことから、「胃癌においては IgA へのクラススイッチが促進され、IgG のみならず IgA の腫瘍特異的抗体が増加することにより腫瘍抑制性に作用する」との仮説を得た。

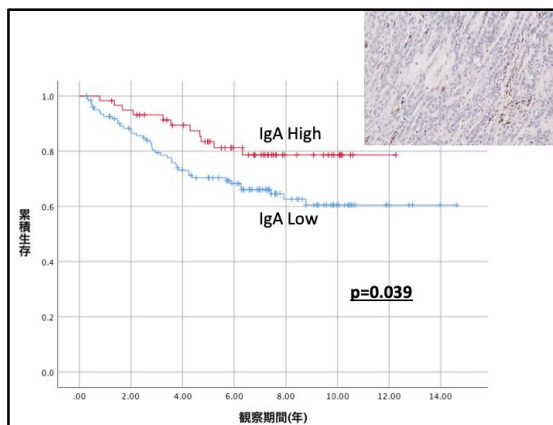
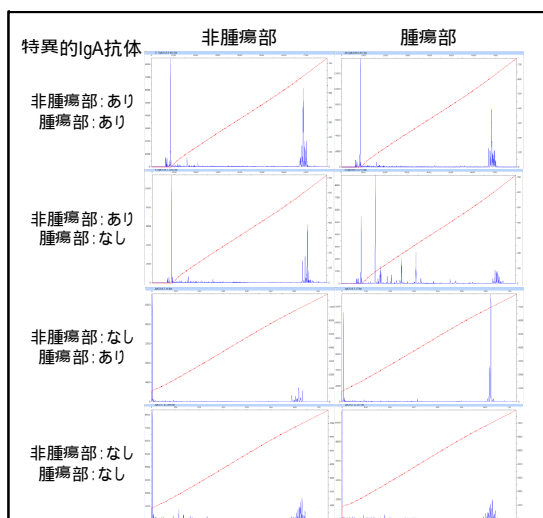


図.1 胃癌切除標本における IgA と術後疾患特異的生存期間

図.2 胃癌切除検体のフラグメント解析(定性的)



2. 研究の目的

IgA の腫瘍における作用についての報告はあるが、一定の見解は得られておらず、胃癌に着目し行われた研究は我々の知る限りではない。B 細胞のクラススイッチおよび VDJ 再編成による抗原多様性への対応は知られているが、癌組織におけるそれらの機構についての報告はない。また、腫瘍内における IgA の作用機序が明らかとなれば、今後の新たな免疫療法開発の一助となる可能性もある。

胃癌において IgA が腫瘍抑制性に作用することを明らかとし、その機序を IgA 及び IgG の遺伝子解析により解明することを目的とする。

3. 研究の方法

胃癌組織における特異的抗体のフラグメント解析を DNA シーケンス解析サービスに依頼し、FAM を用いて解析する。また、ACTB をコントロールとし、CD138 によりリアルタイム PCR で IgA、IgG の定量も行う。

次に、クラススイッチに関与されるとされる IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13、IL-21、TGF- β をリアルタイム PCR を用いて定量し、通常では IgG へのクラススイッチが多いとされる IgM から IgA 及び IgG へのクラススイッチが腫瘍ではどのような割合で行われているかを評価する。

これらの実験結果が得られた場合、IgG に加え、IgA の腫瘍特異的抗体が予後に関連することを前向きに検討するため、IgM、IgG および IgA ノックダウンマウスを用いて動物実験を行い、腫瘍の増殖進展を検討する。

また、予備実験で行った IgA の免疫染色に加え、IgG の染色および形質細胞に特異的とされる CD138 を染色しその分布および予後との関連を検討する。さらに、フラグメント解析を行った症例に関しても IgA、IgG、CD138 の免疫染色を行い、先の免疫染色結果によりグループ分けすることで、長期予後との関連を検証する。

4. 研究成果

胃癌組織における特異的抗体についてのフラグメント解析を、さらに症例数を増やし行なったが、統計学的な解析で有意差を出すことができなかった。腫瘍に関連する何かに特異的に反応した RNA 産物があることは確かではある(図.3)が、どのような RNA 産物であるかは塩基配列の解析が必要であり、塩基配列を解析しても判定できない可能性がある。また、特異的に反応する対象物については現在の我々の技術面、金銭面では特定することが困難と判断した。特異性の有無と病理学的因子の関連については検討中である。

腫瘍における IgA の作用機序の解明を進めることとした。IgA 産生細胞は腫瘍隣接部に比べ、腫瘍部では有意に少ない($p < 0.001$)。(図.4)一方、形質細胞に特異的とされる CD138 の免疫染色を行なったところ、腫瘍部と腫瘍隣接部では形質細胞の数に差はなかった。分布の違いについて、ケモカインに注目した。胃癌とケモカインの関連については、腹膜播種での CXCL12-CXCR4、スキルス胃癌での CXCL1-CXCR2 などが知られている。ケモカインの一つである CCL28 に注目したところ、腫瘍部と腫瘍隣接部では有意に腫瘍部で CCL28 が多かった($p < 0.001$)。(図.5)そこで、腫瘍内の IgA 産生細胞は CCL28-CCR10 を介して遊走しているという仮説を立てた。現在、CCR10 の分布についてフローサイトメトリーで解析中である。

腫瘍特異的 IgA については我々の技術では解明することができなかったが、何らかの腫瘍特異的 RNA 産物があることは明らかであり、今後の更なる技術の進歩で解明される可能性はある。IgA と CCL28-CCR10 の関連についても解析中であり、これらが解明されれば今後の新たな治療につながる可能性はある。

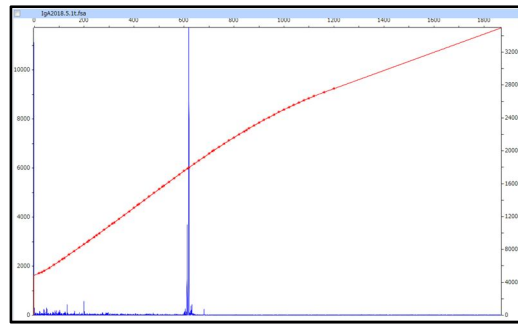


図.3 腫瘍特異的 RNA 産物

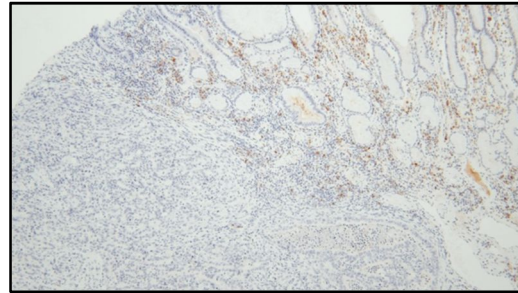


図.4 腫瘍部と腫瘍隣接部での IgA の分布

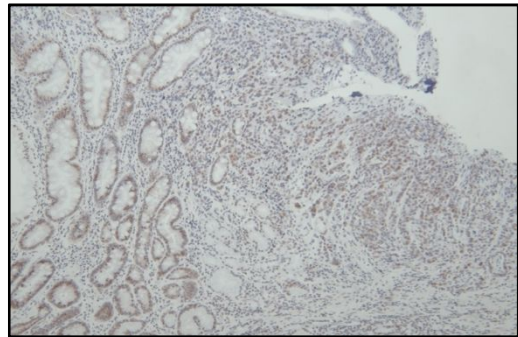


図.5 腫瘍部と腫瘍隣接部での
CCL28 の分布

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------